



T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ

ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA DENEYSEL SİYATİK SİNİR AKUT
KOMPRESYON MODELİNDE MEMANTİN
HİDROKLORÜRÜN AKUT ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. HAKAN AK

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Mehmet TURGUT

AYDIN-2011

T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ

ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA DENEYSEL SİYATİK SİNİR AKUT
KOMPRESYON MODELİNDE MEMANTİN
HİDROKLORÜRÜN AKUT ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. HAKAN AK

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Mehmet TURGUT

AYDIN-2011

Bu araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-10020 nolu proje olarak desteklenmiştir.

Teşekkür

İnsanın kaybettiği şeyler bazen kendisine kazanç olarak geri dönebilmektedir. Tıp fakültesinde tekrarladığım ve arkadaşlarımdan bir ay sonra mezun olmama neden olan bir stajın hayatımı bu kadar etkileyeceğini söyleseler belki inanmazdım. Eğitim hayatım boyunca tekrarladığım tek ders, konu, staj, adı her ne olursa olsun, beyin ve sinir cerrahisi hayatımı etkiledi ve beni kendinden bir parça yaptı. Şimdi açık yüreklilikle söyleyebilirim iyi ki bu stajı tekrarlamışım. Bu mesleğimle ilgili bir teşekkür gerekiyorsa öncelikli olarak bana bu mesleği sevdiren mezunu olduğum dönemdeki Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalında çalışan herkese teşekkürü her zaman bir borç bilmekteyim. Yaklaşık 6 yıldır bu meslekte bir şeyler kazandırmaya çalışan tez danışmanım ve değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Mehmet TURGUT'a, her zaman özellikle ameliyatlarda bir şeyler öğretmek için çırpınan anabilim dalı başkanımız ve değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Varol AYDIN'a, ve bilimsel hayatıma yeni ufuklar ve pencereler açmak için sürekli çaba gösteren, her zaman desteğini ve güvenini esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Soner YAYCIOĞLU'na en derin şükran ve minnet duygularımı ilelebet muhafaza edeceğim. Tez çalışmamın biyokimyasal bölümünü tamamlayan Yrd. Doç. Dr. Mukadder SERTER hocama ve histoloji bölümünü tamamlayan Prof. Dr. Meral BAKA hocama sonsuz teşekkürler.

Değerli çalışma arkadaşlarım Dr. Halil SAMANCIOĞLU ve Dr. Savaş YALÇIN'a da teşekkürlerimi bir borç bilmekteyim, onlar olmasa ADÜ nöroşiruji çok sıkıcı olurdu. Tez çalışmalarım esnasında kapılarını sonuna kadar açan farmakoloji anabilimdalı başkanı ve rektörümüz sayın Prof. Dr. Mustafa BİRİNCİOĞLU'na ve sayın Doç. Dr. Turhan DOST hocama teşekkürlerimi sunarım. Yine tez çalışmamda ölçümleri yapan farmakoloji anabilimdalı'ndan asistan arkadaşım Dr. Filiz hanıma çok teşekkürler. İstatistik konusunda deneyimlerinden yararlandığım değerli arkadaşım ve dostum Ahmet KAPLAN'a ve kendisinden her zaman gurur duyduğum, feyiz aldığım ve tezimin alt yapısının oluşmasında büyük emeği geçen Dr. Utku OGAN'a çok müteşekkirim. Ameliyatlarda her zaman kahrımızı çeken çok değerli değerli hemşiremiz Öznür ÇOĞAN'a ve çalışma ortamımızın sıcak ve sevgi dolu olmasını sağlayan servisimizde görevli tüm hemşire, sekreter ve personelimize teşekkürler.

Her zaman destek ve güvenlerini yanımda hissettiğim annem, babam ve kardeşlerim de her zaman teşekkürü hak etmişlerdir, iyi ki varlar.

Ve, gösterdiği insanüstü sabır, her zaman verdiği destek ve her zaman yanımda olmasıyla bana güven veren hayatımı paylaştığım eşim Tuğba'ya ve hayatıma kattığı oğlum Asrın'a ve doğacak oğluma (Burak Deniz) sonsuz teşekkürler.

Dr. Hakan AK

Aydın, 2011

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ

II. GENEL BİLGİLER

II A. PERİFERİK SİNİR SİSTEMİNİN ANATOMİSİ

II B. PERİFERİK SİNİR SİSTEMİNİN HİSTOLOJİSİ

II C. PERİFERİK SİNİR YARALANMASININ SEBEPLERİ

II C. a: Yaralanma ve kontüzyon

II C. b: Gerilme-çekilme

II C. c: Bası ve iskemi

II C. d: Isı yaralanmaları

II C. e: Enjeksiyon Yaralanmaları

II D. PERİFERİK SİNİR YARALANMALARINDA SINIFLAMA

II D 1. SEDDON SINIFLAMASI

II D.1 a: Nöropraksi

II D. 1b: Aksonotimezis

II D. 1c: Nörotimezis

II D 2. SUNDERLAND SINIFLAMASI

II D 2a: Birinci derece yaralanma

II D 2c: Üçüncü derece yaralanma

II D 2b: İkinci derece yaralanma

II D 2d: Dördüncü derecede yaralanma

II D 2e: Beşinci derecede

II E. YARALANMAYA NÖRAL CEVAP

II F. YARALANMANIN DİSTAL SEGMENTİNDE GÖRÜLEN DEĞİŞİKLER

II G. SİNİR YARALANMASINI TAKİBEN PROKSİMAL SEGMENTTE VE HÜCRE GÖVDESİNDE GÖRÜLEN DEĞİŞİKLİKLER

II H. DENEY HAYVANLARINDA SİNİR HASARI MODELLERİ

II I. MEMANTİN

II I a: Memantinin farmakokinetik özellikleri

II I b: Memantinin Farmakolojisi

II I b1: Glutamaterjik (NMDA reseptörü)

II I b2: Seratonerjik (5-HT₃ reseptörü)

II I b3: Kolinerjik (Nikotinik asetilkolin reseptörü)

II I c: Klinik kullanım

II I d: Yan etkiler

II İ. SİKLOKSİJENAZ 2 (COX-2)

II J. TÜMÖR NEKROZ FAKTÖR-ALFA (TNF- α)

II K. TOLONYUM KLORİD

II L. S-100

III. MATERYAL VE METOT

III A. CERRAHİ SÜREÇ

III B. AYAK-İZİ ANALİZİ

III C. BİYOKİMYASAL YÖNTEM

III C. a: Dokuların Homojenizasyonu

III C. b: Dokularda TNF- α ve COX-2 düzeylerinin saptanması

III C. c: Dokuda Protein Tayini

III D. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME

III D. a.Mikroskopik Gereç Ve Yöntem

III D. a.1: Fiksatif

III D. a.2: Osmium Tetroksit (Postfiksasyon için)

III D. a.3: Tamponlar

III D. a.4: Diseksiyon

III D. b. Elektron Mikroskopik Gereç

III D. c. Elektron Mikroskopik Yöntem

III D. c. 1: Fiksasyon

III D. c 2: Dehidratasyon

III D. c. 3: Gömme

III D. c. 4: Kesit Alma

III D. c. 5: Boyama

III D. d. Toluidine Blue Boyama

III D. e. S-100 BoyamaProtokolü

III E. İSTATİKSEL ANALİZ

IV. BULGULAR

V. TARTIŞMA

VI. SONUÇ

VII. TÜRKÇE ÖZET

VIII.ANAHTAR KELİMELE

IX. İNGİLİZCE AD

X. İNGİLİZCE ÖZET

XI. İNGİLİZCE ANAHTAR KELİMELE

XII. KAYNAKLAR

TABLO DİZİNİ

- I. DENEY ÖNCESİ VE SAKRİFİKASYON ÖNESİ DENEK AĞIRLIKLARI
- II. DENEKLERİN SFI DEĞERLERİ
- III. DENEKLERİN SFI DEĞERLERİNİN GRAFİK DÖKÜMÜ
- IV. DENEKLERİN SİYATİK SİNİR DOKULARINDA ELİSA İLE ÖLÇÜLEN COX-2 DÜZEYLERİ
- V. DENEKLERİN SİYATİK SİNİR DOKULARINDA ÖLÇÜLEN COX-2 DÜZEYLERİNİN GRAFİK DÖKÜMÜ
- VI. DENEKLERİN SİYATİK SİNİR DOKULARINDA ELİSA İLE ÖLÇÜLEN TNF- α DÜZEYLERİ
- VII. DENEKLERİN SİYATİK SİNİR DOKULARINDA ÖLÇÜLEN TNF- α DÜZEYLERİNİN GRAFİK DÖKÜMÜ

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

SFI: Siyatik sinir fonksiyonel endeksi

NMDA: N Metil –D- Aspartat

COX-1: Siklooksijenaz-1

COX-2: Siklooksijenaz-2

TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa

RESİM DİZİNİ

RESİM 1: Sunderland'ın 5 dereceli sınıflandırması

RESİM 2: Resim 2: Sıçana uygulanacak cilt insizyonun hazırlanması

RESİM 3: Resim 3: Sıçanın ortaya konmuş siyatik siniri.

RESİM 4: Sıçanın kuyruk veninden otolog kan alınması ve disseke edilip hazırlanmış siyatik sinir

RESİM 5: Kuyruk kanından alınan otolog kanın siyatik sinire intranöral olarak uygulanması

RESİM 6: Sıçanların yürüme testi için hazırlanan 30° eğim verilmiş düzenek

RESİM 7: Resim 7. Birinci (a) ve ikinci gruptaki (b) sıçanların eğik düzlemde yürütülmesi ile elde edilen ayak izleri

Resim 8: Üçüncü (a) ve dördüncü (b) gruptaki sıçanların eğik düzlemde yürütülmesi ile elde edilen ayak izleri

Resim 9a&b: Sıçanların siyatik sinirlerinin alınmasından hemen önceki (a) ve siyatik sinirleri alındıktan sonraki (b) görüntüleri

Resim 10 a&b: Birinci gruptaki deneklerin toluidin blue ile boyanan doku örnekleri

Resim 11 a&b: Birinci gruptaki deneklerin histolojik doku örnekleri

Resim 12 a&b: İkinci gruptaki deneklerin toluidin blue ile boyanan doku örnekleri

Resim 13 a&b: İkinci gruptaki deneklerin histolojik doku örnekleri

Resim 14 a&b: Üçüncü gruptaki deneklerin toluidin blue ile boyanan doku örnekleri

Resim 15 a&b: Üçüncü gruptaki deneklerin histolojik doku örnekleri

Resim 16 a&b: Üçüncü gruptaki deneklerin toluidin blue ile boyanan doku örnekleri

Resim 17 a&b: Dördüncü gruptaki deneklerin histolojik doku örnekleri

I. GİRİŞ

Sinir sistemi santral ve periferik sinir sistemi olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. Santral sinir sistemini (SSS) beyin ve medulla spinalis oluştururken, periferik sinir sistemini (PSS) ise beyin sapı ve omuriliğin pial membranı dışında yer alan yapılar oluşturmaktadır. PSS, beyin ve omurilik sinir lifleri ve otonom sinir sistemi olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır (1,2). Bu sistemin fonksiyonu santral sinir sistemine (SSS) bilgi taşımak ve SSS'nin motor emirlerini yerine getirmek olarak tanımlanabilir. PSS birçok bilim dalının uğraştığı bir konu haline gelmiştir. Ancak nöroşirurji kliniklerinde eski önemini kaybetmiş gibi görünmektedir bunun nedenleri olarak periferik sinir sistemi sonuçlarının hızlı bir şekilde tatmin edici boyutlarda olmaması, sinir devamlılığının sağlanmasının daima sinir fonksiyonunun geri kazanılmasıyla beraberlik göstermemesi ve nöroşirurji kliniklerinin bu konu dışındaki konulara eğilim göstermesi olarak özetlenmiştir (3).

Periferik sinirlerin travmatik yaralanması dünya genelinde önemli bir iş gücü kaybına neden olmaktadır. Savaş dışı dönemlerde periferik sinir yaralanmaları genelde motorlu taşıt kazalarına ve daha az oranlarda da penetran travmalara, düşmelere ve endüstriyel kazalara bağlı olarak gelişmektedir. Birinci düzey travma merkezine başvuran hastaların kabaca %2-3'ü periferik sinir yaralanmasına sahip olmaktadır ve buna pleksus ve kök yaralanmaları da dahil edilirse bu oran %5'e kadar çıkmaktadır (4).

Periferik sinirler mekanik, termal, kimyasal, konjenital ve patolojik nedenlere bağlı olarak hasar görebilmekte ve böylece sinirde gerilme, ezilme ve kesilme meydana gelmektedir. Periferik sinir yaralanmasının en sık görülen şekli gerilme tipi yaralanmalardır. Periferik sinirler kollajenöz endonöryuma sahip oldukları için elastik bir yapıya sahiplerdir, fakat uygulanan traksiyon kuvveti sinirin gerilme kapasitesini aştığı zaman sinirin devamlılığında tam bir kayıp olmaktadır. Bununla birlikte daha sıklıkla devamlılık sağlam kalmaktadır. (4,5). Kompresyon tipi yaralanmalar periferik sinir yaralanmasının üçüncü en sık nedeni olup bu tip yaralanmalarda nöral elemanların hasarlanması veya yırtılması yoktur. Total motor ve duyu kaybı olabilmektedir. Tam sinir devamlılığı korunmuş olduğundan bu tip yaralanmalarda gelişen nörolojik kusurlardan sorumlu patofizyoloji tam olarak bilinmemekle birlikte mekanik kompresyon ve iskemi muhtemel etkenler olarak ileri sürülmüştür (5).

Deney hayvanlarında çeşitli akut ve kronik kompresyon modelleri tanımlanmıştır, her bir metodun kendine has çeşitli avantajları ve dezavantajları mevcuttur. Sıçanlarda, tavşanlarda ve babunlarda ekstremitte çevresine turnike uygulamanın kompresyon geliştirdiği ve bunun da yapısal sinir değişimlerini indüklediği çeşitli metotlar bildirilmiştir (6-8). Bu metotlarda tam lokalizasyonun kontrolü ve sinir üzerindeki basınç ayarı yapılabilmesi zordur. Bu nedenle bu şartları kontrol altına alabilmek için yapılan çeşitli invaziv metotlarda bildirilmiştir (6,9, 10,). Yakın zamanda Scopel ve arkadaşları (11) sıçanların siyatik sinirinde intranöral hematoma oluşturarak akut kompresyon modeli geliştirmişlerdir. Benzer şekilde insanlarda da travmaya, kanama bozukluklarına, heparin veya warfarin gibi ilaç kullanımına ve kendiliğinden gelişen kanamalara bağlı olarak gelişen akut sinir kompresyonu bildirilmiştir (12-14). Bu hastalarda tedavi stratejisi halen tartışmalı olup cerrahi veya cerrahi dışı yöntem uygulanmasını birbirinden ayıran kriterler henüz tam olarak ortaya konabilmiş değildir (13).

Mikrocerrahi tekniklerinin daha geniş bir alanda uygulanabilir hale gelmesi, histolojik ve immün-histokimyasal tekniklerin gelişmesi sinir yaralanmalarında sinir onarımının başarı şansını artırmaya katkıda bulunmuştur (15,16). Çeşitli çalışmalarda sinir rejenerasyonunun arttırılması amacıyla nörotropik faktörlerin, steroidlerin, hormonların, çeşitli kimyasal maddelerin ve düşük frekanslı manyetik alan uygulamalarının etkinliği gösterilmiştir (16-21).

Bu çalışmada sıçanlarda akut deneysel siyatik sinir kompresyon modeli oluşturarak N-Metil-D-Aspartat (NMDA) reseptörlerinin potansiyel bir antagonisti olan memantin sinir iyileşmesine akut dönemde etkinliği klinik, biyokimyasal ve histolojik değerlendirmeler ile araştırılmıştır.

II. GENEL BİLGİLER

II A. PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ ANATOMİSİ

Nöron periferik sinir sisteminin temel anatomik ünitesi olup soma, dendrit ve akson olmak üzere 3 temel yapıdan oluşmaktadır (6,22). Periferik sinirler duysal, motor ve otonomik sinir lifleri içermektedirler. Omurilik ön boynuzunda yerleşmiş ikinci motor nöronların aksonları ön kökten omuriliği terk ederek periferik motor sinirleri oluştururlar. Periferik duysal aksonların hücre gövdeleri arka kök ganglionu içindedir ve buradaki bipolar duysal nöronların periferik uzantıları periferik sinir içinde yer alırken santral uzantıları ise arka kök yoluyla omuriliğe girmektedir (2, 23).

Akson, nöronun gövdesinden çıkan lifsi uzantısı olup dıştan bazal membranın çevrelediği aksolemma denilen yarı geçirgen bir membran ile çevrilidir. Myelinli liflerde bazal membranın çevresinde myelin kılıfı mevcuttur. Myelin üreten Schwann hücreleri endonöral hücrelerin yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır. Myelin kılıfı her 1 mm'de 1 mikrometre uzunluğundaki bir bölgede hücre-dışı sıvı ile ilişkili olup buraya Ranvier boğumu denmektedir ve ileti bu boğumlardan atlayarak ilerler. Burada impuls iletimi için önem taşıyan voltaj bağımlı sodyum ve diğer iyon kanalları bulunur. Myelinsiz sinir lifinde tek bir Schwann hücresi birçok aksonu çevrelemektedir ve bunlarda Ranvier boğumları yoktur (2,23).

Sinir lifleri Tip I, Tip II, Tip III ve Tip IV olmak üzere dört sınıfa ayrılmıştır. Tip I ve II lifler, kalın myelinli ($A\alpha$) aksonlardan oluşur, çapları 6-20 mikrometre arasındaki motor ve duysal liflerdir. Grup III veya A delta lifleri 1-8 mikrometre çapındadır ve ağrı iletiminde rol oynarlar. Grup IV lifler ise B ve C lifleridir bunlardan B lifleri pregangliyonik otonom aksonlardır, C lifleri ise küçük, myelinsiz liflerdir ve gecikmiş ağrı iletimini sağlarlar (2,23).

Periferik sinirde endonöryum, peri nöryum ve epinöryum olarak bilinen ve aksonal yapıyı içine alan üç bağ dokusu tabakası bulunur. Endonöryum, tek bir aksonu çevreleyen dokunun en iç tabakası olup lenfatik kanal içermeyen küçük çaplı ve uzunlamasına düzenlenmiş kollajen liflerden oluşur (2,23).

Fasikül olarak bilinen akson demetleri, perinöryum olarak bilinen ikinci bir tabaka ile çevrelenmiştir. Perinöryum gerilme ve basıya dirençli, mekanik olarak güçlü, elastik bir yapıdır ve eklem hareketleri sırasında sinire belirli oranlarda hareket olanağı verir. Kollajen lifler burada uzunlamasına düzenlenmiştir ve fibroblastlardan zengindir. Yarı elastik ve yarı

geçirgen bir yapıya sahiptir. Çevresel olarak hafif pozitif bir basınç (+1.2-1.5 mmHg) mevcuttur ve bu basınç sinir yaralanmalarında önemli oranda artmaktadır (24).

Fasiküller bir araya gelerek periferik siniri oluşturmaktadır ve bu fasikülleri çevreleyen yapı ise epinöryum olarak bilinmektedir. Bu yapı uzunlamasına düzenlenmiş kollajen lifler ve gevşek bağ dokusundan oluşur. Yaralanmaya karşı oluşturulan yanıtta hücresel, damarsal ve lenfatik yapısı nedeniyle önemli role sahiptir (23).

Periferik sinirler iki aşamalı kan-sinir bariyerine sahiptir ve bu bariyerler endonöryum ve perinöryumda yerleşim göstermektedir. Perinöryum'un seçici bir geçirgenliği vardır. Asli görevi endonöral çevrenin değişmeden devamlılığını sürdürmesi olan endonöryumdaki kapillerlerin sıkı endotelial bileşkeleri ise diğer bariyeri oluşturmaktadır (23).

Ekstrinsik ve intrinsik sistem olmak üzere iki ana kaynaktan periferik sinirlere kan sağlanmaktadır. Ekstrinsik sistemi epinöral boşluktaki arteriol ve venüller oluştururken intrinsik sistemi ise endonöryumdaki kapillerlerin oluşturduğu pleksus yapısı oluşturmaktadır. Adrenerjik uyarı, epinefrin ve lokal anesteziklerin lokal uygulanması ve daha az oranda da arteriyel CO₂ düzeyi ekstrinsik dolaşımdaki kan akımını etkilemektedir oysa intrinsik dolaşım metabolik çevredeki değişimlerden etkilenmemektedir. Bu iki dolaşım sistemi perinöryumu geçen anastomotik mikrodamarlarla birbirine bağlantılıdır ve bu bağlantıların oluşturduğu yapı periferik sinirlerin kan desteğini sağlayan üçüncü kaynağı oluşturmaktadır (24, 25).

II B. PERİFERİK SİNİR SİSTEMİNİN HİSTOLOJİSİ

Duyusal lifler omuriliğe dorsal köklerle girmekte, motor lifler ise omuriliği ventral köklerden terk etmektedir. Bu dorsal ve ventral kökler hem duyusal hem de motor lifler içeren spinal siniri oluşturmak üzere birleşmektedir. Spinal sinir periferiye seyri esnasında dallara ayrılmakta ve innerve edeceği hedef yapıya göre motor ve duyusal lif olarak devam etmektedir (26).

Bir sinir lifi bir akson ve bunun sinir kılıfı tarafından oluşturulmaktadır. Periferik sinir sistemindeki her bir akson Schwann hücrelerinin oluşturduğu bir kılıf ile çevrelenmektedir (26). Schwann hücresi nöroektodermden kaynaklanmaktadır ve metabolik ve yapısal destek olarak fonksiyon göstermektedir (27). Tek bir Schwann hücresi birkaç yüz mikrometre uzunluğundaki aksonu çevreleyebilir ve myelinsiz sinir liflerinde 30 ayrı aksonu

çevreleyebilir aksonlar mezoakson olarak bilinen Schwann hücre sitoplazması ve hücre membranı katlantıları içerisinde yerleşim göstermektedir (26). Küçük myelinsiz aksonlar basitçe Schwann hücrelerin stoplazması ile çevrilidir. Bununla birlikte daha büyük çaplı aksonlar bir myelin kılıf oluşturan Schwann hücrelerinin plazma membranının konsantrik tabakaları ile sarılıdır. Bu myelinli aksonlar aksiyon potansiyelini daha hızlı iletme yetisine sahiplerdir çünkü iletim hızı aksonun çapı ile direkt ilişkilidir (27).

Periferik sinirler önemli miktarlarda bağ dokusu içermektedirler. Tüm sinir dokusu **epinöryum** olarak adlandırılan kalın tabakalı yoğun bağ dokusu ile çevrilidir. Sinir liflerli sinir dokusu içerisinde sıklıkla ayrı demetlere, fasiküllere gruplanmaktadır. Her bir demeti çevreleyen lamelli bağ dokusu tabakasına **perinöryum** denmektedir. Perinöryum birkaç tabakalı düzleşmiş hücrelerden oluşmaktadır, bu hücrelerin amacı kendilerini çevreleyen sinir lifleri için uygun mikroçevreyi devam ettirmektedir. Her bir sinir lifi arasındaki boşluk **endonöryum** olarak adlandırılan gevşek bağ dokusu tarafından doldurulmaktadır (26,27).

Miyelin kılıf yapısında üç adet membran proteini ihtiva etmektedir bunlar; protein sıfır (P0), periferik miyelin proteini (PMP) ve temel miyelin proteini (MBP)'dir (19,28). P0, miyelin kılıf lamellerinin sıkıca bir araya gelmesinden sorumlu esas yapısal miyelin proteinidir. Bu protein, karşılıklı iki membran tabakası arasında güçlü bir yapışma sağlar. Miyelinizasyonda, miyelin kılıfın kalınlığı akson çapı tarafından belirlenmektedir. Miyelin kılıf kalınlığının düzenlenmesi, nöroregulin (Ngr1) adı verilen bir büyüme faktörüne bağlıdır. Miyelin kılıf akson boyunca ardışık çok sayıda Schwann hücresi tarafından yapıldığından boğumlu bir görünüme sahiptir. Komşu Schwann hücrelerinin karşılaştığı myelinsiz bölgelere Ranvier boğumu denmektedir. İki Ranvier boğumu arasındaki miyelin kılıfla kaplı bölgeye de internodal segment denilmektedir (2,23).

Endonöryumda fibrositler, makrofajlar ve mast hücreleri bulunmaktadır. Sinir dokusunu çok sayıda anostomozlar oluşturan intranöral kan damarları beslemektedir. Epinöryumu geçen arterler perinöryumun altında arteriolar ağlar oluştururlar ve endonöryuma kapiller damarlar verirler (26).

II B. PERİFERİK SİNİR YARALANMASININ SEBEPLERİ

Periferik sinirler başlıca yaralanma ve kontüzyon, bası ve iskemi, ısı, elektrik ve enjeksiyon uygulamalarına bağlı olarak hasarlanabilmektedir (5, 29-31).

II B. a: Yaralanma ve kontüzyon,

Sıklıkla kesici alet yaralanmalarına, açık-kapalı kırıklara ve kurşun yaralanmasına bağlı gelişmektedir. Ateşli silah yaralanmalarında hem kurşunun kitlesi, hem de enerjisi etkilidir. Kurşun yumuşak dokudan geçerken enerjisi dağılır, oluşan kavitasyon etkisi sinir hasarına neden olur (32-34).

II B. b: Gerilme-çekilme,

Bu tip yaralanmalar ciddi oranda nöral hasara yol açar. Periferik sinirin elastikiyetine rağmen belirli bir seviyeyi aşan çekilme durumlarında ılımlı nöropraksiden ciddi aksnotmezise kadar hasar ortaya çıkarabilir. Hasarlı sinirin devamlılığı genellikle bozulmaz. Cerrahi girişim sırasında yapılan ekartman ile oluşan ılımlı çekilme yaralanmaları genellikle iyi prognozludur. Daha ciddi yaralanmalarda ise sinir içinde yaygın fibrozis gelişebilir. Bu mekanizmadan en çok etkilenenler brakial pleksus, radyal ve peroneal sinirlerdir (35-37).

II B. c: Bası ve iskemi

Birbirini takip eden bir süreçtir. Uzun ve ciddi bir iskemi yaygın akson hasarına ve Wallerian dejenerasyona neden olur. Geri dönüşümsüz hasar için kritik süre 8 saattir (35). Genellikle brakial pleksus, ulnar, siyatik ve peroneal sinirler etkilenir. Sinir yaralanmasının ciddiyeti bası ve iskeminin süresine ve derecesine bağlıdır. Radyal sinirin humerusa karşı kompresyonu sonucu oluşan iskemi ‘cumartesi gecesi paralizi’ adı verilen karakteristik klinik görünüm ile sonuçlanır. Olay sıklıkla kendiliğinden geri dönüşümlüdür (36). Ciddi ezilmelerde, damar basısı yapan kırıklarda, antikoagülan kullanımında periferik sinirlerde ciddi iskemik hasar görülebilir (13, 14, 40).

II B. d: Isı yaralanmaları

Yakın dokularla beraber nöral elemanlarda da önemli hasara yol açabilir. Çevresel yanıklı hastalarda geç dönemde ortaya çıkan fibrozisin turnike etkisi nöral hasarla sonuçlanabilir. Ciddi yanıklarda motor ve duysal kayıp olabilir. Periferik sinirlerin elektrik hasarına karşı direnci düşüktür. Nöral yapılarda yaygın ve ciddi hasar oluşabilir. Ciddi elektrik yanıkları derine penetre olur, dokularda yaygın hasar yapar ve sinir gövdesinde geri dönüşümsüz hasara yol açar (41-44).

II B. e: Enjeksiyon Yaralanmaları

Bu tür yaralanmalar iğnenin doğrudan etkisine, oluşan nedbe dokusuna veya enjekte edilen kimyasal maddenin etkisine bağlı olabilir. Nörolojik defisit hafiften geri dönüşümsüz fonksiyon kaybına kadar değişkenlik gösterebilir. En sık siyatik ve radyal sinirler etkilenir. Klinik, enjeksiyon yerinden sinir seyri boyunca yayılan ani başlangıçlı ağrı, motor ve duysal kaybı içerir. Genellikle ciddi hasar bırakan uygulamalar enjeksiyonun fasikül içine yapıldığı durumlardır. Enjekte edilen bileşiğin yapısı da önem taşır (30, 31,45).

II C. PERİFERİK SİNİR YARALANMALARINDA SINIFLAMA

Periferik sinir yaralanmalarında, nöropraksi, aksonotmezis ve nörotmezis bileşenlerinden oluşan Seddon sınıflaması dünya genelinde kabul görmüştür. Daha sonraki dönemde ise 5 dereceli Sunderland sınıflaması yapılmıştır, bu sınıflamaların her ikisi de anatomiye dayanılarak oluşturulmuştur (2).

II C 1. SEDDON SINIFLAMASI

II C. 1a: Nöropraksi

En basit travma şekli olup sinirde anatomik bozukluk olmaksızın fizyolojik iletim kaybı mevcuttur. Saatler içerisinde düzelme gösterebilmekle birlikte, ortalama 6-8 hafta içerisinde fonksiyonlarda tam geri dönüş görülmektedir. En sık nedenleri künt travma, fazla uzun sürmeyen ve hafif derecede bası, çekilme veya yüksek hızlı kurşun yaralanmasının dolaylı etkisi olarak sayılabilir. En sık etkilenme brakial pleksus, radyal, medyan, ulnar ve peroneal sinirlerde görülmektedir. Kesin nedeni bilinmemekle birlikte birden fazla mekanizmanın etkili olabileceği düşünülmüştür. Geçici yerel iletim kaybına iyon bozuklukları eşlik edebilmekle birlikte daha uzun süreli fonksiyon bozuklukları segmental

demiyelinizasyon ve diğer perinodal miyelin değişiklikleri ile ilişkili olabilmektedir. 8-12 haftadan daha uzun süreli fonksiyon bozukluklarında daha ciddi yaralanma akılda tutulmalıdır. Tanıda ayrıntılı anamnez ve muayene esas olup bu tip yaralanmalar cerrahi girişim gerektirmemektedir. (2, 47-50).

II C. 1b: Aksonotimezis

Bu tip yaralanmalarda destek doku kılıfı korunmakla birlikte akson ve myelinde tam hasar mevcuttur. Aksonun bazal membranı ile birlikte, epinöryum, perinöryum ve endonöryum sağlamdır. Yaralanmanın distalinde Wallerian dejenerasyonu gelişir, bu tip yaralanmada motor, duysal ve otonom fonksiyonlar zarar görmektedir. Elektromiyografide 15-20 gün sonra denervasyon bulguları görülmektedir. Rejenerasyon endonöral tüpler sağlam kaldığı için kendiliğinden gelişir. Hastanın yaşına ve yaralanmanın merkezden uzaklığına bağlı olarak fonksiyonlarda geri dönüşlülük görülmektedir. Ayrıntılı anamnez, muayene ve elektrofizyolojik tetkikler tanının temelini oluşturmaktadır. Kemik kırıkları, orta dereceli çekilme, bası veya enjeksiyona bağlı olarak bu tip yaralanmalar gelişmektedir (51-53).

II C. 1c: Nörotimezis

Kabaca sinirin nöral ve destek doku elemanlarıyla beraber tam kesisidir. Nadiren sinirin devamlılığı mevcut olabilir fakat bu tip yaralanmalarda da iç hasar çok fazla olduğu için bunlarda nörotimezis olarak değerlendirilir. Sebepleri arasında ciddi ezilme, çekilme, kimyasal enjeksiyon ve iskemik olaylar sayılabilir. Bu tip yaralanmalarda motor, duysal ve otonom fonksiyonlarda tam kayıp vardır. Elektromiyografide distal denervasyon beklenir. Tam kesi durumunda proksimal uçta nöroma gelişir. Fonksiyonların geri kazanılması ancak cerrahi girişim ile mümkün olabilmektedir ve bu geri kazanım hasta yaşına, paralizi süresine, lezyon seviyesine, sinirin tipine ve cerrahinin zamanlamasına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (54-58).

II C 2. SUNDERLAND SINIFLAMASI

Sunderland sınıflamasında ise sinir hasarı 5 kategoriye ayrılmıştır.

II C 2a: Birinci derece yaralanma

Nöropraksi eşdeğeridir. Lokal demiyelinizasyon mevcut olup Wallerian dejenerasyon görülmez. Kısmi hasarlarda motor kayıp daha ön plandadır. Duysal

fonksiyonlarda, kalın miyelinize liflerle taşınan duyular, küçük, miyelinsiz liflere göre daha fazla hasarlanmaktadır. Elektromiyografide hasar alanında iletim bloğu olup distal ileti normaldir (2).

II C 2b: İkinci derece yaralanma

Aksonotmezis eşdeğeridir. Lezyon distalinde Wallerian dejenerasyon görülür ayrıca motor, duysal, otonom innervasyon bozulmuştur. (2,4, 5).

II C 2c: Üçüncü derece yaralanma

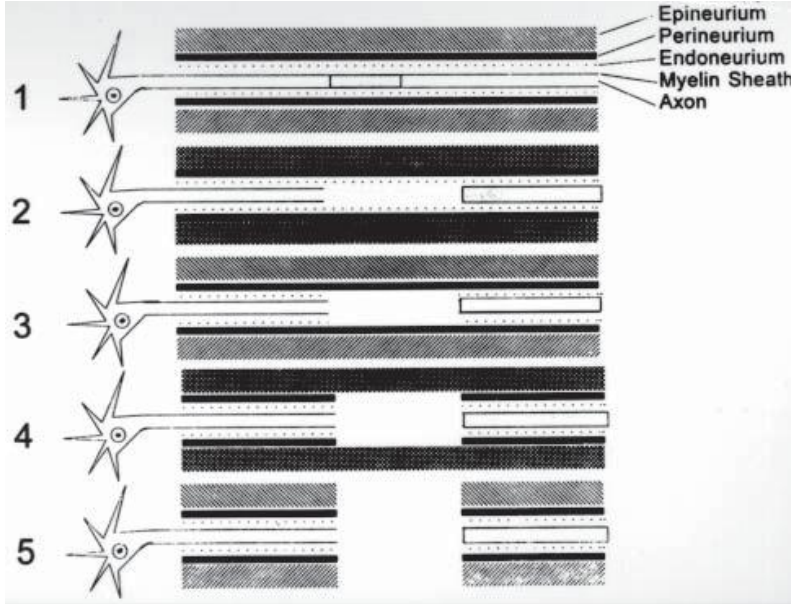
Bu tip yaralanmalarda Wallerian dejenerasyonun eşlik ettiği akson ve miyelin hasarına, endonöral bütünlüğün bozulması sonucu oluşan fasikül içyapısındaki hasarda eklenmiştir. Perinöryum, epinöryum ve fasiküler yapı sağlamdır. Aksonotmezis ve nörotmezisi birlikte kapsamaktadır. Fasikül içi yapılara olan ağır hasar rejenere aksonların yaygın fibrozisine neden olabileceği için lezyon doğası nörotmezise daha yakındır. Ciddi tuzak nöropatileri, kimyasal enjeksiyon, iskemi veya çekilme-bası mekanizmaları neticesinde gelişmektedir. Klinik olarak lezyonun distalinde tam motor, duysal ve otonom kayıp mevcut olup elektrofizyolojik incelemede tam denervasyon görülür. İyileşme genellikle uzun zaman alır ve fasiküller arası fibrozisin ciddiyetine bağlıdır. Bazen ciddi lezyonlarda iyileşme görülmeyebilir. (2, 4, 5).

II C 2d: Dördüncü derecede yaralanma

Bu tip lezyonlarda tüm nöral yapıda ve epinöryum dışındaki tüm destek dokuda hasar vardır. Fasikül yapısı ve sinirin tüm fonksiyonları kaybolmuştur. (2, 4, 5).

II C 2e: Beşinci derecede yaralanma

Bu lezyonlarda sinir gövdesinin devamlılığı tamamen kaybolmuştur. Proksimal uçta nöroma oluşumu görülür. Bu tip lezyonlar sıklıkla kesi ve ciddi çekilme-bası sonucu meydana gelmektedir (2, 4, 5).



Resim 1. Sunderland'ın 5 dereceli sınıflandırması (22).

II D. YARALANMAYA NÖRAL CEVAP

Sinir fibrillerinin rejenerasyonundan önce, bir seri dejeneratif olaylar süreci başlamaktadır ve rejenerasyonun başarısı büyük oranda başlangıçtaki yaralanmanın şiddetine ve nihai dejeneratif değişimlere bağlıdır. Mekanizmanın sadece iletim bloğu olduğu birinci derece yaralanmalarda patolojik değişiklik ya hiç görülmez ya da çok azdır. İkinci derece yaralanmalarda yaralanma yerinde veya proksimalinde az miktarda histolojik değişiklikler görülür bununla birlikte yaralanmanın distalinde Wallerian dejenerasyonu olarak bilinen kalsiyum-bağımlı bir süreç oluşur (15, 59-62).

Wallerian dejenerasyonunda, primer histolojik değişiklik saatler içerisinde başlayan bir süreç olan aksonların ve myelinin fiziksel fragmentasyonunu içermektedir. Ultrastrüktürel düzeyde, nörotübüllerin ve nörofilamanların düzensiz hale gelmesi ayrıca da variköz şişmeden dolayı aksonal sınır düzensizliği görülür. Yaralanma sonrası 48 ila 96 saat arasında, aksonal devamlılık kaybolur ve impuls iletimi artık mümkün hale gelmez. Myelin yıkımı aksonların yıkılmasından çok az bir süre sonra gerçekleşmekte ve 36 ila 48 saat içerisinde belirgin hale gelmektedir (5, 15, 17).

Schwann hücreleri Wallerian dejenerasyonunda temel bir rol oynamaktadır, bunlar yaralanmanın ilk 24 saati içerisinde aktif hale gelirler, çekirdekleri ve sitoplazmaları genişler ve artmış mitotik aktivite gösterirler. Bu hücreler hızlıca bölünerek dediferansiye yavru hücreleri oluştururlar bu yavru hücreler dejenerasyon ve rejenerasyon sürecine yardım eden

birçok molekülün gen ekspresyonunu yukarı yönde düzenlemektedir. Başlangıçtaki Schwann hücrelerinin rolü dejenere akson ve myelin artığını temizlemeye yardım etmek ve daha sonra bunu makrofajlara geçirmektir. Makrofajlar primer olarak kan yoluyla olmak üzere yaralanma neticesinde geçirgen hale gelmiş kapiller duvarlardan geçerek travma bölgesine göç ederler. Schwann hücreleri ve makrofajlar 1 hafta ila birkaç ay süre gerektiren bir zamanda fagositoz yapmak ve yaralanma bölgesini temizlemek için birlikte çalışırlar. Aynı zamanda, endonöral mast hücreleri de bu süreçte kilit bir rol oynarlar, yaralanma sonrası ilk 2 hafta içerisinde yoğun proliferasyon gösterirler. Kapiller geçirgenliği artıran ve makrofaj göçünü hızlandıran histamin ve serotonin salgırlar. Başlangıç evrelerinde, travmaya cevaben endonöral tüpler şişer, fakat ilk 2 haftadan sonra çapları küçülür. 5-8 haftaya kadar, dejeneratif süreç genellikle tamamlanır ve endonöral kılıf içerisindeki Schwann hücrelerinden oluşan sinir fibrili artıkları kalır (5, 15, 17, 61, 63).

Üçüncü derece yaralanmalarda, daha fazla travma-indüklü lokal reaksiyon oluşur. Bu fasikül içi yaralanmalar elastik endonörium nedeniyle hasarlanmış sinir kifinin gerilmesini içermektedir. Lokal vasküler travma şiddetli enflamatuvar cevap ile sonuçlanan kanama ve ödeme yol açar. Fibroblastlar çoğalır ve yoğun fibröz nebde hasarlanmış segmentin füziform şişmesine neden olur. Aynı zamanda fasiküller arası nedbe dokusu da gelişir ve böylece devamlılığı korunmuş olan tüm sinir kökü sürekli olarak genişler (5).

II E. YARALANMANIN DİSTAL SEGMENTİNDE GÖRÜLEN DEĞİŞİKLER

Hasarlı segmentin distalinde, Wallerian dejenerasyon ikinci derece yaralanmalarda görülene benzer bir olaylar zinciri gösterir. Önemli bir fark fasikül içi yaralanmanın aksonal rejenerasyonu hasarlamasıdır, bu nedenle endonöral tüpler uzun bir periyot boyunca denerve kalır. Denerve haldeyken, endonöral tüpler küçülmeye başlar, bu küçülme yaralanma sonrası yakalşık 3-4 ayda maksimum düzeye ulaşır. Schwann hücresi bazal membranının dış yüzeyi boyunca kollajen depolanmasına ikincil olarak endonöral kılıf ilerleyici bir şekilde kalınlaşır. Eğer endonöral tüp rejenere bir akson almazsa, ilerleyici gibröz nihai olarak bunu oblietere eder (5, 62, 64).

Bu daha önemli tip yaralanmalarda yıkılmış endonöral tüpler olarak görülen Schwann hücre çıkıntı kümeleri Wallerian dejenerasyonunun geç dönemlerinde mikroskopik olarak görünür hale gelir. Schwann hücre kolonları Büngner bandları olarak bilinir ve bunlar

re-innervasyon döneminde filizlenen aksonlar için önemli kılavuzluk görevi yapmaktadırlar. (5, 62, 64).

Üçüncü ve dördüncü derece yaralanmalarda şiddetli travmaya lokal cevap belirgindir. Endonöral tüpler, epinöryum ve aynı zamanda da fasiküller hasarlanmıştır. Epinöral fibroblastlar 24 saat içerisinde hasarlanmış uçlarda görülürler ve bunlara sayıları hızla artan Schwann hücreleri ve peri-ve endonöral fibroblastlar eşlik eder. Şiddetli hücresel proliferasyon birinci hafta içerisinde pik yapar ve uzun bir süre boyunca devam eder. Muhtemel mast hücre degranülasyonuna bağlı olarak kapiller geçirgenlik artar bunu ödem ve makrofaj infiltrasyonu takip eder. Bu cevabın büyüklüğü hem sinire hem de çevresel dokulara olan travmanın şiddeti ile ilişki gösterir (4, 5, 60).

Dördüncü ve beşinci derece yaralanmalarda, sinir uçları düzeni bozulmuş Schwann hücreleri, kapillerler, fibroblastlar, makrofajlar ve kollajen fibrillerinin şişkin bir kitlesi haline gelirler. Rejenere aksonlar proksimal kökün şişmiş güdüğüne ulaşır ve burada daha ileri büyüme için kuvvetli bir bariyer oluşturur. Birçok akson skar dokusu içerisinde bir helezon oluşturur veya proksimal segment boyunca geri döner veya çevreleyen dokuya doğru dışarı çıkarlar. Rejenere aksonların bazıları distal güdüğe ulaşabilir, bu durum orijinal hasarın şiddeti, skar oluşumunun miktarı ve aksonların yaralanma yerine ulaşmasındaki gecikme gibi çok sayıda faktöre bağlıdır. Uzun bir süre boyunca doldurulmamış halde kalan endonöral tüpler büzüşmürler ve fibroz geçirirler ve sonuçta da kollajen fibriliyle tıkanır (4, 5, 60).

II F. SİNİR YARALANMASINI TAKİBEN PROKSİMAL SEGMENTTE VE HÜCRE GÖVDESİNDE GÖRÜLEN DEĞİŞİKLİKLER

Nöronal hücre gövdesinde ve yaralanmanın proksimalindeki sinir liflerinde görülen değişiklikler yaralanmanın şiddetine ve hasarlanmış segmentin hücre gövdesine olan uzaklığına bağlıdır. Schwann hücreleri yaralanmanın yakınında proksimal segment boyunca yıkılır, akson ve myelin çapı belirgin bir şekilde küçülür. Bu proksimal yıkım çok az olabilir veya hücre gövdesine kadar olan tüm yol boyunca geri yönde uzanım gösterebilir. Eğer hücre gövdesi gerçekten dejenere olursa tüm proksimal segment Wallerian dejenerasyonu gösterebilir ve fagositoza uğrayabilir (4, 5, 15, 64).

Şiddetli yaralanmayı takiben özellikle fonksiyonel bağlantılar uygun uç organlarla eşleşmemişse proksimal segment aksonunun çapı küçülür. Benzer şekilde sinir iletim hızı azalır. Rejenerasyon ilerledikçe aksomal çap artar fakat asla hasarlanma öncesi düzeylere

ulaşamaz. İyileşme bakımından hücre gövdesi ve akson arasında belirli bir karşılıklı dayanışma vardır: hücre gövdesi fonksiyonel periferel bağlantıların yeniden yapılanması olmaksızın iyileşmez ve nihai aksonal kalibre büyük oranda hücre gövdesinin iyileşmesine bağlıdır (5, 64, 65).

Kendi başına sinir hücresi kısmen tahmin edilebilir bir yolla aksonal yaralanmaya karşı reaksiyon gösterir. Yaralanmanın 6 saati içerisinde kromatolizis olarak adlandırılan nükleusun hücre periferine doğru göç etmesi ve Nissl granüllerinin, kaba endoplazmik retikulum yıkılması ve dağılması görölür. Aynı zamanda, perinöral glial hücrelerin hızlı proliferatif cevabı olur. Glial hücre uzantıları etkilenmiş nörona uzanır ve sinaptik bağlantıları keser, böylece nöronu iyileşme fazından izole etmektedir (5, 65).

şiddetli travma sonrası fazla bir hücre yaşam süresi beklenmez. Aksonotimezis sonrası dorsal kök ganglion nöronlarında apoptozis-ilişkili hücre ölüm oranı %20 ila %50 arasında değişir. Ölüm, aksonotimezis proksimale doğru olduğunda ve duyuusal veya kraniyal sinirleri etkileyen yaralanmalarda daha sık görölür. Bu yaralanma-indüklü nöronal hücre ölümü sürecinin mekanizması henüz tam olarak anlaşılabilmii değildir, ancak yaralanma yerinin mikroerevesi içerisindeki şartların önemli olduğuna inanılmaktadır (5). Yaralanmadan sonra, periferik sinir mikroçevresinde, Schwann hücrelerinin destekleyici rolleri yanında, salınan pek çok tropik molekülün, hücre yaşamını etkilediğini bildiren çalışmalar yayınlanmıştır (15, 17, 62-64).

II G. DENEY HAYVANLARINDA SİNİR HASARI MODELLERİ

Periferik sinir çalışması yapılırken çeşitli deney hayvanlarında çeşitli modeller tanımlanmıştır. Literatürde kronik modeller çok iyi tanımlanmış olmakla birlikte akut modellerle ilgili çalışmalara biraz daha nadir olarak rastlanılmaktadır. Deney hayvanlarında periferik bir sinirde akut veya kronik kompresyon modeli oluştururken kullanılan her bir metodun kendine has çeşitli avantaj ve dezavantajları mevcuttur (6). Sıçanlarda, tavşanlarda ve babunlarda ekstremitelerafına turnike sarıp dakikalarca veya saatlerce basınç uygulayarak oluşturulan kompresyon modelleri mevcuttur. Bu modellerde denek büyüklüğüne bağlı olarak sinirde yapısal değişimleri ortaya çıkarabilmek için çok yüksek basınç uygulanması gerekebilir (7,8). Turnike uygulamasının dezavantajları uygun lokalizasyonun ve sinir üzerine uygulanan basının tam olarak kontrol edilememesidir (6). Bu alışmalar yapılırken bu tip lezyonların patofizyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte iki ana mekanizma ileri

sürülmekteydi. Bunlar kompresyona sekonder gelişen iskemi veya sinir fibrillerinin mekanik deformasyonuydu (7,66). Ekstremitte etrafına turnike uygulamakla sadece sinir fibrilleri etkilenmemekte aynı zamanda sinir kökünün bağ doku elemanları ve intranöral mikrodamarlarda etkilenmekteydi. İntranöral damarların etkilenmesi de ekstrasvasküler boşluğa düşük miktarlarda serum proteinlerinin geçmesine neden olarak epinöral ödeme yol açmaktaydı (67). Bu nedenlerle bu modellerde oluşturulan periferik sinir kompresyonu inkomplet olarak kabul edilmiştir (9). Komplet bir model oluşturabilmek amacıyla daha sonraki dönemlerde girişimsel bir yaklaşımla saatlerce süren kontrollü düşük basınçlı ekstrasvasküler bir basınç oluşturarak hareketli sinirin etrafına minyatür, şişirilebilir bir manşon yerleştirme denenmiştir (9, 10).

Kronik kompresyon modellerinde hareketli sinir segmentlerinin çevre dokudan ayırıp haftalarca veya aylarca metal kliplerle, kompresyon klipleri ile ve silikon yada polietilen gibi çeşitli tip materyalleri ile komprese edilmiştir (6, 68). Bu tip yöntemlerle dereceli bir kompresyon sağlamak mümkün olmuştur ancak bu kompresyonu spesifik bir basınç düzeyi ile ilişkilendirmek mümkün olmamıştır ayrıca bu tip uygulamalarda implante edilen yabancı materyal enflamatuvar bir cevaba yol açabilmektedir (6).

II H. MEMANTİN

Memantin (1-amino-3,5-dimetil-amantadan hidroklorid) düşük afiniteli, yarışmasız, klinik olarak iyi tolere edilebilir bir NMDA antagonistidir. Glutamerjik sinaptik transmisyonu etkilemektedir (69-71). Memantin dopamin D2 reseptöründe agonistik etkiye sahiptir (72).

II H a: Memantin farmakokinetik özellikleri

Oral uygulama sonrası 3-8 saatte maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşmaktadır ve yarı ömrü yaklaşık olarak 60-100 saattir. Biyoyararlanımı yaklaşık olarak %100'dür. Hepatik metabolizmaya uğramakta ve renal yoldan atılmaktadır (71, 73).

II H b: Memantin Farmakolojisi

II H b1: Glutamerjik (NMDA reseptörü)

Memantin glutamerjik NMDA reseptörlerinde düşük afiniteli voltaj-bağımlı yarışmasız antagonisttir (71). Mg^{+2} iyonlarına göre NMDA reseptörlerine daha yüksek afinite ile bağlanarak, memantin uzun dönemli Ca^{+2} iyonlarının içe akışını inhibe eder, bu durum nöral eksitoksisitenin temelini oluşturmaktadır. Bununla birlikte NMDA reseptör kanalı düzeyinde memantin düşük afinitesi ve hızlı 'off-rate' kinetikleri reseptörün fizyolojik fonksiyonunu korumaktadır, çünkü presinaptik nöronun depolarizasyonunu takiben salınan kısmen yüksek glutamat konsantrasyonları ile hala aktive edilebilmektedir (71, 74-76).

II H b2: Seratonerjik (5-HT₃ reseptörü)

Memantin NMDA reseptörüne benzer bir potansta 5HT₃ reseptörü üzerine yarışmasız bir antagonist olarak etki göstermektedir. Alzheimer hastalığı tedavisinde bu seratonerjik aktivitenin klinik önemi bilinmemektedir (77).

II H b3: Kolinergik (Nikotinik asetilkolin reseptörü)

Memantin olasılıkla NMDA ve 5HT₃ reseptörlerine benzer bir potansta farklı nikotinik asetilkolin reseptörlerinde (nAChRs) yarışmasız antagonist etki gösterir, fakat bu deneylerde nAChR cevaplarının hızlı desensitizasyonu nedeniyle bunu doğru olarak saptamak zordur. Memantin alfa-7 nAChR antagonist olduğu olduğu unutulmamalıdır, bu özellik memantin tedavisinin erken dönemlerinde kognitif fonksiyonların başlangıçta bozulmasına katkıda bulunabilir. Alfa-7 nAChR antagonizmaya cevap olarak hızlı bir şekilde yukarı yönde düzenlemektedir, bu durum kronik memantin tedavisinin kognitif fonksiyonları artırıcı etkisinin açıklayabilir (78-80). Alzheimer hastalığında nöronların sayısında genel bir düşüş olmasa dahi beyinde nikotinik reseptörlerin sayısının azaldığı gösterilmiştir ve nikotik reseptör agonistleri anti-Alzheimer ilaç tedavisi için ilginç hedefler olarak görünmektedir (81).

II H c: Klinik kullanım

Memantin Alzheimer hastalığındaki klinik bozulmada orta dereceli bir azalma ile ilişkili olarak gösterilmiştir. Randomize kontrollü çalışmaların sistematik bir derlemesi memantin orta ile şiddetli Alzheimer hastalığında kognisyon, mood, davranış ve günlük aktiviteleri gerçekleştirme üzerinde küçük bir pozitif etkiye sahip olduğunu fakat hafif ila orta dereceli bir hastalıkta bilinmeyen bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (70, 82).

Memantin aynı zamanda jeneralize anksiyete bozukluğu, epilepsi, opioid bağımlılığı, sistemik lupus eritematozus, depresyon, obsesif kompulsif bozukluk, esansiyel tremor, Tourette sendromu, problem çözme, dikkat-eksikliği hiperkativite sendromu, glokom, tinnitus, kompleks bölgesel ağrı sendromu dahil olmak üzere nöropatik ağrı, postherpetik nevralji, yaygın gelişimsel bozukluklar, HIV ilişkili demans, nistagmus, multipl skleroz, hiperamonemi indüklü ensefalopati ve akut ehepatik ensefalopatide ve otizmde de denenmektedir (83-94).

II H d: Yan etkiler

Memantin genel olarak iyi tolere edilmektedir. Hastaların yaklaşık olarak %1’inde bildirilen yan etkiler konfüzyon, dizzines, uyuşukluk, sersemlik, baş ağrısı, uykusuzluk, ajitasyon ve halisnasyonlar olarak sayılabilir. Daha nadir yan etkiler ise kusma, aksiyete, hipertoni, sistit ve artmış libidodur (95,96).

II İ. SİKLOOKSİJEAZ-2

Siklooksijenaz enzimi yardımıyla arşidonik asit metabolizmasından prostoglandinlerin üretimi enflamasyon patogenezindeki temel yollardan biridir (97). Siklooksijenazların COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki major izo-enzimi bulunmaktadır. COX-1 gastrik mukoza, karaciğer, böbrek ve plateletler gibi çeşitli dokularda sentez edilmektedir, buralardaki prostoglandin üretimi normal doku fonksiyonunu devam ettirmektedir (98). COX-2 geni Dr. Harvey Herschman tarafından enzimi ise 1988’de Daniel Simmons tarafından keşfedilmiştir (98). COX-2 indüklenebilir bir enzimdir ve normal erişkin dokularında az miktarlarda bulunmaktadır fakat hasarlanma veya enflamasyonu takiben periferik ve merkezi sinir sisteminde ve monositlerde artmaktadır (97, 99, 100).

Enflamasyon, ağrı, doku onarımı, ateş, inme, diyabet, ürogenital hastalıklar, Alzheimer hastalığı ve bazı kanserde COX-2'nin yukarı yönlü düzenlenmesi görülmektedir (101).

COX-2 temel olarak enflamasyon ve ağrıdan sorumludur ve indüklenabilir prostoglandin sentezleyen bir enzimdir (100). Çeşitli çalışmalarda COX-2'nin ve bunun ana son ürünü olan prostoglandin E2'nin (PGE2) hasarlanmış sıçan ve insan sinirlerinde yukarı yönde düzenlendiği gösterilmiştir (102- 103). COX-2 enflamatuvar hiperaljezide bilinen bir role sahiptir (100).

II J. Tümör Nekroz Faktör –alfa (TNF- α)

Aynı zamanda kaşeksin veya kaşektin olarak da bilinen bir sitokindir ve sistemik enflamasyona katılmaktadır. Akut faz reaksiyonunu stimüle eden sitokin grubunun bir üyesidir. Primer rolü immün hücrelerinin düzenlenmesidir. Apoptotik hücre ölümünü ve enflamasyonu indükleme ve tümörögenez ve viral replikasyonu ise inhibe edebilme kapasitesine sahiptir. TNF üretiminin bozulması kanser dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarda gösterilmiştir (104,105).

TNF esas olarak makrofajlar tarafından üretilir fakat lenfoid hücreler, mast hücreleri, endoteliyal hücreler, kardiyak miyositler, adipoz doku, fibroblastlar ve nöral doku dahil olmak üzere çeşitli diğer hücreler tarafından da üretilmektedir. Lipopolisakkarit, diğer bakteriyel ürünler ve interlekin-1'e cevap olarak fazla miktarlarda TNF salınmaktadır. Genellikle IL-1 ve IL-6 ile birlikte çeşitli organ sistemleri üzerinde çok sayıda etkilere sahiptir (106,107)

Lokal TNF konsantrasyonunun artışı enflamasyonun kardinal bulguları olan ısı artışı, şişme, kızarıklık ve ağrıya yol açar. Bununla birlikte yüksek TNF konsantrasyonları şok-benzeri semptomlara yol açar, uzun dönemli düşük TNF konsantrasyonlarına maruz kalma kaşeksi ile sonuçlanabilir (108-112).

II K. TOLONYUM KLORİD

Aynı zamanda toluidin blue olarak da adlandırılan ve histolojide kullanılan mavi katyonik (bazik) bir boyadır. Bu boya sıklıkla mast hücrelerini, sitoplazmik granüllerindeki heparin sayesinde, tanımlamak için kullanılmaktadır. Ayrıca, bu boya kıkırdak gibi dokularda proteoglikanları ve glikozaminoglikanları boyamak için de kullanılmaktadır. Mast hücrelerinin ve kıkırdığın kuvvetli asidik makromoleküler karbonhidratları bu boya ile kırmızıya boyanmaktadır ve bu olaya metakromazi denmektedir. Toluidin mavisinin alkalın solüsyonları yaygın bir şekilde resin-gömülü dokuların yarı-ince (0.5 ila 1 µm) kesitlerini boyamak için kullanılmaktadır. Yüksek pH düzeylerinde boya nükleik asitlere ve tüm proteinlere bağlanır. Dokudaki her şey boyanmasına rağmen, yapısal detaylar kesitlerin inceliği nedeniyle açık bir şekilde seçilebilmektedir (113-115).

II L. S-100

S-100 proteini omurgalılarda bulunan düşük moleküler ağırlıklı bir protein ailesidir ve en az 21 farklı S-100 çeşidi mevcuttur. Nötral pH'da amnyum sülfat içinde %100 oranında çözündüğünden bu isim verilmiştir. S-100 normalde nöral krestten gelişen hücrelerde (Schwann hücreleri, melanositler ve glial hücreler), kondrositlerde, adipositlerde, miyoepitelial hücrelerde, makrofajlarda, Langerhans hücrelerinde, dendritik hücrelerde ve keratinositlerde bulunmaktadır. Bazı meme epitelial hücrelerinde de bulunabilirler (116).

S100 proteinleri çeşitli intrasellüler ve ekstrasellüler fonksiyonlarda görev almaktadırlar. Bu proteinler protein fosforilasyonun, transkripsiyon faktörlerinin, kalsiyum hemostazının, hücre iskeleti bileşenlerinin dinamiklerinin, enzim aktivitelerinin, hücre büyümesinin ve farklılaşmasının ve de enflamatuvar cevabın düzenlenmesinde görev almaktadırlar (117,118).

S-100 protein ailesinin çeşitli üyeleri bazı tümörlerde ve epidermal farklılaşmada belirteç olarak kullanışlıdır. Bu melanomlarda, kötü huylu periferik sinir kılıfı tümörlerinin %50'sinde, schwannomlarda, paraganglioma stromal hücrelerde, histiyostomda ve berrak hücreli sarkomlarda bulunabilirler. Bundan başka, S-100 proteinleri enflamatuvar hastalıklar için belirteçlerdir ve bunlar enflamasyona aracılık etmekte ve antimikrobiyal etki gösterebilmektedirler. S 100 proteinleri laboratuvar anatomik patoloji için hücre belirteçleri olarak kullanılmaktadır (118,119).

III. MATERYAL METOD

Çalışma 02.09.2009 tarihli ve B.30.2.ADÜ.0.06.00.00/124-HEK/2009/63 sayılı Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (ADÜ-HADYEK) onayı alındıktan sonra Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'na sağlanan deneklerle Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları laboratuvarında gerçekleştirildi. Denek olarak ağırlıkları 200 ± 20 gram arasında değişen 48 adet Wistar albino cinsi erişkin dişi sıçan kullanıldı. Hayvanlar ad libitum beslendi ve 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık döngüsüne uyuldu. Hayvanlara günlük taze musluk suyu verildi ve haftada en az iki kez olmak üzere kafes ve altlık temizliği yapıldı. Ortam sıcaklığının 20-24 °C arasında olması gerekliliğine uyuldu. Çalışma öncesi ve sakrifikasyon öncesi tüm hayvanlar tartıldı, ağırlık değişimleri not edildi (Tablo I).

Denekler 4 gruba ayrıldı. Gruplar yalancı operasyon grubu (sham-operated) (1. grup) (n=12) , akut kompresyon modeli grubu (2. grup) (n=12), akut kompresyon modeli artı düşük doz memantin grubu (3. grup) (n=12) ve akut kompresyon artı yüksek doz memantin (4. grup) (n=12) olarak ayrıldı. Her bir grup 12 denekten oluşturuldu. Cerrahi işlem hem biyokimyasal çalışma hem de histolojik çalışma için doku sağlayabilmek amacıyla her iki siyatik sinire yönelik olarak uygulandı. Deneklerin anestezisi 8 mg/100 gr ketamin (Alfamine %10, Ege Vet Hayvancılık Bornova-İzmir, Alfasan International BV Hollanda) ve 1 mg/100 gr xylazin (Alfazyne %2, Ege Vet Hayvancılık Bornova-İzmir, Alfasan International BV Hollanda) karışımının intraperitoneal yoldan verilmesiyle gerçekleştirildi.

III A. Cerrahi Süreç

1. grup yalancı operasyon grubu (sham-operated) olup bunlarda sadece siyatik sinir diseksiyonu yapıldı. Denekler anesteziyi takiben tartıldı, sonrasında uyluğun dış kısmı hem biyokimyasal hem de histolojik değerlendirme için yeterli doku sağlanabilmesi amacıyla iki taraflı tıraş edildi ve cilt PVD iodinle (Batticon st solüsyon Adeka-Samsun) dezenfekte edildi. Ventral dekübit pozisyonlarda cilde bistüri yardımıyla yaklaşık 2 cm uzunluğunda longitudinal bir kesi yapıldı. Cilt insizyonunu takiben cilt, ciltaltı geçildi ve kas yapılarına ulaşıldı. Femoral ve gluteal kaslar arasından künt diseksiyonla siyatik sinir orjininden ilk dalını verdiği yere kadar açığa çıkarıldı (Resim 2,3). Siyatik sinirler ortaya konduktan sonra anatomik yapıya uygun olacak şekilde katlar kapatıldı. Cilt sütürasyonunun ardından cilt tekrar PVD iodinle dezenfekte edilerek hayvan uyanmaya bırakıldı. Bu grupta bir tane sıçana

uyumaması nedeniyle ek doz anestezi madde uygulandı ancak hayvan muhtemel fazla anestezi madde etkisine bağı olarak kaybedildi, yerine yeni bir hayvanda disseksiyon yapıldı, çalışma boyunca bu sıçan kaybından başka denek kaybı yaşanmadı.



Resim 2: Sıçana uygulanacak cilt insizyonun hazırlanması.

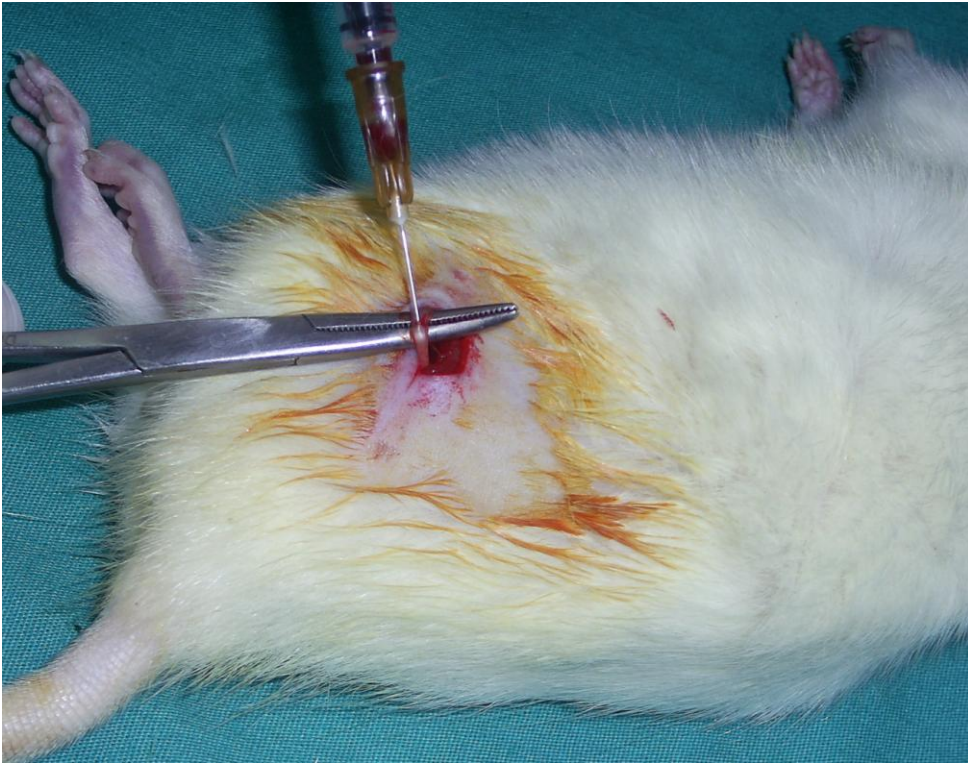


Resim 3: Sıçanın ortaya konmuş siyatik siniri.

2. grupta aynı şekildeki cerrahi işlem basamaklarıyla siyatik sinir disseksiyonunun ardından deneğin kuyruk veninden alınan otolog kan (her bir taraf için 0.2 ml) siyatik sinire intranöral olarak verilerek akut kompresyon modeli oluşturulmaya çalışıldı (11) (Resim 4,5). Sonrasında katlar kapatılarak hayvan uyanmaya alındı. 3. ve 4. grupta da aynı cerrahi işlem basamakları ile siyatik sinir disseksiyonu yapıp ardından kuyruk veninden alınan otolog kan ile akut intranöral hematoma yapılarak akut periferik sinir kompresyonu yapıldı.



Resim 4: Sıçanın kuyruk veninden otolog kan alınması ve disseke edilip hazırlanmış siyatik sinir



Resim 5: Kuyruk kanından alınan otolog kanın siyatik sinire intranöral olarak uygulanması.

3. Grup düşük doz memantin grubuydu. Bu gruptaki deneklere siyatik sinir disseksiyonu ve akut periferik sinir kompresyonu oluşturulduktan sonra 7 gün boyunca intraperitoneal yoldan düşük doz memantin hidroklorid (Sigma Aldrich, memantine hydrochloride>98%GC, M9292) (1 mg/kg/gün) uygulandı (120).

4. gruptaki deneklere ise siyatik sinir disseksiyonu ve akut periferik sinir kompresyonu oluşturulduktan sonra 7 gün boyunca yüksek doz memantin hidroklorid (12,5 mg/kg/gün) ([alışma öncesi 20 mg/kg düşünülmesine rağmen projenin yeterli destek alamaması nedeniyle 12,5 mg/kg/gün'e düşüldü]) yine intraperitoneal yoldan uygulandı (88, 121) .

Hayvanlar bu 7 günlük süreç içerisinde yine ad libitum beslendi. 12 saat karanlık ve aydınlık döngülerine uyuldu. Günlük taze musluk suyu verildi. Ortam ısısı 20-24 °C arasında tutuldu. Memantin deneklere her gün aynı saatte enjekte edildi. Hayvanlara 8. gün 30° eğimli zeminde yürüme testi (Walking track test) yapıldı. Yürüme testinde hayvanların her iki ayakları mürekkeple (Pelikan® D-30177, Hannover Germany, RFA, stamp pad ink) boyanarak 30° eğimli zeminde yürütüldü (Resim 6). Ardından hayvanlar 8 mg/100 gr ketamin ve 1 mg/100 gr xylazin karışımı anestezi madde uygulanarak uyutuldu. Hayvanlar yine tartıldı ve ağırlıkları not edildi (Tablo 1). Daha sonra bu hayvanların siyatik siniri iki taraflı olarak orjininden ilk dalımı verdiği yere kadar disseke edildi ve sinirler çıkarıldı. Doku rnekleri iki taraflı olarak alındıktan sonra sıçanlar yüksek doz anestezi madde ile öldürüldü. Alınan siyatik sinir dokusu biyokimyasal çalışma için hemen kuru epandorf tp içerisine konarak -20 derecelik dolapta saklamaya alındı. Histolojik değerlendirme içinde alınan doku örnekleri kakodilat tamponlu mayi içerisine konularak ivedilikle değerlendirme için teslim edildi.



Resim 6: Sıçanların yürüme testi için hazırlanan 30° eğim verilmiş düzenek

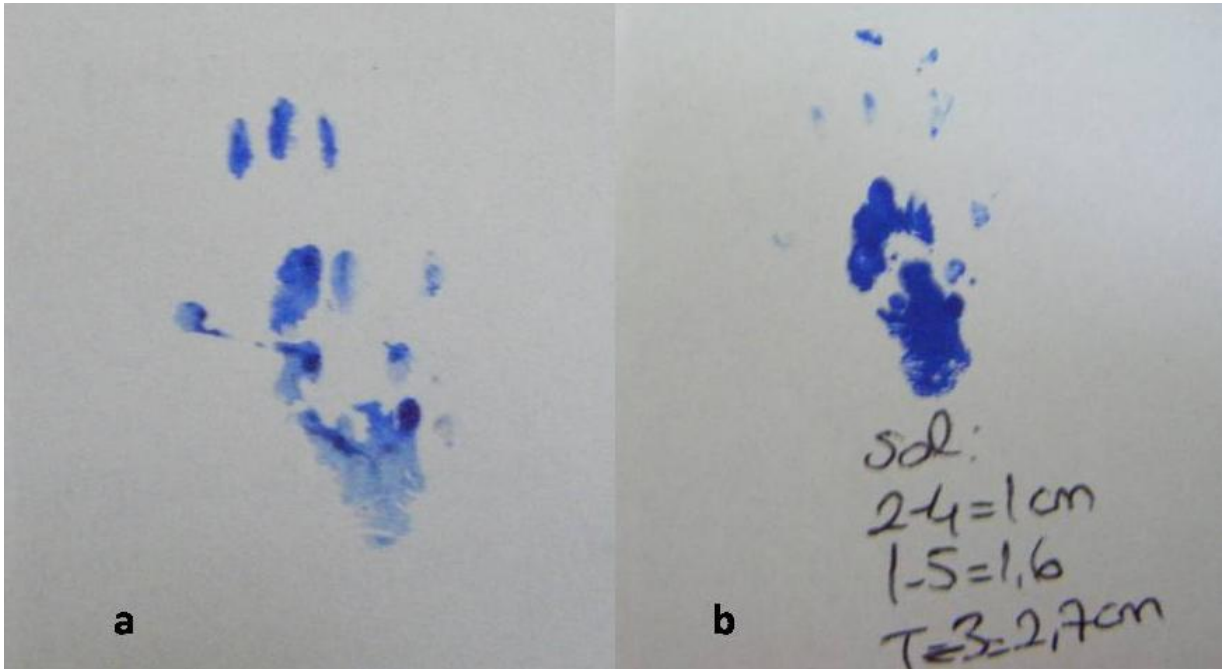
III B. Ayak-izi Analizi

Çalışmanın klinik değerlendirilmesi Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında deneklerin sakrifikasyon öncesi ayaklarının mürekkep ile boyanarak 30°'lik eğik düzlemde yürütülmesi ile değerlendirilmiştir. Denekler bu düzlemde yürütülmüş ve mürekkep izlerinden siyatik sinir endeksi hesaplanmıştır ve gruplar arasında fark olup olmadığı kontrol edilmiştir (Resim 7).

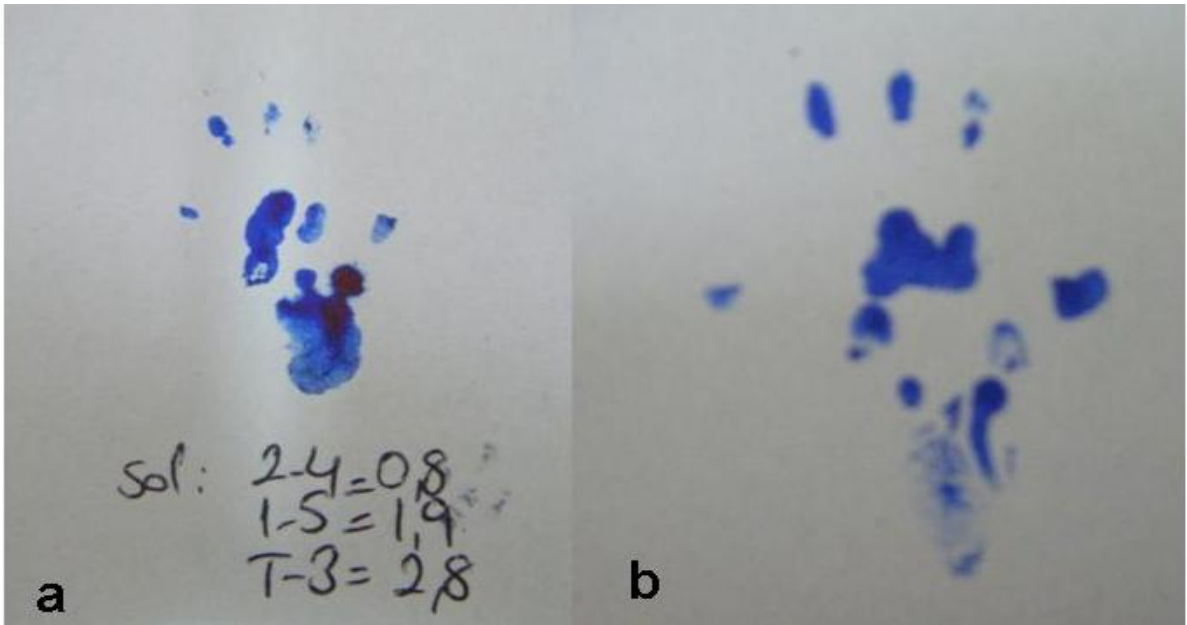
Siyatik sinir endeksinin hesaplanmasında;

$$SFI = -38.3 (DBU-CBU/CBU) + 109.5 (DPA-CPA/CPA) + 13.3 (DOA-COA/COA) - 8.8$$

formülü kullanıldı. Bu formülde DBU; denek baskı uzunluğunu (topukla 3. parmak arası uzaklık), CBU; kontrol baskı uzunluğunu, DPA; denek parmak ayrıklığını (1. ve 5. parmak arasındaki uzaklık), CPA; kontrol parmak ayrıklığını, DOA; denek orta parmak aralığını (2. ve 4. parmak arasındaki uzaklık), COA; ise kontrol orta parmak aralığına işaret etmektedir (122).

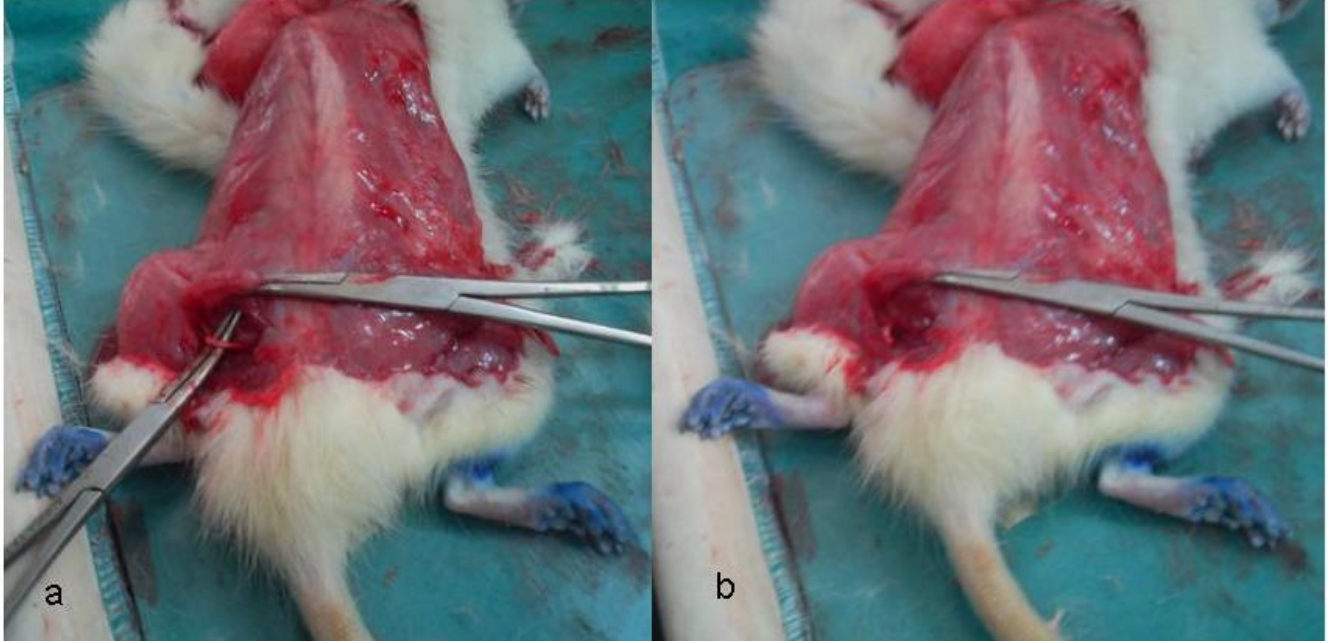


Resim 7. Birinci (a) ve ikinci gruptaki (b) sıçanların eğik düzlemde yürütülmesi ile elde edilen ayak izleri



Resim 8: Üçüncü (a) ve dördüncü (b) gruptaki sıçanların eğik düzlemde yürütülmesi ile elde edilen ayak izleri

Ayak izleri alındıktan sonra denekler 8 mg/100 gr ketamin ve 1 mg/100 gr xylazin ile uyutuldu. Denekler siyatik sinirleri alındıktan sonra yüksek doz anesteziik madde ile öldürüldü (Resim 9a&b).



Resim 9a&b: Sıçanların siyatik sinirlerinin alınmasından hemen önceki (a) ve siyatik sinirleri alındıktan sonraki (b) görüntüleri

III C. Biyokimyasal Yöntem

Çalışmanın biyokimyasal bölümü Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında gerçekleştirildi, cerrahi işlem sürecinde alınan siyatik sinirler analize kadar 1,5 cc'lik kuru epandorf içerisinde -20 °C'de saklandı.

III C. a: Dokuların Homojenizasyonu

Dokular lizis tamponu ile (lizis tamponu hazırlanışı: içerisinde 150 mM NaCl, 50 mM Tris (pH:8.0), %1'lik Triton X-100, 1µg/mL Leupeptin, 1µg/mL Aprotinin, 1µg/mL Pepstatin, 1mM PMSF olacak şekilde hazırlandı) buz üzerinde 1/20 dilüsyonda homojenize edilerek 10000 rpm'de +4C'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra protein, TNF- α ve COX-2 düzeyleri saptandı.

III C. b: Dokularda TNF- α ve COX-2 düzeylerinin saptanması

TNF düzeyinin saptanması için Invitrogen rat ELISA kit ve COX-2 düzeyinin saptanması için de IBLrat ELISA kit kullanıldı. Dokuda - α ve COX-2 düzeyleri mg protein başına hesaplanarak verildi.

III C. c: Dokuda Protein Tayini

Lowry yöntemine göre yapıldı:

Na_2CO_3 2g ve 0,05g Na-K-tartarat, 0,1 N NaOH içinde çözülerek hacim 100 mL'ye tamamlandı. 100 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 100 mL distile suda çözülerek hazırlandı. Alkali bakır çalışma çözeltisi: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ / Na_2CO_3 0,1 M NaOH, 0,7 M Na-K-tartarat (1/9) oranında karıştırılarak hazırlandı. Seyreltik folin: Folin, 1/2 su ile seyreltilti. Deney tüplerine 2,5 mL alkali bakır çözeltisi ve 50 μL numune konularak 15 dakika oda ısısında bekletildi. Üzerine 250 μL seyreltik fenol çözeltisinden eklendi ve 45 dakika oda ısısında bekletildi. Numuneler spektrofotometrede 750 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Numunelerin protein konsantrasyonları protein standardı eğrisinden hesaplandı.

III D. Histolojik Değerlendirme

Çalışmanın histolojik değerlendirmeleri Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Değerlendirmede elektron mikroskopik takipten geçen siyatik sinirlerden 1 mikronluk kesitler alınarak toluidin ve S100 boyamaları yapılarak histolojik olarak değerlendirilmiştir.

III D. a. Mikroskopik Gereç Ve Yöntem

III D. a.1: Fiksatif

(0.1M) cacodylate tamponlu %2lik glutaraldehide ve %2lik paraformaldehide solüsyonu.

- 8 cc %25 lik glutaraldehit
- 25 cc %8 paraformaldehit
- 17 cc distile su
- 50 cc %2 lik cacodylate tamponu (123, 124).

%10 luk formaldehit solüsyonu

- Formaldehit (%37 lik) (Merck 1.04.002.2500)

%4 lük Paraformaldehit

- Toz Paraformaldehit (Merck, 1.04.005.1000)

III D. a.2: Osmium Tetroksit (Postfiksasyon için)

Stok solüsyon hazırlanması için kullanılacak şişenin kahverengi olması, geniş ağza sahip olması, camdan yapılı kapağının şişe ağzına iyice uyması ve şişenin özel olarak önceden iyi bir şekilde temizlenmesi gerekir. Önceden temizlenmiş ve bu amaç için kullanılacak 100 cc'lik geniş ağızlı ve cam kapaklı şişe bir gece süre ile saf sülfürik aside (H_2SO_4) bırakılır. Bu şişe içine 50 cc. distile su konduktan sonra osmiyum tetroksidin 1 gr.lık ampülü bu şişe içinde kırılır. Osmium tetroksit ampulünün de daha önceden iyice temizlenmesi gerekir. Bu amaçla önce ampulün etiketi çıkarılır ve bir saat saf sülfürik asitte bekletilir. Sonra defalarca distile sudan geçirilir daha sonra ampulün ucuna yakın yerden ampul testeresi ile halka şeklinde çizilir tekrar distile sudan geçirilir. Daha sonra ucu aleve tutulmuş pens yardımıyla ampul tutulur ve çizilen uç bir benzen alevinde ısıtıldıktan sonra 50 cc. Distile su bulunan şişe içine atılır. Sıcak ampul soğuk suyla temas edince testere ile çizilmiş yerinden parçalanır. Serbest kalan osmiyum tetroksit kristalleri oda ısısında erimeye bırakılır. Osmium tetroksit suda güç eridiğinden eriğin kullanılmadan bir gün önce hazırlanması gerekir. Bu şekilde hazırlanmış %2'lik tetroksit eriği çok açık sarı renkte ve berrak görünüşlüdür (125).

III D. a.3: Tamponlar

1) %2 lik cacodylate tamponu.

- 9,6 gr cacodylate
- 150 cc distile su (124).

2) Sitrat tampon solüsyonu: Formalin ve diğer aldehitli fiksatifler antijenik bölgedeki çapraz bağları maskelerler bunun sonucunda immunohistokimyasal boyamlarda zayıf veya yalancı negatif sonuçlar alınması söz konusu olabilir. Bu etkinin uzaklaştırılmasının bir yolu da sitrat tamponu ile yüksek ısıda muamele etmektir. Sodyum Sitrat Tamponu (10mM Sodyum Sitrat, 0.05% Tween 20, pH 6.0):

Tri-sodyum Sitrat (dihydrate) ----- 2.94 g

Distile Su ----- 1000 ml

Tri-sodyum sitratı distile suda çözölür 1HCl ile pH 6.0 olarak ayarladıktan sonra 0.5 ml Tween 20 ilave edilir. 4 °C de uzun süre saklanır.

3) PBS (Tuzlu fosfat tamponu) yıkama solüsyonu

NaH₂PO₄.H₂O ----- 4.8 gr

NaCl -----7.8 gr

Distile Su ----- 1000 ml (pH:7.2)

III D. a.4: Diseksiyon

Sıçanların. Siyatik sinir ayrılarak fiksatifte 24 saat bekletildi. Direk küçültüldü ve elektron mikroskopik takibe alındı.

III D. b. Elektron Mikroskopik Gereç

- Osmium tetroksit (OsO₄)
- % 50 etanol
- % 70 etanol
- %95 etanol
- % 100 etanol
- Propilenoksit
- Epon 812
- DDSA (Dodecenyl succinic anhyride)
- MNA (Methyl nadic anhydride)
- DMP 30
- BEEM 036 kapsül
- Etüv

III D. c. Elektron Mikroskopik Yöntem

III D. c. 1: Fiksasyon

- Glutaraldehyde ve paraformadehyde kombine fiksasyonunda 24 saat immersiyon takibi sağlandı.
- Siyatik sinirler diseksiyon mikroskobunda incelenerek çıkarıldı.
- Tespit edilen parçalar cacodylate tamponuna alındı.

Post fiksasyon için 1.1 oranında osmium tetroksit (OsO_4) + Cacodylate tamponu eklendi.(1,5-2 saat). Parçalar temiz tüpe aktarıldı.

III D. c. 2: Dehidratasyon

- Ve üzerilerine cacodylate tamponu ilave edilip 15 dakika bekletildi.
- % 50 Alkol (15 dk),
- % 50 Alkol (15 dk),
- % 70 Alkol (25 dk),
- %95 Alkol (25 dk),
- % 100 Alkol (30 dk)
- %100 Alkol (15 dk) serilerden geçirilir. Parçaların dehidrasyonu sağlanır.
- 1:1 oranında %100 Alkol- Propilenoksit (30 dk.)
- Saf propilenoksit (30 dk)
- Saf propilenoksit (30 dk.) bekletilir, temiz tüplere alınır ve
- 2:1 oranında propilenoksit + Epon karışımına konur (60 dk) .
- DMP-30'suz Epon karışımına alınarak 1 gece (parçaların dibe çökene kadar) buzdolabında +4 °C de bekletildi.

III D. c. 3: Gömme

- %1.5-2 oranında DMP-30 içeren epon içerisinde BEEM 036 pyramidal kapsüllere gömüldü.
- 37 C° etüvde 24 saat tutuldu
- Etüv ısısı 45 °C ye yükseltildi (24 saat) .
- Etüv ısısı 60 °C ye yükseltildi (24 saat) .
- Etüvden alınan parçaların tamamen sertleşmesi için oda ısısında 10 gün beklemeleri gerekmektedir

III D. c. 4: Kesit Alma

- Reichert, Austria Nr.313864 ultramikrotom aracılığı ile elektron mikroskobu için ince 1 mikronluk kesitler alındı.

III D. c. 5: Boyama

III D. d. Toluidine Blue Boyama

Stok solüsyon

Toluidin Blue.....0,1 gr

Borax.....1 gr

Distile su.....50 cc

Bu karışım 1 gün bekletildi. Çalışılacağı zaman 25 cc alınıp üzerine 25 cc distile su ilave edilerek 1:1 seyreltilir. Preparatlar 65 °C-95 °C deki etüvde 1-2 dakika boyanır (123).

III D. e. S-100 BoyamaProtokolü:

- 1.Kesitler, Epon uzaklaştırılıp OsO4 den kurtulduktan sonra distile suya alınır.
- 2.Epitop açığa çıkarılması: İçerisinde sitrat tamponu bulunan (pH: 6.0) su banyosu 95-100 °C ye kadar ısıtılır. Bunun içine kesitler özel taşıyıcı ile oturtulur ve taşıyıcının kapağı hafifçe kapatılır ve 20 dakika inkübasyon sağlanır. 20 dakika sonunda su banyosuna alınır oda sıcaklığına ulaşması sağlandıktan sonra 20 dakika daha beklenir.
- 3.Kesitler 2 kez 2 dakika süreyle yıkama solüsyonunda yıkanır.
- 4.Serum Bloklama: kesitler normal horse serum bloklama solüsyonunda 30 dakika İnkübe edilmek üzere bekletilerek immunoglobulinin nonspesifik taşınması engellenir.
- 5.Primer antibody: Kesitler 1:100 dilüsyonda mouse Anti-GFAP (GA5) (Labvision Co.- Neomarkers Cat# RB-087-R7 7 ml Ready to use) Primer antikoru ile oda sıcaklığında overnight bekletilir.
- 6.Yıkama tamponunda 2x2 dakika muamele edilir.
- 7.Endojen peroksidaz aktivitesini bloklamak için kesitler peroksidaz bloklama solüsyonunda 10 dakika tutulur.
- 8.Yıkama tamponunda 3x2 dakika muamele edilir.
- 9.Sekonder antibodi olan Biotinle konjuge Horse anti-Mouse IgG ile kesitler 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir.
10. Yıkama tamponunda 3x2 dakika muamele edilir
11. Görünür hale getirme: Kesitler HRP-streptavidin ile 30 dakika işlem görür.

12. Yıkama tamponunda 3x2 dakika muamele edilir .
 13. Daha sonra kesitler DAB peroksidase substrate solüsyonu ile 5-10 dakika işlem görür .
 14. Distile su ile yıkanır.
 15. Dehidratasyon için %95 alkolde 2 dakika, %100 alkolde 2x3 dakika işlem görür.
 16. Kesitlerin parlak görünmesi için ksilolde 2x3 dakika işlem
 17. Entellan ile lamel kapatılır, mikroskopik inceleme yapılır.
- Her iki boyama ile görüntüler ve mikrofotograflar değerlendirildi.

III E. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizi bilgisayar ortamında SPSS 14.0 istatistik programında yapıldı. Gruplar arası farklılığın önemini tespit etmek için bağımlı (paired) t testi kullanıldı. P değerinin 0.05'den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

Çalışmadaki tüm deneklerin çalışma öncesi ve sakrifikasyon öncesi ağırlıkları hassas tartı ile ölçülmüştür ve en fazla ± 5 gramlık bir değişim görülmüştür (Tablo I). Denek numarası 1-12 arasında olanlar birinci grubu, 13-24 arasında olanlar ikinci grubu, 25-36 arasındakiler üçüncü grubu ve 37-48 arasında olanlar dördüncü grubu oluşturmaktadır.

Deneklerin çalışma öncesi ve çalışma sonrası ağırlık değişimleri istatistiksel olarak değerlendirildi. Bağımlı (paired) t testi ile sonuçlar analiz edildi. Çalışma öncesi 1. gruptaki deneklerin ortalama ağırlığı 213.3 gramdı (standart sapması= ± 7.8), çalışma sonrası ortalama ağırlık 215,4 gramdı (sd: ± 8.6). İki ölçüm arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

2. grupta çalışma öncesi ortalama ağırlık 213.3 gramdı (sd= ± 8.9), çalışma sonrası ortalama ağırlık 214.1 gramdı (sd= ± 7.6). İki ölçüm arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

3. grupta çalışma öncesi ortalama ağırlık 212.5 gramdı (sd= ± 7.5), çalışma sonrası ortalama ağırlık ise 213.7 gramdı (sd= ± 7.4). İki ölçüm arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

4. grupta çalışma öncesi ortalama ağırlık 212.5 gramdı (sd= ± 8.7), çalışma sonrası ortalama ağırlık ise 213.7 gramdı (sd= ± 7.4). İki ölçüm arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo I: Deneklerin çalışma öncesi ve sakrifikasyon öncesi ağırlıkları

Denek Numarası	Çalışma öncesi ağırlık (gram)	Sakrifikasyon öncesi ağırlık (gram)	Ağırlık değişimi (Gram)
1	220	225	+5
2	200	200	-
3	210	210	-
4	220	225	+5
5	220	225	+5
6	200	210	-5
7	210	205	-5
8	220	225	+5
9	220	215	-5
10	210	210	-
11	220	220	-
12	210	215	+5
13	200	205	+5
14	220	215	-5
15	220	220	-
16	210	210	-
17	220	215	-5
18	220	220	-
19	220	230	+5
20	200	205	+5
21	210	210	-
22	200	205	+5
23	220	215	-5
24	220	220	-
25	220	230	-5
26	220	220	-
27	210	210	-
28	210	215	+5
29	200	205	+5
30	220	215	-5
31	200	205	+5
32	210	205	-5
33	220	220	-
34	210	210	-
35	220	215	-5
36	210	215	+5
37	220	225	+5
38	200	205	+5
39	210	210	-
40	220	215	-5
41	220	220	-
42	200	205	+5
43	220	215	-5
44	200	200	-
45	210	215	+5
46	210	210	-
47	220	215	-5
48	220	215	-5

Çalışmadaki tüm denekler sakrifikasyon öncesi eğik düzlemde yürütülerek siyatik sinir fonksiyon endeksleri hesaplanmıştır (Tablo II, III).

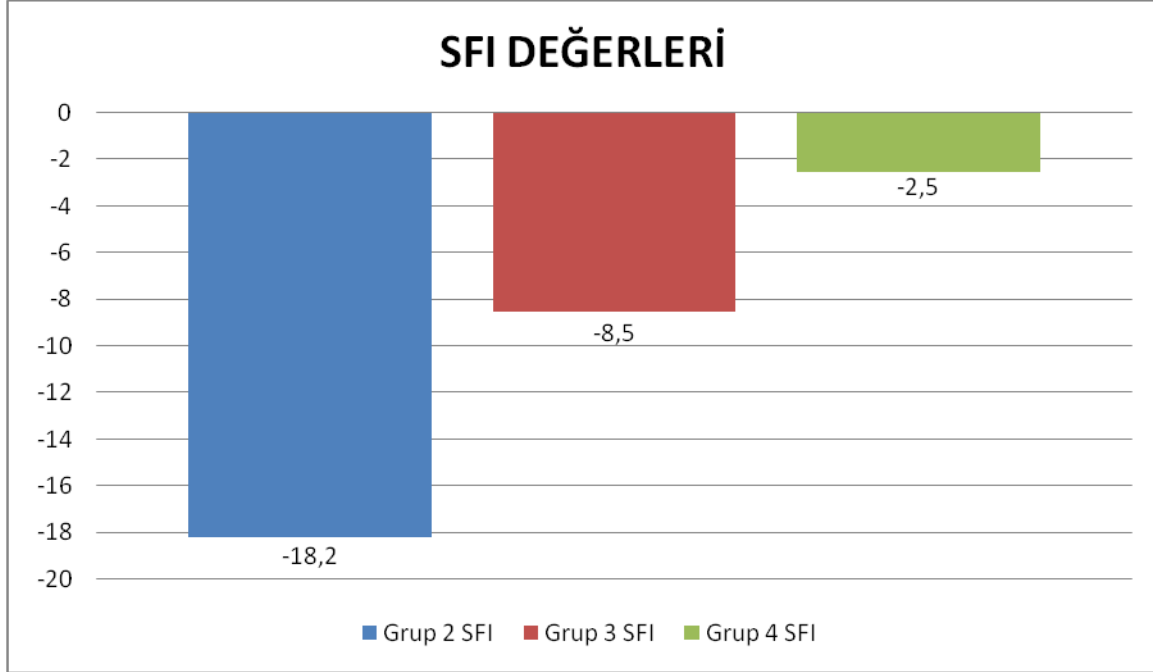
İkinci grubun ortalama SFI değeri değeri -18.2 (sd= $\pm$ 11.7) olarak saptandı. Üçüncü grubun ortalama SFI değeri -8,5 (sd= $\pm$ 7.5) olarak saptandı. grup 2 ile 3 bağımlı t testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p<0.05$).

Dördüncü grubun ortalama SFI değeri değeri -2,5 (sd= $\pm$ 9) olarak saptandı. 2. grup ile 4. grup bağımlı t testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ($p<0.05$). 3. grup ile 4. grup kendi arasında bağımlı t testi ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ($p<0.05$).

Tablo II: Deneklerin SFI değerleri

Denek Numarası	Grup II	Grup III	Grup IV
1	-24,4	-6,2	-0.2
2	-19,7	-14,4	-2,7
3	-24,5	-28,2	-17,8
4	-12,6	-3.1	-1.5
5	-12,7	-6.7	+8.7
6	-15,8	-3,1	-5
7	-23,3	-1,8	-15,8
8	-4,1	-1,1	+10.3
9	-48,7	-7.5	+4.7
10	-5,2	-5.5	+4,5
11	-12,5	-11,7	-3,7
12	-14,6	-12,5	-11,5

Tablo III: Deneklerin SFI değerlerinin grafik dökümü



Deneklerden alınan siyatik sinir doku örneklerinde ELISA yöntemi ile sikloksijenaz-2 düzeyleri hesaplandı (Tablo IV, Tablo V).

Birinci grupta ortalama COX- değeri 0.98 ng/ml olarak saptandı (sd= $\pm$ 0.51). ikinci grubun COX ortalama COX-2 değeri ise değeri 1.89 ng/ml olarak saptandı (sd= $\pm$ 0.22). İki gup arasında bağımlı t testi ile yapılan analizlerde istatiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p < 0.05$).

Üçüncü grubun ortalama COX- değeri 1.39 ng/ml olarak saptandı (sd= $\pm$ 0.36). Birinci grup ile üçüncü grup istatiksel analize tabii tutulduğunda istatiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p < 0.05$).

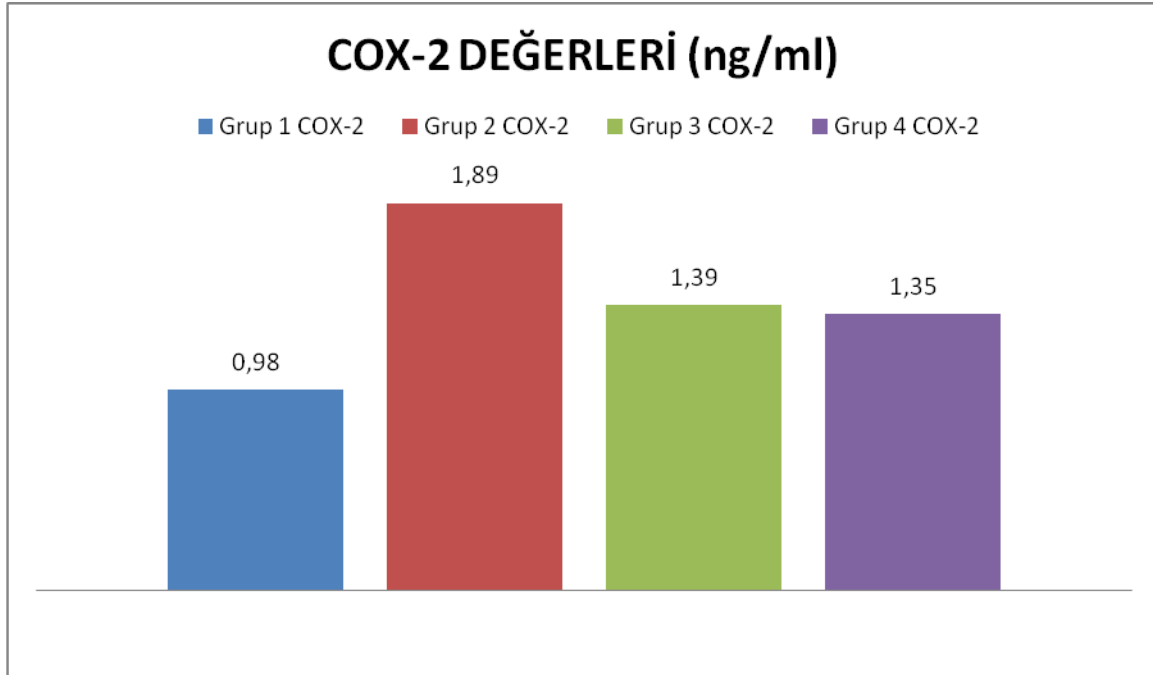
Dördüncü grubun ortalama COX- değeri 1.35 ng/ml olarak saptandı (sd= $\pm$ 0.59). Birinci grup ile dördüncü grup bağımlı t testi ile istatiksel analize tabii tutulduğunda istatiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

İkinci grup ile üçüncü grup arasında ve ikinci grup ile dördüncü grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p<0.05$). Bununla birlikte üçüncü grup ile dördüncü grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo IV: Deneklerin siyatik sinir dokularında ELISA ile ölçülen COX-2 düzeyleri

Denek numarası	Grup I COX-2 değeri	Grup II COX-2 değeri	Grup III COX-2 değeri	Grup IV COX-2 değeri
1	1,376078662	1,751635017	1,192678879	1,703433641
2	0,883039206	1,433918359	1,526336582	1,584563718
3	0,491059979	2,06423553	1,829126387	1,432094937
4	0,617869972	2,03085337	0,690017826	0,295065082
5	1,005800806	1,775994254	1,33789465	1,406388642
6	2,463839905	1,890826024	1,575645887	0,665765326
7	0,744133388	1,693102292	1,889419435	1,144930175
8	0,637047017	1,95256481	1,357954947	1,870767592
9	1,022496898	2,149915792	0,850823501	1,398896293
10	0,856784521	1,97188096	1,728969509	2,58072243
11	0,784552556	2,243492922	1,401331488	0,857349697
12	0,956883364	1,784568712	1,387569452	1,356847569

Tablo V: Deneklerin siyatik sinir dokularında ölçülen COX-2 düzeylerinin grafik dökümü



Deneklerden alınan siyatik sinir doku örneklerinde ELISA yöntemi ile TNF- α düzeyleri hesaplandı (Tablo VI, Tablo VII).

Birinci grupta ortalama TNF- α düzeyi 0.09 pg/ml olarak saptandı (sd= $\pm$ 0.23). İkinci grupta ortalama TNF- α düzeyi 1.0 pg/ml olarak saptandı (sd= $\pm$ 0.96). İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p < 0.05$).

Üçüncü grupta ortalama TNF- α düzeyi 0.46 pg/ml olarak saptandı (sd= $\pm$ 0.55). Birinci grup ile üçüncü grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilemedi ($p > 0.05$).

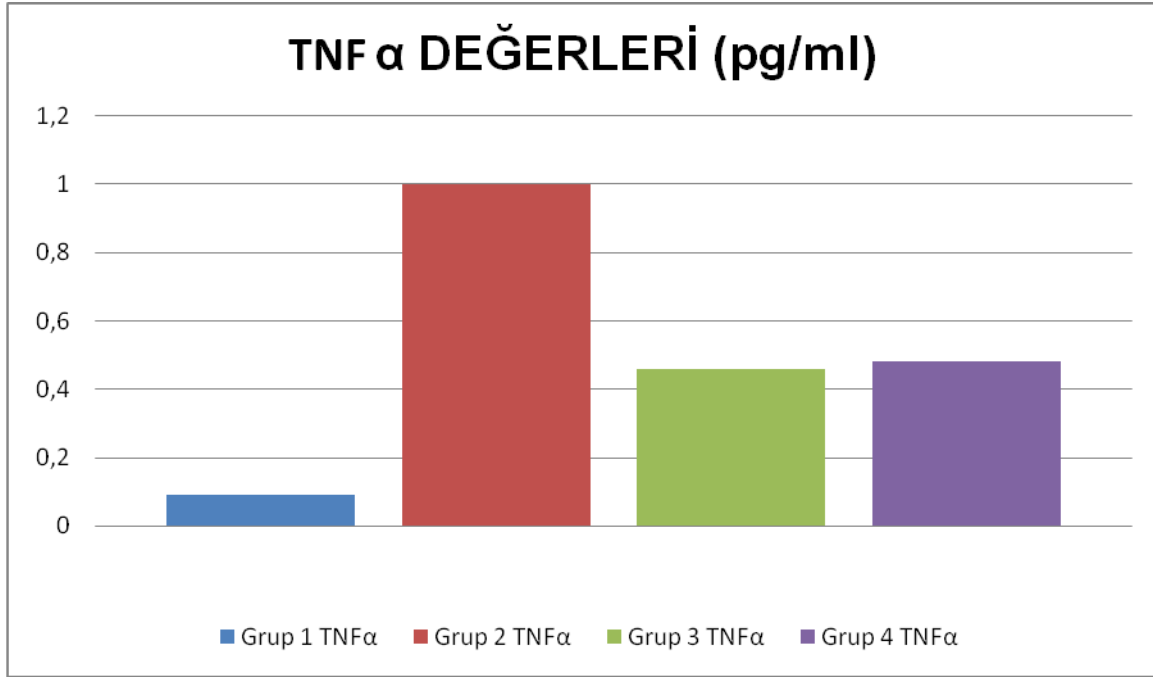
Dördüncü grupta ortalama TNF- α düzeyi 0.48 pg/ml olarak saptandı (sd= $\pm$ 0.78). Birinci grup ile dördüncü grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0.05$).

İkinci grup ile üçüncü grup arasında ve üçüncü grup ile dördüncü grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamadı ($p > 0.05$).

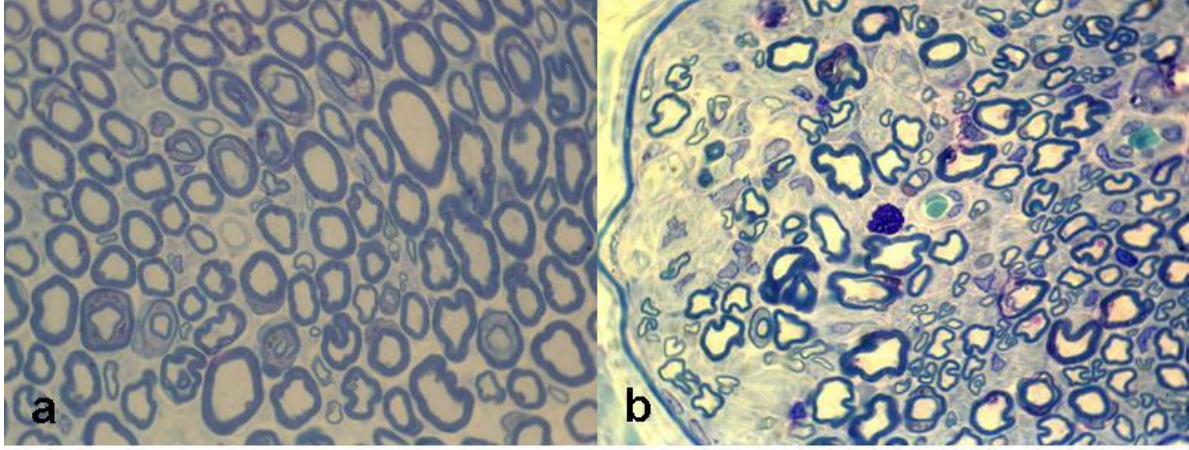
Tablo VI: Deneklerin siyatik sinir dokularında ELISA ile bakılan TNF- α düzeyleri

Denek numarası	Grup I TNF- α değeri	Grup II TNF- α değeri	Grup III TNF- α değeri	Grup IV TNF- α değeri
1	0	2,746342486	0,345701096	0
2	0	1,057363486	0,477452668	1,80909419
3	0,726570048	1,737257824	0	0
4	0	0	0,425586866	1,226086957
5	0	0	1,894368643	0
6	0	0,222601676	1,057785467	0,325394278
7	0,023342939	1,409081309	0,501984025	0
8	0	1,433008214	0	2,147946561
9	0	0	0	0
10	0,416579145	2,277305825	0,295866142	0,274723757
11	0	0	0,616008772	0
12	0	1,235265544	0	0

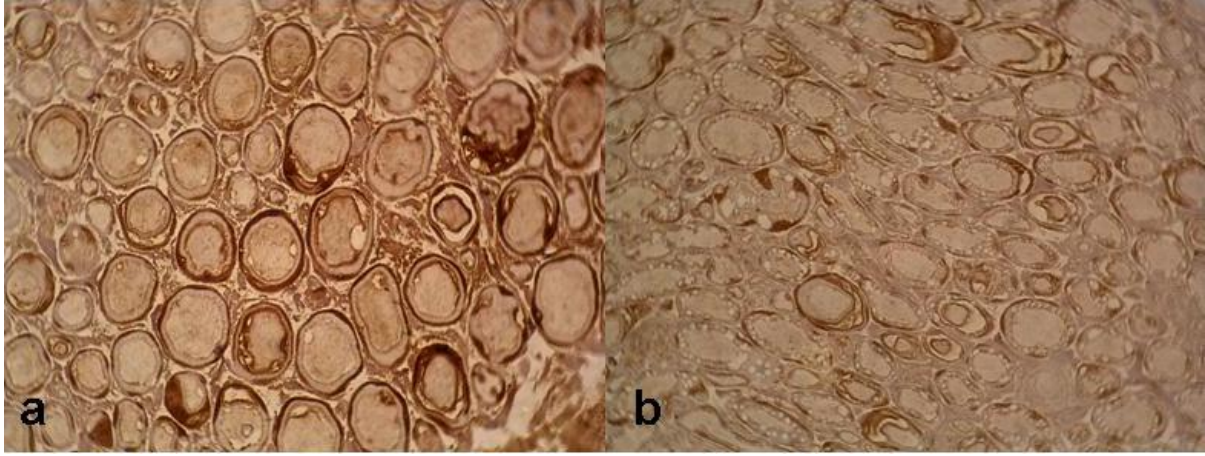
Tablo VII: Deneklerin siyatik sinir dokularında ölçülen TNF- α düzeylerinin grafik dökümü



Histolojik bulgular değerlendirildiğinde kontrol grubu olan birinci grupta toluidin boyalı yarı ince kesitlerde perikapiller ödem ve mast hücreleri, myelinsiz aksonlar ve schwann hücre bandları saptandı. Perikapiller mast hücreleri hem endonoryumun hem de perinöryumun dış bölgesinde daha sık saptandı. Bazı bölgelerde bulgular yoğun olarak izlenirken küçük büyük myelinli aksonlarda myelin konfigürasyonları daha az saptandı. Myelinin yanı sıra aksoplasmik alanlarda boşalma ve disorganizasyon izlenirken tüm myelinli aksonlarda bu bulgular belirgindi. Aynı grup preparatlara S-100 boyamalarda schmith lanterman yarıklarında paranodal aralıklarda büyük çaplı aksonlarda belirgindi. Myelinli halkalarda bozukluklarda schwann hücreleri ile orantılı belirgin olarak pozitif reaktivite gösterdi (Resim 10a&b, 11 a&b).

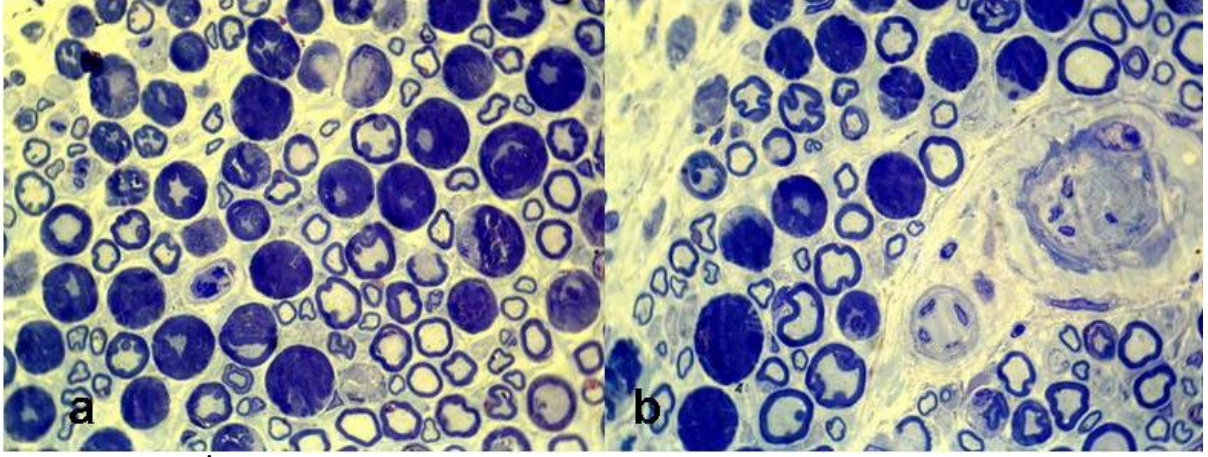


Resim 10 a&b: Birinci gruptaki deneklerin toluidin blue ile boyanan doku örnekleri (X100)

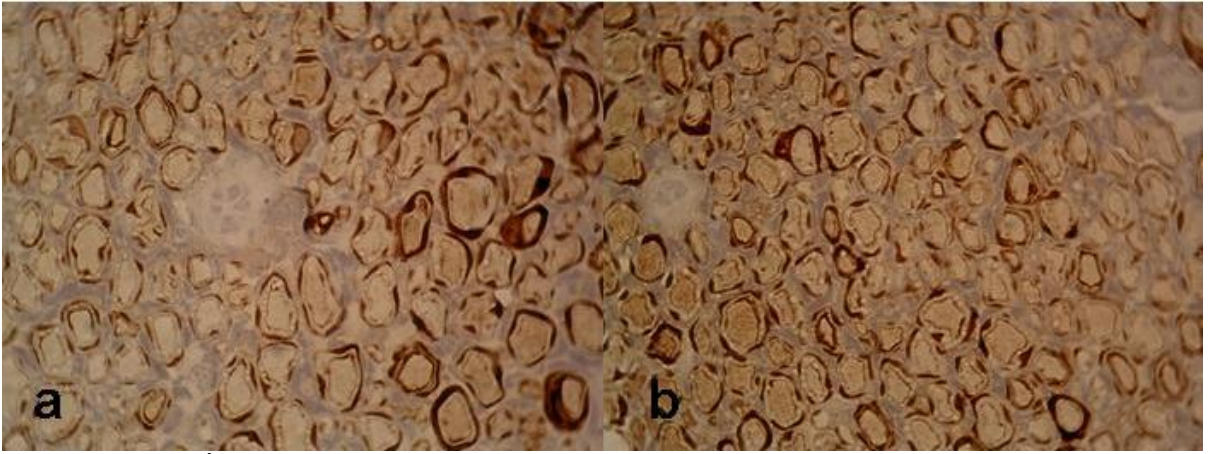


Resim 11 a&b: Birinci gruptaki deneklerin histolojik doku örnekleri (X100)

İkinci grupta histolojik incelemelerde toluidin boyalı yarı ince kesitlerde myelin, büyük çaplı olanlarda özellikle belirgin ödem, marphi cisimleri tespit edildi. Dış perinöryum ve epinöryum bölgelerinde makrofaj, marchi lameller parçalı figürasyonlar, aksoplasmik alan büyük olanlarda tamamen yok olmuş myelin lameller tamamen şişmiş olarak saptandı. S-100 boyamalarda schmith lanterman yarıklarında paranodal aralıklarda büyük çaplı aksonlarda belirgin pozitif reaktivite gösterir. Ancak büyük çaplı lamellöz ayrılmış myelin halkasında lameller arasına dağılmış pozitif immun reaktivite saptandı (Resim 12a&b, 13 a&b).

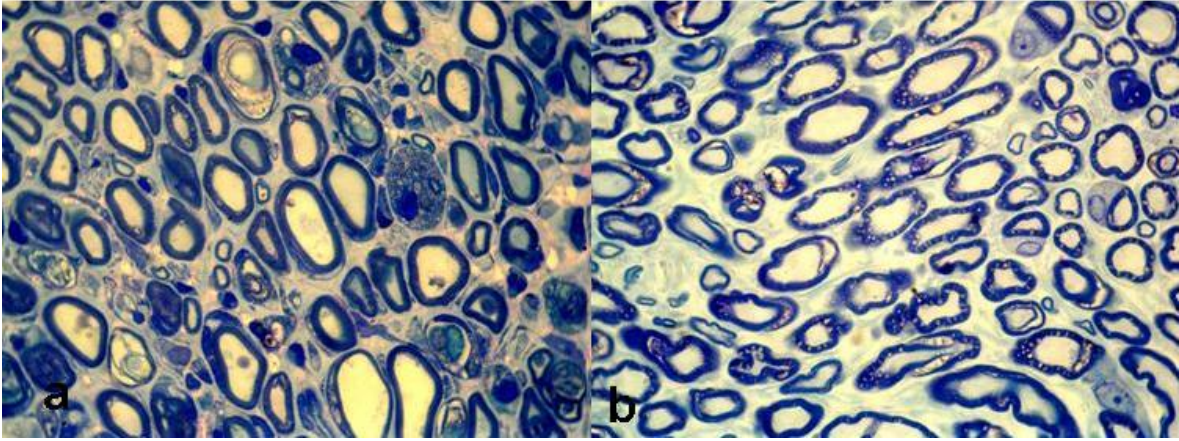


Resim 12 a&b: İkinci gruptaki deneklerin toluidin blue ile boyanan doku örnekleri (X100)

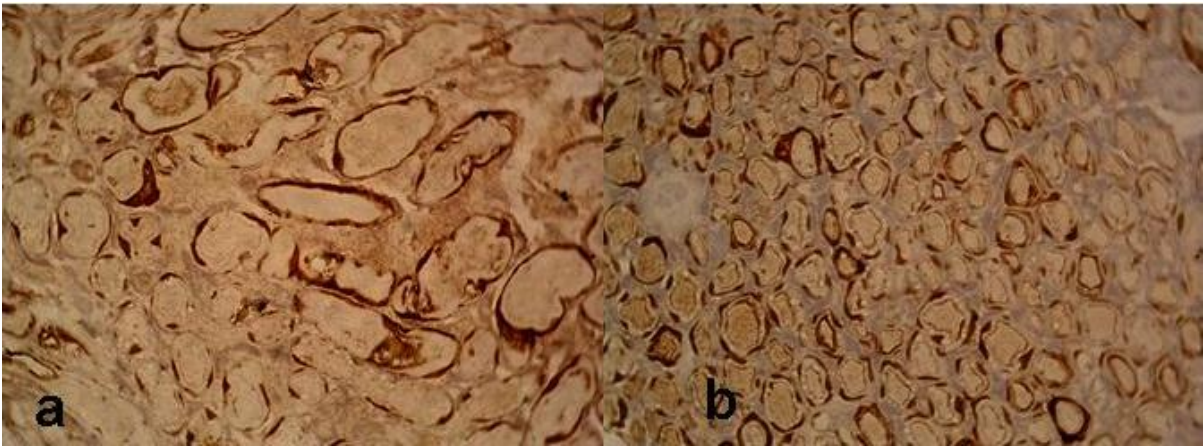


Resim 13 a&b: İkinci gruptaki deneklerin histolojik doku örnekleri (X100)

Üçüncü grupta toluidin boyalı yarı ince kesitlerde büyük myelinli aksonlarda myelin konfigürasyonları saptandı. Myelinin yanı sıra aksoplasmik alanlarda boşalma ve disorganizasyon izlenirken, küçük çaplı ince myelinli aksonlarda yer yer schwann hücre nükleuslarından geçen kesitler ile genellikle düzgün aksonlar saptandı. Myelin lameller aralarında aksonlarda rölatif sıkışıklık belirgindi. Aynı grup preparatlara S-100 boyamalarda schmith lanterman yarıklarında paranodal aralıklarda büyük çaplı aksonlarda belirgin ve myelin halkalarda pozitif reaktivite tespit edildi (Resim 14a&b, 15 a&b).

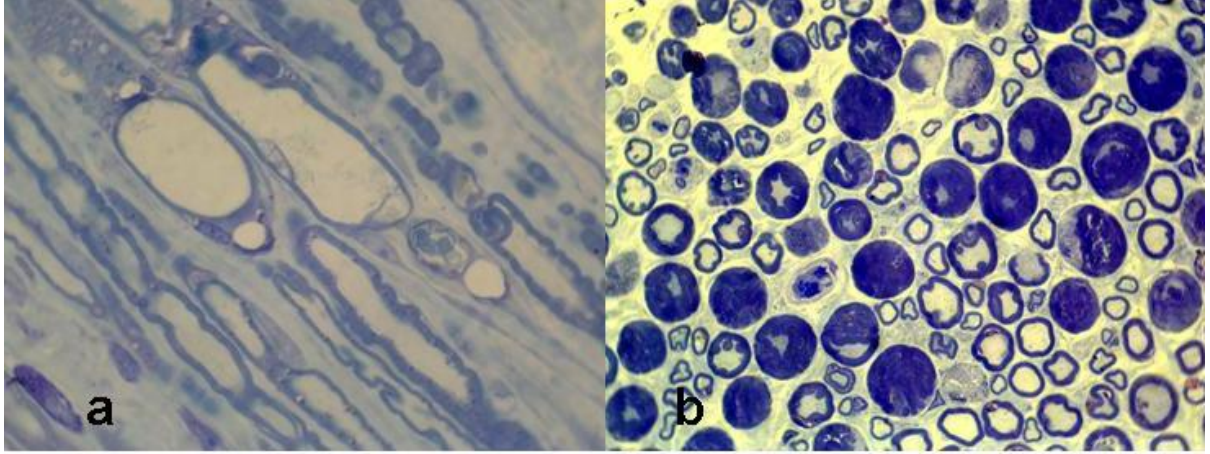


Resim 14 a&b: Üçüncü gruptaki deneklerin toluidin blue ile boyanan doku örnekleri (X100)

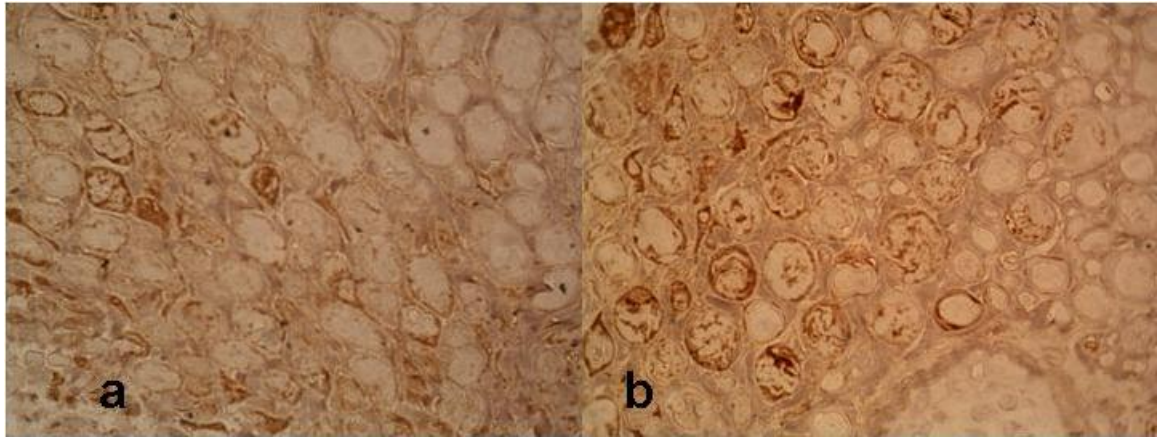


Resim 15 a&b: Üçüncü gruptaki deneklerin histolojik doku örnekleri (X100)

Dördüncü grupta toluidin boyalı yarı ince kesitlerde endonöryum mast hücresi sayısı çoktu, myelinde machi dejenerasyonu görüldü. Büyük myelinli aksonlarda aksoplazmik vakuol, schwann hücrelerinde vakuolizasyon, epinöryumda yağ dokusu aralarında mast hücreleri tespit edildi. Aksoplazmik myelin yıkım ürünleri, aksoplazmik disorganizasyon, myelin iç lameli ile akson arasında disintegrasyon, atrofik akson ve lameller yıkım görüldü. Aynı grup preparatlara S-100 boyamalarda schmith lanterman yarıklarında paranodal aralıklarda büyük çaplı aksonlarda belirgindi. Myelinli halkalarda bozuklular da schwann hücreleri ile orantılı belirgin olarak pozitif reaktivite gösterdi. Ancak myelinli halkaların düzenli seyretmesi ile pozitiflik düzenli ve az idi (Resim 16a&b, 17 a&b).



Resim 16 a&b: Üçüncü gruptaki deneklerin toluidin blue ile boyanan doku örnekleri (X100)



Resim 17 a&b: Dördüncü gruptaki deneklerin histolojik doku örnekleri (X100)

V. TARTIŞMA

Periferik sinir yaralanmalarının üçüncü en sık sebebinin kompresyon tipi yaralanmalar oluşturmaktadır. Birbirini takip eden mekanik kompresyon ve iskemi döngüsü altta yatan mekanizma olarak suçlanmakla birlikte henüz tam bir görüş birliğine varılabilmiş değildir ve bu nedenle de halen ilgili çalışmalarda kendine yer edinmektedir (5). Bizde bu çalışmada intranöral hematoma yaparak akut sinir kompresyonu modeli oluşturup memantin akut dönemdeki etkilerini incelemeyi amaçladık.

Çalışmamızda düşük doz (1 mg/kg) memantin gerek klinik, biyokimyasal ve gerekse de histolojik olarak akut sinir yaralanmasında etkili olabileceği tespit edilmiştir. Bununla birlikte yüksek doz memantin ise klinik ve biyokimyasal olarak faydalı etkiler sağlamasına rağmen bu durum histolojik olarak gösterilememiştir, hatta memantin yüksek dozda (12,5 mg/kg) sinir rejenerasyonu üzerine zararlı etkiler gösterebileceği ortaya konmuştur.

Akut sinir hasarı ile bilgiler 3500 yıl öncesine kadar dayanmaktadır (126). Toplumlarda görülen trafik kazalarının, patlamaların ve yangınların artmasına bağlı olarak daha da önemli hale gelmektedir. Diğer nedenler arasında düşmeler, cerrahi sonrası gelişenler, enjeksiyon veya radyasyon uygulamasına bağlı gelişenler ve keskin cisimle yaralanmalar olarak sayılabilir (33). Bununla birlikte kanama bozukluklarına, heparin veya warfarin gibi ilaç kullanımına veya da kendiliğinden gelişen kanamalara bağlı olarak gelişen akut sinir kompresyonu bildirilmiştir (12-14). Akut sinir yaralanmalarında tedavi şeması, kanama bozukluğu olan hastalarda, heparin veya warfarin gibi kan akışkanlığını artıran ilaç kullanan hastalarda veya da cerrahi girişime uygun olmayan ileri yaştaki debil hastalarda olduğu gibi bazen sıkıntı yaratabilmektedir. Bu hastalar ya cerrahi için iyi bir aday olamamakta veya da cerrahi için uygun hale geldiklerinde cerrahiden beklenen başarı şansı düşmektedir (14).

İnsanlarda intranöral hematoma bağlı gelişen sinir yaralanmaları genellikle travma veya kanama bozukluklarına bağlı gelişmektedir. Yakın zamanda Scopel ve arkadaşları (11) sıçanlarda otolog kan kullanarak intranöral hematoma geliştirmek suretiyle akut kompresyon

oluşturmuşlardır. Bizde çalışmamızda özellikle bu gruptaki hastaları göz önüne alarak akut bir kompresyon modeli geliştirdik.

Scopel ve ark'nın (11) çalışmasında denekler 4 gruba ayrılmış, birinci grupta hematom oluşturulmasından sonra bir şey yapılmamış denekler spontan takibe bırakılmıştır, ikinci grupta hematom oluşturulduktan sonra longitudinal epinörotomi yapılmıştır. 3. grup yalancı operasyon grubu olup sadece siyatik sinir disseksiyonu yapılmıştır. 4. grupta ise hematom oluşturulduktan hemen sonra interfasiküler nöroliz yapılmıştır. Bu çalışmada asıl amaç internal nöroliz ile longitudinal epinörotomiye karşılaştırmak olmuştur ve bu iki cerrahi işlem arasında postoperatif 1. gün haricinde istatistiksel bir fark olmadığı tespit edilmiştir (11). Yani bu çalışmada cerrahi adayı olabilecek hastalar düşülmüştür, oysa bizim çalışmamız cerrahi için uygun olamayan hastalara yönelik olarak planlanmıştır ve deneklere hematom oluşumu sonrası herhangi bir cerrahi tamir işlemi yapılmamıştır sadece düşük ve yüksek doz memantinin erken iyileşmeye olan katkısı görülmek istenmiştir.

Deney hayvanlarında ve insanlarda sinir rejenerasyonunu artırmak amacıyla şu ana kadar çeşitli nörotropik faktörlerin, steroidlerin, hormonların, çeşitli kimyasal maddelerin ve düşük frekanslı manyetik alan uygulamalarının etkinliği gösterilmeye çalışılmıştır (16-21).

Yakın zamanda Sancar (16) sıçanların siyatik sinirinde ezilme tipi yaralanma oluşturduktan sonra sinir büyüme faktörünün, betametazonun ve sinir büyüme faktörü artı betametazonun sinir rejenerasyonuna etkisini değerlendirmişleridir. Sonuç olarak da betametazon + sinir büyüme faktörünün kombine uygulamasının tek başına sinir büyüme faktörü veya tek başına betametazon uygulamasına kıyasla sinir yaralanması tedavisinde daha etkin olabileceği ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmada kombine tedavinin daha avantajlı oluşunu betametazonun antienflamatuar ve antiödematöz etkisine ve sinir büyüme faktörünün de sinir rejenerasyonunu uyarıcı etkisine bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada bu kombine tedavi grubunda 14 gün boyunca deneklere tedavi verilmiş ve 6 hafta sonra sakrifikasyon yapıp alınan doku örnekleri çalışılmıştır yani uzun dönemdeki değişiklikler görülmeye çalışılmıştır (16). Oysa bizim çalışmamızda kısa dönemdeki değişiklikler değerlendirilmiştir.

Morani ve Bodhankar (21) sıçanlarda mononöropati modelinde major bir antioksidan olan vitamin E asetatın 50 mg/kg dozunda nöron koruyucu etkilerini incelemişlerdir. Yaralanma modeli olarak kısmi siyatik sinir ligasyonu ve ezilme tipi yaralanmayı kullanmışlardır. Bu çalışmada deneklere 30 gün boyunca vitamin E asetat verilmiş ve yine uzun dönemdeki etkiler değerlendirilmiştir. Sonuç olarak bu antioksidanın

her iki tip sinir yaralanmasında da hiperaljeziyi tedavi etmede ve aynı zamanda iletim hızını artırmada ümit vaat ettiğini ileri sürmüşlerdir (21).

2009 yılında Kalender ve ark. (127) sıçanların siyatik sinirinde ezilme tipi yaralanma oluşturarak hipertansiyon ve kalp yetmezliği üzerine faydalı etkilere sahip bir antioksidan olan zofenopril'in rejenerasyon üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada deneklere 7 gün boyunca zofenopril verilmiş ancak yaralanmadan sonraki 42. günde alınan doku örneklerinde rejenerasyon incelenmiştir. Sonuç olarak bu antioksidanın sıçan modellerindeki periferik sinir yaralanmalarında rejenerasyonu artırdığını belirtmişlerdir (127).

1996 yılında Algora ve ark. (128) sıçanların siyatik sinirinde ezilme tipi sinir yaralanmasında lenfotoksinin etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada cerrahi işlem öncesi 2 doz lenfotoksin uygulaması yapılmış ve 56 gün süre ile takip yapılmıştır. Çalışma sonucunda rejenerasyonun erken evrelerinde lenfotoksinin motor fonksiyonel iyileşmeyi artırdığını bildirmişlerdir (128).

Memantin iyi tolere edilebilen düşük afiniteli yarışmasız bir NMDA antagonisti olup dünyada ve ülkemizde Alzheimer hastalığında tedavi amaçlı olarak kabul görmekte ve reçete edilmektedir (70). Memantin Alzheimer hastalığındaki klinik bozulmada orta dereceli bir azalma ile ilişkili olarak gösterilmiştir. Randomize kontrollü çalışmaların sistematik bir derlemesi memantin orta ile şiddetli Alzheimer hastalığında kognisyon, mood, davranış ve günlük aktiviteleri gerçekleştirme üzerinde küçük bir pozitif etkiye sahip olduğunu fakat hafif ila orta dereceli bir hastalıkta bilinmeyen bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (70, 82). Bununla birlikte memantin aynı zamanda jeneralize anksiyete bozukluğu, epilepsi, opioid bağımlılığı, sistemik lupus eritematozus, depresyon, obsesif kompulsif bozukluk, esansiyel tremor, Tourette sendromu, problem çözme, dikkat-eksikliği hiperkaktivite sendromu, glaukom, tinnitus, kompleks bölgesel ağrı sendromu dahil olmak üzere nöropatik ağrı, postherpetik nevralji, yaygın gelişimsel bozukluklar, HIV ilişkili demans, nistagmus, multipl skleroz, hiperamonemi indüklü ensefalopati ve akut hepatik ensefalopatide ve otizmde de denenmiş ve halen de denenmektedir (83-94).

Literatürde memantin ile kilo alma veya verme arasında bir ilişkiden bahsedilmemiş olmasına rağmen biz çalışmamızda akut dönemde de olsa deneklerin ağırlık değişimlerini sıkı sıkıya takip ettik. En fazla ağırlık değişimi ± 5 gram olarak tespit edildi. Hiçbir grupta çalışma öncesi ile çalışma sonrası denek ağırlıkları arasında istatistiksel olarak

anlamli bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$). Bu sonuç bize memantinin en azından akut dönemde kilo üzerinde bir etkisi olmadığını düşündürtmektedir.

2010 yılında Handforth ve ark. (84) bir pilot çalışmada esansiyel tremorda memaninin etkinliğini ve tolerabilitesini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada tremor üzerine memantinin ortalama etkisinin hafıf veya önemli olmadığı ancak hastaların küçük bir alt grubunda memantinin anlamlı tremor faydası sağladığı belirtilmiştir (84).

Vogels ve ark. (86) sıçan modelli çalışmalarında hiperamonemi-indüklü ensefalopati ve akut hepatik ensefalopatide memantinin etkiliği olabileceğini bildirmişlerdir. Akut hiperamonemi beyindeki NMDA tipi glutamat reseptörlerinin aktivasyonuna neden olmaktadır. Memantin bu reseptörleri bloke ederek akut karaciğer yetmezliği olan hastalarda beklenen yaşam süresini yaklaşık iki kat artırmaktadır (129).

Memantinin periferik sinir siteminde çalışılmaya başlaması yakın bir zamana dayanmaktadır. Bu sistem üzerine etkileri ile ilgili literatürde çalışmalar gerek deney hayvanları üzerinde gerekse insanlarda yapılan olmak üzere kısıtlı sayıdadır ve bu çalışmalar daha çok periferik nöropatik ağrı ve fantom ekstremit  ağrılarına yönelik yapılmıştır (69, 85, 88, 93, 120, 121, 130-133). Oysa bizim çalışmamızda amaç olarak memantinin motor iyileşmeye katkısı siyatik sinir fonksiyonel endeksi  l l rek incelenmiştir. Çalışmamızdaki siyatik sinir fonksiyonel endekslerine bakıldığında sadece hasar oluşturulan grupta SFI -18.2 olarak tespit edilmiştir. Düşük doz memantin grubunda bu değer -8,5'e çıkmıştır ve yüksek doz memantin grubunda da -2,5 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlara bakıldığında hasar oluşturulan grup ile düşük doz ve yüksek doz memantin grupları arasında ve aynı zamanda da düşük doz ile yüksek doz memantin grupları arasında istatiks l olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p<0.05$). Bu bulgulara göre memantinin düşük ve yüksek dozda akut sinir yaralamasına iyileştirici katkısı olduğunu ve düşük doz ile yüksek doz arasında da iyileşmeye katkı sağlayacak yönde bir farklılık olduğunu söyleyebiliriz.

Sang ve ark. (93) 2002 yılında ağrılı 19 tane diyabetik nöropatili ve 17 tanede postherpetik nevraljili hastada dekstrometorfan ve memantinin etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada diyabetik nöropati de memantinin ağrı yoğunluğu %16 oranında ve postherpetik nevraljide de %2 oranında azalttığı gösterilmiştir (93).

Park ve ark. (88) sıçanlarda vinkristin-indüklü periferik nöropati de memantin ve morfinin antinosiseptif etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada memantin 2.5, 5 and 10 mg/kg olmak üzere 3 farklı dozda çalışılmıştır. Burada düşük dozlardaki memantinin taktil allodini

üzerine önemli bir etkisi olmadığı ancak 10 mg/kg dozunun etkili bir şekilde mekanik çekilme eşliğini arttırdığı belirtilmiştir (88).

Hackworth ve ark. (132) yüksek doz opioidlere (yüksek doz oral metadon ve hasta-kontrollü ağrı pompasıyla intravenöz hidramorfon) ve trisiklik antidepresan, nonsteroid anti-enflamatuvar ilaç ve antiepileptik gibi ek ağrı kesici ilaçlara dirençli fantom ekstremitte ağrısına sahip 2 hastada herhangi bir yan etki görülmezsizin memantin fantom ekstremitte ağrısını azalttığını bildirmişlerdir (132).

Suzuki ve ark. (120) 2001 yılında sıçanlardaki mononöropati modelinde spinal dorsal kök nöronlarının cevabı üzerine MK-801, ketamin ve memantin etkilerini karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada 1-5-20 miligram dozlarında memantin verilmiştir. Otörler MK-801 veya ketamine kıyasla memantin allodiniyi geri döndürmede daha etkili olduğunu bildirmişlerdir ve sonuç olarak ta memantin kısmen daha iyi yan etki profili nedeniyle nöropatik ağrı tedavisinde potansiyel olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir (120).

Çalışmamızda deneklerden alınan siyatik sinir dokularında enflamatuvar süreci değerlendirmek üzere COX-2 ve TNF- α düzeyleri değerlendirilmiştir. COX-2 bilindiği üzere indüklenebilir bir enzim olup ağrı indüksiyonunda ve enflamasyonda önemli rol oynamaktadır (134). Bu enzim normal erişkin dokularında çok az miktarda bulunmaktadır ancak hasarlanma veya enflamasyon sonrası periferik ve merkezi sinir sisteminde ve monositlerde artmaktadır (97, 99, 100). Enflamasyon, ağrı, doku onarımı, ateş, inme, diyabet, ürogenital hastalıklar, Alzheimer hastalığı ve bazı kanserlerde COX-2'nin yukarı yönlü düzenlenmesi görülmektedir (101).

Paiotti ve ark. (135) 2007 yılında yaptıkları çalışmada COX-2'nin normal kolonda az miktarda eksprese edildiğini ancak kolorektal adenokarsinomda yüksek miktarda eksprese edildiğini göstermişlerdir. Yine bu çalışmada epitelial ve enflamatuvar hücrelerde COX-2 pozitifliği örneklemelerin %69'unda tespit edilmiştir. Bu nedenle otörler COX-2'nin enflamatuvar barsak hastalığı ve neoplazi gelişimindeki patofizyolojik süreçte rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir (135).

Siklooksijenaz 2'nin nöropatik ağrı patofizyolojisinde rol oynadığı çeşitli kanıt düzeylerinde gösterilmiştir. Ancak bunun etki mekanizması ve etki yeri kesin değildir. Spinal glia'nın da patolojik ağrı durumlarına aracılık ettiği bildirilmektedir. Bu amaçtan yola çıkarak Takeda ve arkadaşları sıçanlarda spinal sinir ligasyonunda sürekli intratekal veya sistemik siklooksijenaz-2 inhibitörünün nöropatik ağrı gelişimi ve devamlılığı üzerine etkisini araştırmışlardır. Cerrahi işlem sonrası 4. ve 7. günlerde mekanik allodini ve termal hiperaljezi

değerlendirilmiştir. Bu çalışmada sonuç olarak sıçanlarda spinal oksijenaz 2'nin nöropatik ağrı gelişiminde rol oynadığı ancak devamlılığında rol almadığı ve periferik siklooksijenaz-2'nin nöropatik ağrı devamlılığında rol oynadığı bildirilmiştir (136). Literatürdeki benzer çalışmalarla bu sonuçlara paralel sonuçlar bildirilmiştir (100, 102, 103, 137).

Khan ve ark. (134) 2007 yılındaki çalışmalarında insan oral mukozasındaki akut enflamasyonda COX-2 ekspresyonunun zamanla seyrini değerlendirmişlerdir. Cerrahi öncesi ile cerrahi işlem sonrası 0. dakikadaki düzeyler aynı bulunmuş ancak cerrahi sonrası 30, 60 ve 120. dakikalarda progresif bir COX-2 artışı tespit edilmiştir (134). Bu çalışmada akut enflamasyon cerrahi işlem ile üçüncü molar dişi çekilmesini ifade etmektedir. Bu çalışmada sonuç olarak insanlardaki akut enflamasyonda COX-2 indüksiyonu olduğu belirtilmiştir.

Bilindiği üzere periferik sinirlere travma sonrası hızlı rejenerasyonun takip ettiği aksonal dejenerasyon ve myelin yıkımı olarak adlandırılan bir dizi olaylar zinciri oluşmaktadır. Yaralanma sonrası hem dejeneratif hem de rejeneratif sürecin düzenlenmesinde enflamatuvar süreç ve bunun mediyatörlerinin görev aldığı bilinmektedir. Bu süreçte önemli rol oynayan enflamatuvar mediyatörlerden birisi de COX-2'dir (138).

Periferik sinirin çeşitli tiplerde yaralanmasından sonra COX-2 yukarı yönde düzenlenmekte ve makrofajlar ile Schwann hücrelerinde prostoglandin üretimi artmaktadır. Aksonal rejenerasyon sürecinde COX-2'nin yukarı yönlü düzenlenmesiyle ilgili çalışmalar rejenerasyon süreci yerine çoğunlukla nöropatik ağrı indüksiyonuna müdahil olma üzerine yoğunlaşmıştır. Bununla birlikte sinir yaralanması sonrası COX-2'nin kuvvetli bir şekilde yukarı yönlü düzenlenmesi ve aynı zamanda da proenflamatuvar sitokinler gibi enflamatuvar mediyatörleri düzenleyebilme yetisi bu enzimin aynı zamanda sinir rejenerasyonunda da önemli rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bu amaçlarla 2008 yılında Cámara-Lemarro ve arkadaşları sıçanlarda ezilme tipi yaralanma sonrası selektif bir COX-2 inhibitörü olan selekoksib fonksiyonel iyileşmeyi hızlandırıcı etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada deneklere yaralanma öncesi bir doz ve yaralanma sonrası da 7 gün boyunca günde tek doz selekoksib verilmiştir ve fonksiyonel iyileşme 0, 1, 7, 14 ve 21. günlerde siyatik sinir fonksiyonel endeksi ile değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, kontrol grubu ile kıyaslandığında özellikle 7. günde olmak üzere istatistiksel olarak anlamlı ölçüde SFI üzerine faydalı etkiler sağladığı bildirilmiştir (138). Bizim çalışmamızda da memantin SFI üzerine akut dönemde dahi faydalı etki sağlamıştır.

Bizim çalışmamızdan elde edilen sonuçlar incelendiğinde birinci grupta COX-2'nin 0.98 ng/ml olarak tespit edilmesi sıçanların siyatik sinir dokusunda COX-2'nin mevcut

olduğu anlamına gelebilir ve ikinci grupta COX-2 değerinin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yükselmesi de bunun kanıtı sayılabilir. COX-2 bilindiği gibi akut hasarlanma durumlarında artmaktadır bizim çalışmamızda da istatistiksel bir fark oluşturacak kadar yükselme göstermiştir. Üçüncü grubumuzda COX-2 değeri birinci gruba kıyasla istatistiksel olarak halen anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ancak sadece hasar oluşturduğumuz grup olan ikinci gruba göre bir miktar düşme eğilimine girmiştir. Bununla birlikte ikinci grup ile üçüncü grup arasında istatistiksel fark korunmaya devam etmiştir, bu durum düşük dozun daha az tedavi edici etkisi ile ilişkili olabilir. İkinci grup ile dördüncü grup arasında istatistiksel bir farkın olması bu düşüncemizi desteklemektedir. Birinci grup ile yüksek doz memantin grubu olan dördüncü grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamış olması daha yüksek dozda daha iyi tedavi anlamına gelebilir. Ancak farklı dozlardaki memantin grupları arasında istatistiksel bir fark olmamasının nedeni tam olarak anlaşılamamıştır.

Başta makrofajlar olmak üzere lenfoid hücreleri, mast hücreleri, endotelial hücreler, kardiyak miyositler, adipoz doku, fibroblastlar ve nöral doku dahil olmak üzere çeşitli diğer hücreler tarafından üretilen tümör nekrosis faktör alfa akut faz reaksiyonunu uyaran sitokin grubunun bir üyesidir (104-108). Bu sitokin yaklaşık olarak 100 yılı aşkın bir süre önce keşfedilmiştir ve keşfi ile birlikte de birçok çalışmada kendine yer edinmiştir. Yaklaşık 30 yıldır özellikle nöropatik ağrı ile ilgili deneylerde yoğun bir şekilde çalışılmaktadır (140). Belki de çok çeşitli hücreler tarafından üretilmesi bu sitokinin birçok çalışmada üzerinde durulmasına ve her gün yeni bir özelliğinin ortaya çıkmasına katkıda bulunmaktadır. Moldawer ve ark. (140) 1989 yılında sıçanlarda yaptıkları çalışmalarında TNF- α 'nın kırmızı kan hücrelerinin kinetiklerini etkileyerek anemiyi indüklediğini ileri sürmüşlerdir.

Yakın zamanda santral sinir sisteminde yapılan sitokin araştırmaları bir proenflamatuvar sitokin olan TNF- α 'nın etkisinin sadece topikal enflamatuvar veya otoimmün lezyonlarla sınırlı olmadığını göstermiştir. TNF- α aynı zamanda dejeneratif, metabolik, iskemik veya travmatik lezyonlarda da görev almaktadır, bu durum da yeni terapötik yaklaşımlara yol açmıştır (141). Benzer şekilde periferik sinir sisteminde TNF, Guillain-Barre sendromu, leprozi, HIV nöropati, nörobruselloz veya deneysel otoimmün nörit modeli gibi sadece enflamatuvar nöropatilerde bir mediyatör değildir (142-144). TNF- α aynı zamanda periferik sinir yaralanması sonrası Wallerian dejenerasyonu ve rejenerasyon

sürecinde de görev almaktadır. Bu durum komplet veya inkomplet siyatik sinir lezyonunda ezilme, kronik konstriksiyon yaralanması çalışmaları ile gösterilmiştir (145, 146).

Bu amaçlarla George ve ark. (145) sıçanların siyatik sinirlerinde kronik konstriksiyon yaralanması sonrası ELISA sistemi kullanarak TNF- α içeriğinin seri değerlendirilmesini araştırmışlardır. Seri inceleme travma sonrası 0, 0,5, 1, 3,7 ve 14. Günlerde yapılmıştır. Travma sonrası konsantrasyonlar hızlı bir şekilde artış göstermiş ve 12. saatte maksimum düzeye ulaşmış ve 3. güne kadar yüksek düzeyde kalmıştır ve 14. günde tekrar temel değerlere düşmüştür. Bu çalışmada sonuç olarak Wallerian dejenerasyonu ve rejenerasyonu ile sonuçlanan olaylar sürecinde TNF'nin erken bir dönemde üretildiği ileri sürülmüştür (145).

Bizim çalışmamızda TNF- α düzeyleri birinci grupta sıfıra yakın (0.09) olarak tespit edilmiştir. Sadece hasar grubumuz olan ikinci grupta bu değer 1'e yükselmiş olması anlamlıdır. Diğer gruplar arasında bir fark olmaması memantin tedavisi edici etkilerine bağlanabilir. Burada düşük ve yüksek doz arasında anlamlı bir farklılık saptanamamıştır, bu da yine aynı etkiye bağlı olabilir. Bununla birlikte literatürde bildirildiği üzere TNF- α 'nın 12. saatte pik yapması ve üçüncü günden sonra düşmeye başlamasının da bu sonuçlara katkısı olabilir.

Schwann hücreleri, periferik sinir sisteminde aksonları saran ve akson etrafında miyelin kılıfı yapan destek hücreleridir. Schwann hücreleri ve aksonlar arasındaki bu yakın ilişki, bu hücrelerin aksonlar üzerinde özel etkilere sahip olmasının bir göstergesidir. Nöron-Schwann hücresi ilişkisinin bozulması, nöronlarda ve Schwann hücrelerinde önemli değişikliklere neden olur. Wallerian dejenerasyonu adını alan bu hücresel değişiklikler, proksimal ve distal sinir segmenti sonunda meydana gelir. Sinir distalinde morfolojik değişiklikler yaralanmadan sonra ilk 3 günde meydana gelir. Fragmanlar küçülmeye ve oval bir görünüm almaya başlar. 2. günden itibaren, 4 ve 7.günler arasında en fazla olmak üzere, makrofajlar buraya ulaşır ve 15-30 gün sonra aksonal yıkıntıları hemen tamamen temizler. 3.günde Schwann hücreleri önceden akson ve miyelin kılıfla dolmuş olan alanı doldurmak için hızla mitozla bölünür. Aksoplasmik hücre iskeletinde disorganizasyon, lamellar ve veziküler yıkım ürünleri ve atrofik aksoplasma ödem kan sinir bariyerini geçen memantin ile değişip değişmediğine bakıldı. Küt travmalarda nöronal hasar glutamat salınımıyla ikincil hasarlara neden olmuştur. Çalışmamızda Schwann hücreleri S100 immünreaktivitesi farklı

olarak dağılmış olarak bulundu. Miyelinli liflerde S100 immünreaktivitesi miktarı Schwann hücre oluşturduğu miyelin kılıf kalınlığı ile doğrudan ilişkili olduğu ortaya çıktı. Miyelinsiz liflerde S100 immünreaktivitesi küçük miyelinli lifler için aynıydı. Schwann hücreleri içinde immünreaktivitesi, Ranvier bir düğüm gibi Schmidt-Lantermann yarıklarında ve paranodal döngülerde de, çekirdek ve sitoplazma perikaryal görüldü ancak miyelin kendisinde değil. Histolojik sonuç olarak N-metil-aspartat (nmda) antogonisti olan memantinin yüksek dozlarda da rejenerasyona ters oranda etki ettiği tespit edilmiştir.

Memantinin birçok farklı endikasyonda, periferik sinir sisteminde ise özellikle nöropatik ağrı çalışmalarında, denenmiş olmasına rağmen literatürde akut sinir hasarı üzerine olan etkilerini bildiren bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışma bu açıdan literatür için büyük önem arz etmektedir

VI. SONUÇ

Çalışmamızdan elde edilen verilere bakıldığında periferik sinir yaralanmasında memantinin akut dönemdeki etkinliği siyatik sinir fonksiyonel endeksi ve biyokimyasal tetkiklere göre anlamlı olarak görünmektedir. Ancak histolojik bulgulara bakıldığında yüksek dozda memantin periferik sinir rejenerasyonu üzerine negatif hatta zararlı etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte bu çalışmadan elde edilen verilerin genellenebilmesi mümkün değildir. Benzer çalışmalarla bu sonuçların tekrarlanması gerekmektedir.

VII. TÜRKÇE ÖZET

Kompresyon tipi sinir yaralanmaları sinir yaralanmalarının üçüncü en sık sebebinin oluşturmaktadır. Özellikle cerrahi girişime uygun aday olmayan hastalar periferik sinir cerrahisi kliniklerinde sorun oluşturmaktadır. Bu tip hastaların tekrar iş gücüne kazandırılması zaman ve maddi kazanç kaybına neden olmaktadır. Günümüze kadar çeşitli çalışmalarda sinir rejenerasyonunun arttırmak amacıyla nörotropik faktörler, steroidler, hormonlar ve manyetik alan uygulaması gibi çeşitli yaklaşımlar mevcuttur. Memantin dünyada ve ülkemizde Alzhemier hastalığında reçete edilmektedir ve yakın zamanda da perifeirk sinir sisteminde çalışılmaya başlanmıştır. Özellikle nöropatik ağrı ve fantom tipi ağrı çalışmalarında denenmiştir. Ancak memantinin akut sinir yaralanmasında özellikle akut dönemde etkinliğini değerlendirecek bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışmada sıçanlarda deneysel akut sinir kompresyonu oluşturulmuş ve memantinin akut dönemdeki etkinliği araştırılmıştır. Çalışma sıçanlardan oluşan 4 grupta yapıldı. Birinci grup yalancı operasyon grubu olup bunlarda sadece siyatik sinir disseksiyonu yapıldı. İkinci grupta siyatik sinir disseksiyonun ardından otolog kanla intranöral hematoma oluşturuldu. Üçüncü ve dördüncü gruplarda ise akut kompresyon oluşturulduktan sonra deneklere 7 gün boyunca parenteral yoldan düşük ve yüksek doz memantin verildi. Denekler 7. günün sonunda eğik düzlemde yürütüldü ve buradan siyatik sinir fonksiyonel endeksleri hesaplandı. Daha sonra deneklerin siyatik sinirleri alındı ve biyokimyasal incelemeye tabii tutuldu. Biyokimyasal incelemede dokuda siklooksijenaz-2 ve tümör nekrozis faktör alfa düzeyleri ölçüldü. Histolojik olarak toluidin blue ve S100 ile değerlendirme yapıldı. Sonuç olarak memantinin akut sinir yaralanmasında klinik ve biyokimyasal tetkiklere göre anlamlı bir etki sağlarken histolojik değerlendirmede yüksek dozun rejenerasyon üzerine zararlı etki oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmanın

sonuçları memantinin akut sinir hasarı üzerine etkileri hakkında bir genelleme yapılabilmesi için yeterli olmayıp daha ileri çalışmalara gereksinim mevcuttur.

VIII. ANAHTAR KELİMELER

Akut sinir yaralanması, intranöral hematom, memantin, siyatik sinir fonksiyonel endeksi, sikloksijeaz-2, tümör nekrozis faktör alfa, Toluidin mavisi, S100

IX. TEZİN İNGİLİZCE ADI

EVALUATION OF THE EFFECTS OF MEMANTIN HYDROCHLORUR IN ACUTE SCIATIC NERVE COMPRESSION MODEL IN THE RATS

X. ABSTRACT

Compression is the third most common cause of peripheral nerve injury. Patients those are not suitable for surgical approach sometimes may be problematic for clinics of peripheral nerve surgery. Regain of these patients to active work-up causes loss of time and lots of money. Until today, neurotrophic factors, steroids, hormones, and application of magnetic field have been used in various studies to increase nerve regeneration. Memantine has been prescribed especially for Alzheimer disease both in the world and our country. Recently, memantine has been begun to be studied in peripheral nerve system studies. It has been used especially in neuropathic pain and phantom type pain studies. However, it has not been studied in acute nerve injury studies for effects of acute period. In this study we evaluated the acute effects of memantine in acute nerve compression injury. This study performed in four rat groups. First group was the sham-operated group and in them only sciatic nerve dissection was performed. In the second group intraneural hematoma was been performed with otology blood taken from its tail after sciatic nerve dissection. In the third and fourth group memantine has been injected for 7 days in low and high doses parenterally after performing acute nerve compression. After 7 days, rats were been tracked at oblique plane and their sciatic nerve functional index have been calculated. After that, their sciatic nerves have been excised for biochemical evaluation. In the biochemical evaluation, cyclooxygenase-2 and tumor necrosis factor-alpha levels of tissues have been calculated. In the histological examination, tissues were examined with toluidin blue and S100 under electron microscope.

In conclusion, our clinic and biochemical findings support the positive effect of memantine hydrochloride on acute nerve injury, however in the light of the histological findings it is clear that high dose memantine has a harmful effect on regeneration in the acute period after acute nerve compression. It is not possible to make a general comment with our findings, further studies will be needed.

XI. KEY WORDS

Acute nerve injury, intraneural hematoma, memantine, sciatic nerve functional index, cyclooxygenase-2, tumor necrosis factor- α , toluidin blue, S100.

XII. KAYNAKLAR

1. Bahar SZ, Aktin E. Sinir sisteminin kısa anatomisi. Öge AE (ed). Nöroloji, 1. baskı. İstanbul: Nobel matbaacılık, 2004: 13-27.
2. Okutan Ö. Periferik sinir sisteminin anatomisi. Demircan N, Zileli M (ed.ler). Periferik sinir cerrahisi, 1. baskı. Ankara: Buluş tasarım ve matbaacılık, 2008: 7-26.
3. Benli K. Periferik sinir cerrahisinin önemi. Türk Nöroşirurji Dergisi 2005; 15 (3): 196-7.
4. Robinson LR. Traumatic injury to peripheral nerves. Muscle & Nerve 2000; 23: 863-73.
5. Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. Neurosurg Focus 2004; 16 (5): 1-7.
6. Rempel D, Dahlin L, Lundborg G. Pathophysiology of Nerve Compression Syndromes: Response of Peripheral Nerves to Loading. J Bone Joint Surg Am. 1999; 81:1600-10.
7. Fowler TJ, Danta G, Gilliat RW. Recovery of nerve conduction after a pneumatic tourniquet: observations on the hind-limb of the baboon. Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry. 1972; 35: 638-47.
8. Ochoa J, Fowler TJ, Gilliat RW. Anatomical changes in peripheral nerves compressed by a pneumatic tourniquet. J Anat 1972; 113 (3): 433-55
9. Rydevik B, Lundborg G. Permeability of intraneural microvessels and perineurium following acute, graded experimental nerve compression. Scand J Plast Reconstr Surg 1977; 11: 179-187.
10. Dyck PJ, Lais AC, Giannini C, Engelstad JK. Structural alterations of nerve during cuff compression. Proc. Natl. Acad. Sci 1990; 87: 9828-32.
11. Scopel GP, Faria JCM, Busnardo FF, Alves HRN, Orpheu SC, Ferreira MC. Experimental intraneural hematoma model in rats: evaluation of functional recovery and neural histomorphometry. Acta Ortop Bras 2007; 15 (4): 222-6.
12. Andrews FJ. Retroperitoneal haematoma after paracetamol increased anticoagulation. Emerg Med J 2002; 19: 84-5.
13. Heller AC, Kuether T, Barnwell SL, Nesbit G, Wayson KA. Spontaneous brachial plexus hemorrhage-Case report. Surg Neurol 2000; 53: 356-9.

14. Elesber AA, Kent PD, Jennings CA. Compressive neuropathy of the brachial plexus and long thoracic nerve : A rare complication of heparin anticoagulation. *Chest* 2001; 120: 309-11.
15. Frostick SP, Yin Q and Kemp GJ. Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. *Microsurgery* 1998; 18: 397-405.
16. Sancar L. Deneysel siyatik sinir yaralanmasında betametazon ve sinir büyüme faktörünün sinir rejenrasyonuna ultrastrüktürel etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Adana: Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, 2007.
17. Pagnotta A, Tos P, Fornaro M, Gigante A, Geuna S, Battiston B. Neurotrophins and their receptorsn in early axonal regeneration along muscle-vein-combined grafts. *Microsurgery* 2002; 22: 300-3.
18. Makwana M, Raivich G. Molecular mechanisms in successful peripheral regeneration. *FEBS Journal* 2005; 272: 2628-38.
19. Melcangi RC, Cavarretta IT, Ballabio M, Leonelli E, Scheone A, Azcoitia I, Magnaghi V. Peripheral nerves: a target for the action of neuroactive steroids. *Brain Research* 2005; 48 (2): 328 38.
20. Marcolino AM, Barbosa RI, Neves LMS, Vinas TS, Duarte DTB, Mazzer N, Fonseca CR. Low intensity laser (830 nm) functional to recover of the sciatic nerve in rats. *Acta Ortop Bras* 2010; 18 (4): 207-11.
21. Morani AS, Bodhankar SL. Neuroprotective effect of vitamin E acetate in models of mononeuropathy in rats. *Neuroanatomy* 2008; 7: 33-7.
22. Robinson MD, Bryant P. Peripheral nerve injuries. *Rehabilitation of the Injured Combatant Volume 2.* 419-574 ([http:// www. bordeninstitute.army.mil/published_volumes/ rehab2/ rh2ch9.pdf](http://www.bordeninstitute.army.mil/published_volumes/rehab2/rh2ch9.pdf) / 11.12.2010).
23. İmer M. Travmatik periferik sinir yaralanmaları. Aksoy K (ed). *Temel Nöroşirurji Cilt 2.* 1. baskı. Ankara: Buluş tasarım ve matbaacılık, 2005: 1251-9.
24. Myers RR, Heckman HM. Effects of local anesthetics on nerve blood flow: Studies using lidocaine with and without epinephrine. *Anesthesiology* 1989; 71: 757-62.
25. Selander D, Mansson LG, Karlsson L, Svanvik J. Adrenergic vasoconstriction in peripheral nerves of the rabbit. *Anesthesiology* 1985; 62: 6-10.

26. Blue Histology- Nervous Tissue. School of Anatomy and Human Biology. The University of Western Australia. (<http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/corepages/nervous/nervous.htm> / 24.12.2010).
27. Nervous tissue.([http:// www.mc.vanderbilt.edu/histology/labmanual2002/ labsection2/ Nervoustissue03.htm](http://www.mc.vanderbilt.edu/histology/labmanual2002/labsection2/Nervoustissue03.htm) / 24.12.2010).
28. Stoll G, Müller HW. Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. *Brain Pathology*, 1999; 9: 313-25.
29. Erkin G, Uysal H. Elektrik yaralanmasına bağlı komplikasyonlar ve rehabilitasyona etkileri. *Fiziksel Tıp* 2005; 8 (1): 51-7.
30. Mishra P, Stringer MD. Sciatic nerve injury from intramuscular injection: a persistent and global problem. *Int J Clin Pract* 2010; 64 (11): 1573–9.
31. Brown BA. Sciatic injection neuropathy. *Calif Med* 1972; 116: 13-15.
32. Khanna A, Mahajani R, Proudman T. A successful case of sural nerve cable grafting after a gunshot wound to the knees. *Med Princ Pract* 2006; 15: 87-9.
33. Secer Hİ, Solmaz İ, Anık İ, İzci Y, Düz B, Daneyemez MK, Gönül E. Surgical outcomes of the brachial plexus lesions caused by gunshot wounds in adults. *Journal of Brachial Plexus and Peripheral Nerve Injury* 2009, 4:11 (doi:10.1186/1749-7221-4-11).
34. Hollerman JJ, Fackler ML, Coldwell, Ben-Menachem. Gunshot wounds: 1. Bullets, ballistics, and mechanisms of injury. *AJR* 1990; 155: 685-90.
35. Ide M, Ide J, Yamaga M, Takagi K. Symptoms and signs of irritation of the brachial plexus in whiplash injuries. *J Bone Joint Surg [Br]* 2001; 83 (B): 226-9.
36. Buhroo AM. Observations on rehabilitation of peripheral nerve injuries in Kashmir Valley. *IJPMR* 2003; 14: 27-32.
37. AtmIlIntrout EA. Physical therapy management of patients with peripheral nerve injury, lesson 7. *Topics in Physical Therapy: Neurology*. (<http://www.hy-q.com/cooper/pdf/NCS%20Exam/Neurology%2007.pdf>/ 11.12.2010).
38. Lundborg G. Structure and function of the intraneural microvessels as related to trauma, edema formation, and nerve function. *J Bone Joint Surg Am* 1975; 57: 938-48.
39. Marchini C, Marsala SZ, Cavagna E, Ferracci F. Saturday night brachial plexus palsy. *Neurol Sci* 2007; 28: 279-81.

40. Bienek T, Kusz D, Cielinski L. Peripheral nerve compression neuropathy after fractures of the distal radius. *Journal of Hand Surgery* 2006; 31B (3): 256-60
41. Kasahara T, Toyokura M, Furuno K, Ishida A. Bilateral brachial plexus palsies due to malpositioning after burn injury. *Tokai J Exp Clin Med* 2007; 32 (1): 1-5.
42. Shebab D, Elgazzar AH, Collier BD. Heterotopic Ossification. *J Nucl Med* 2002; 43: 346-53.
43. Chan Q, Ng K, Vandervord J. Critical illness polyneuropathy in patients with major burn injuries. *Open Access Journal of Plastic Surgery* 2010; 19: 568-74
44. Djurickovic S, Meek RN, Snelling CFT, Carr NJ. A new technique for heterotopic bone resection in burned elbows. *Operative Techniques in Plastic and Reconstructive Surgery* 1997;4 (1): 49-52.
45. Ergün SS, Öztürk K, Su Ö, Gürsoy EB, Uğurad I, Yüksel G. Delayed neuropathy due to organophosphate insecticide injection in an attempt to commit suicide. *Hand* 2009; 4: 84-7.
46. Kaufman BR, Nystrom E, Nath S, Foucher G, Nystrom A. Debilitating chronic pain syndromes after presumed intraneural injections. *Pain* 2000; 85: 283-6.
47. Torg JS, Pavlov H, Genuario SE, Sennett B, Wisneski RJ, Robie BH, Jahre C. Neurapraxia of the cervical spinal cord with transient quadriplegia. *J Bone Joint Surg Am* 1986; 68: 1354-70.
48. Konczak CR. Ulnar nerve neuropraxia after extracorporeal shock wave lithotripsy: a case report. *J Can Chiropr Assoc* 2005; 49 (1): 40-5.
49. Maroon JC, El-Kadi H, Abla AA, Wecht DA, Bost J, Norwig J, Bream T. Cervical neurapraxia in elite athletes: evaluation and surgical treatment: Report of five cases. *J Neurosurg Spine* 2007; 6: 356-63.
50. Seoighe DM, Bakerb JF, Mulhallb KJ. Surgical trainees neuropraxia? An unusual case of compression of the lateral cutaneous nerve of the forearm. *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research* 2010; 96: 603-5.
51. Evans GRD. Peripheral nerve injury: A review and approach to tissue engineered constructs. *The Anatomical Record* 2001; 263: 396-404.
52. Sobral LL, Oliveira LS, Takeda SYM, Somazz MC, Montebelo MIL, Teodori RM. Immediate versus later exercises for rat sciatic nerve regeneration after axonotmesis: histomorphometric and functional analyses. *Rev Bras Fisioter* 2008; 12 (4): 311-6.

53. de Abreu LB. Upper extremity nerve lesions (diagnosis, indications, surgical techniques). *São Paulo Medical Journal/RPM* 1997; 115 (4): 1495-507.
54. Seddon HJ. A classification of nerve injuries. *British Medical Journal*. 1942; 239: 4260-2.
55. Edwards C. Diagnosis of the common forms of nerve injury of the extremities. *Post-Graduate Medical Journal* 1946; 255-61.
56. Leis AA, Lancon JA, Stokic DS. Retrograde regeneration following neurotmesis of the ulnar nerve. *Muscle&Nerve* 2003; 28: 512-4.
57. van Nispen FCM, Dijkstra PU, Geertzen JHB, Groothoff JW, Eisma WH. Ulnar nerve lesions: functional outcome after five years. *Clinical Rehabilitation* 2000; 14: 325-9.
58. Kimura J. Principles and Pitfalls of Nerve Conduction Studies. *Ann Neurol* 1984; 16 (4): 415-29.
59. Lopachin RM, Lehning EJ. Mechanism of Calcium Entry during Axon Injury and Degeneration. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1997; 143: 233-44.
60. Quan D, Bird SJ. Nerve conduction studies and electromyography in the evaluation of peripheral nerve injuries. *The University of Pennsylvania Orthopaedic Journal* 1999; 12: 45-51.
61. Hirata K, Kawabuchi M. Myelin phagocytosis by macrophages and nonmacrophages during wallerian degeneration. *Microscopy Research and Technique* 2002; 57: 541-7.
62. Ansselin AD, Fink T, Davey DF. An alternative to nerve grafts in peripheral nerve repair: Nerve guides seeded with adult Schwann cells. *Acta Chirurgica Austriaca* 1998; 30 (Supplement 147): 19-24.
63. Mirajullah M, Xinya S. Schwann cells: Leader of nervenkitt. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2002; 14 (1): 30-3.
64. Zochodne DW. The microenvironment of injured and regenerating peripheral nerves. *Muscle Nerve Supplement*, 2000; 9: 33-38
65. Stoll G, Jander S, Myers RR. Degeneration and regeneration of the peripheral nervous system: from Augustus Waller's observations to neuroinflammation. *Journal of the Peripheral Nervous System* 2002; 7: 13-27.
66. Merrington WR, Nathan PW. A study of post-ischemic paresthesia. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1949; 12 (1): 1-18.
67. Olsson Y. Studies on vascular permeability in peripheral nerves. *Acta Neuropathologica* 1966; 7: 1- 15.

68. Weisl H, Osborne GV. The pathological changes in rat's nerves subject to moderate compression. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 1964; 46B (2): 297-306.
69. Schley M, Topfner S, Wiech K, Schaller HE, Konrad CJ, Schmelz M, Birbaumer N. Continuous brachial plexus blockade in combination with the NMDA receptor antagonist memantine prevents phantom pain in acute traumatic upper limb amputees. *European Journal of Pain* 2007; 11: 299-308.
70. Sastre A, McShane R, Sherriff F. Memantine for dementia. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2004, Issue 4. Art. No.:CD003154.pub2. DOI: 10.1002/14651858.CD003154.pub2.
71. Parsons CG, Danysz W, Quack G. Memantine is a clinically well tolerated *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist—a review of preclinical data. *Neuropharmacology* 1999; 38: 735-67
72. Seeman P, Caruso C, Lasaga M. Memantine agonist action at dopamine D2^{High} receptors. *Synapse* 2008; 62: 149-53
73. Gomolin IH, Smith C, Jeitner TM. Once-daily memantine: Pharmacokinetic and clinical considerations. *JAGS* 2010; 58 (9):1812-3.
74. Rogawski MA, Wenk GL. The neuropharmacological basis for the use of memantine in the treatment of Alzheimer's disease. *CNS Drug Reviews* 2003; 9 (3): 275-308.
75. Chen H-S V, Pellegrini JW, Aggarwal SK, Lei SZ, Warach S, Jensen FE, Lipton SA. Open-channel block of N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) responses by memantine: Therapeutic advantage against NMDA receptor-mediated neurotoxicity. *The Journal of Neuroscience* 1992; 72 (11): 4427-36.
76. Chen H-S V, Lipton SA. Mechanism of memantine block of NMDA-activated channels in rat retinal ganglion cells: uncompetitive antagonism. *Journal of Physiology* 1997; 499: 27-46.
77. Rammes G, Rupprecht R, Ferrari U, Zieglgänsberger W, Parsons CG. The N-methyl-D-aspartate receptor channel blockers memantine, MRZ 2/579 and other amino-alkyl-cyclohexanes antagonise 5-HT₃ receptor currents in cultured HEK-293 and N1E-115 cell systems in a non-competitive manner. *Neuroscience Letters* 2001; 306: 81-4.
78. Chen H-S V, Lipton SA. The chemical biology of clinically tolerated NMDA receptor antagonists. *Journal of Neurochemistry* 2006; 97: 1611-26.
79. Buisson B, Bertrand D. Open-channel blockers at the human $\alpha 4\beta 2$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Molecular Pharmacology* 1998; 53: 555-63.

- 80.** Aracava Y, Pereira EFR, Maelicke A, Albuquerque EX. Memantine Blocks $\alpha 7^*$ Nicotinic Acetylcholine Receptors More Potently Than *N*-Methyl-D-aspartate Receptors in Rat Hippocampal Neurons. *JPET* 2005; 312: 1195-205.
- 81.** Gotti C, Clementi F. Neuronal nicotinic receptors: from structure to pathology. *Progress in Neurobiology* 2004; 74: 363-96.
- 82.** Geter-Douglas B, Witkin JM. Behavioral effects and anticonvulsant efficacies of low-affinity, uncompetitive NMDA antagonists in mice. *Psychopharmacology* 1999; 146: 280-9.
- 83.** Koçer A, Koçer E, Canan F, Çağrıç S. Memantin Responsive Behçet's disease with initial onset severe cognitive decline. *Eur J Gen Med* 2007; 4 (3): 138-40.
- 84.** Handforth A, Bordelon Y, Frucht J, Quesada A. Pilot efficacy and tolerability trial of memantine for essential tremor. *Clinical Neuropharmacology* 2010; 33 (5): 223-6.
- 85.** Buvanendran A, Kroin JS. Early use of memantine for neuropathic pain. *Anesthesia & Analgesia* 2008; 107 (4): 1093-4.
- 86.** Vogels BAPM, Maas MAW, Daalhuisen JD, Quack G, Chamuleau RAFM. Memantine, a noncompetitive NMDA receptor antagonist improves hyperammonemia-induced Encephalopathy and Acute Hepatic Encephalopathy in Rats. *Hepatology* 1997; 25 (4): 820-7.
- 87.** Harvey BH, Bothma T, Nel A, Wegener G, Stein DJ. Involvement of the NMDA receptor, NO-cyclic GMP and nuclear factor K- β in an animal model of repeated trauma. *Hum Psychopharmacol Clin Exp* 2005; 20: 367-73.
- 88.** Park BY, Park SH, Kim WM, Yoon MH, Lee HG. Antinociceptive effect of memantine and morphine on vincristine-induced peripheral neuropathy in rats. *Korean J Pain* 2010; 23 (3): 179-85.
- 89.** Chipana C, Camarasa J, Pubill D, Escubedo E. Memantine prevents MDMA-induced neurotoxicity. *NeuroToxicology* 2008; 29: 179-83.
- 90.** Johansson C, Ballard C, Hansson O, Palmqvist S, Minthon L, Aarsland D, Londos E. Efficacy of memantine in PDD and DLB: an extension study including washout and open-label treatment. *Int J Geriatr Psychiatry* 2010, n/a. doi: 10.1002/gps.2516
- 91.** Teng CT, Demetrio FN. Memantine may acutely improve cognition and have a mood stabilizing effect in treatment-resistant bipolar disorder. *Rev Bras Psiquiatr* 2006; 28 (3): 251-6.

92. Cankurtaran EŞ, Özalp E, Soygur H, Çakır A. Clinical experience with risperidone and memantine in the treatment of Huntington's disease. *Journal Of The National Medical Association* 2006; 98 (8): 1353-5.
93. Sang CN, Booher S, Gilron I, Parada S, Max MB. Dextromethorphan and memantine in painful diabetic neuropathy and postherpetic neuralgia: Efficacy and Dose–Response Trials. *Anesthesiology* 2002; 96: 1053–61.
94. Schifitto G, Navia BA, Yiannoutsos CT, Marra CM, Chang L, Ernst T, Jarvik JG, Miller EN, Singer EJ, Ellis RJ, Kolson DL, Simpson D, Nath A, Berger J, Shriver SL, Millar LL, Colquhoun D, Lenkinski R, Gonzalez RG, Lipton SA, The Adult AIDS Clinical Trial Group (ACTG) 301 and 700 Teams and the HIV MRS Consortium. Memantine and HIV-associated cognitive impairment: a neuropsychological and proton magnetic resonance spectroscopy study. *AIDS* 2007, 21: 1877-86.
95. FDA-Approved Treatments for Alzheimer's
http://www.alz.org/national/documents/topicsheet_treatments.pdf/ 09.12.2010.
96. Alzant 10 mg film tablet ilaç prospektüs bilgisi.
http://www.bilimilac.com.tr/prospektus/alzant_tablet_10mg.pdf/ 11.12.2010
97. Egan CG, Lockhart JC, McLean JS, Ferrell WR. Expression of constitutive but not inducible cyclooxygenase maintains articular perfusion in the rat knee. *Exp Physiol* 2010; 86 (2): 191-77.
98. Gren GA. Understanding NSAIDs: from aspirin to COX-2. *Clin Cornerstone* 2001; 3 (5): 50-9.
99. Jackson LM, Wu KC, Mahida YR, Jenkins D, Hawkey CJ. Cyclooxygenase (COX) 1 and 2 in normal, inflamed, and ulcerated human gastric mucosa. *Gut* 2000; 47: 762-70.
100. Schäfers M, Marziniak M, Sorkin LS, Yaksh TL, Sommer C. Cyclooxygenase inhibition in nerve-injury- and TNF-induced hyperalgesia in the rat. *Experimental Neurology* 2004; 185: 160-8.
101. Turini ME, DuBois RN. Cyclooxygenase-2: A therapeutic target. *Annu. Rev. Med.* 2002; 53: 35-57.
102. Ma W, Du W; Eisnach JC. Role for both spinal cord COX-1 and COX-2 in maintenance of mechanical hypersensitivity following peripheral nerve injury. *Brain Research* 2002; 937: 94-9.

103. Ma W, Chabot J-G, Vercauteren F, Quirion R. Injured nerve-derived COX2/PGE2 contributes to the maintenance of neuropathic pain in aged rats. *Neurobiology of Aging* xxx (2008) xxx-xxx. (doi:10.1016/j.neurobiolaging.2008.08.002).
104. Beutler B, Cerami A. Uncovering the dark side of TNF. *JEM* 2007; 204 (9): 2013.
105. Locksey RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: Integrating mammalian biology. *Cell* 2001; 104: 487-501
106. Sullivan KE. TNF and TNF α Inhibitors: Mechanisms of action. *Pediatric Rheumatology Online Journal* 2004; 2 (1): 7-22.
107. Dayer J-M, Beutler B, Cerami A. Cachectin/Tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostoglandin E2 production by human synovial cells and dermal fibroblasts. *J Exp Med* 1985; 162: 2163-8.
108. Kumar V, Cotran R, Robbins SL. Basic pathology. [Türkçe çevirisi, Çevikbaş U (çeviri ed.)] 6. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri: 25-46
109. Kettlhut IS, Goldberg AL. Tumor necrosis factor can induce fever in rats without activating protein breakdown in muscle or lipolysis in adipose tissue. *J. Clin. Invest* 1998; 81: 1384-9.
110. Brenner DA, Buck M, Feitelberg SP, Chojkier M. Tumor necrosis factor- α inhibits albumin gene expression in a murine model of cachexia. *J. Clin. Invest* 1990; 85: 248-55.
111. Moldawer LL, Marano MA, Wei H, Fong Y, Silen ML, Kuo G, Manogue KR, Vlassara H, Cohen H, Cerami A, Lowry SF. Cachectin/tumor necrosis factor- α alters red blood cell kinetics and induces anemia in vivo. *The FASEB Journal* 1989; 3: 1637-43.
112. Ismail N, Soong L, McBride JW, Valbuena G, Olano JP, Fenf H-M, Walker DH. Overproduction of TNF- α by CD8⁺ type 1 cells and down-regulation of IFN- γ production by CD4⁺ Th1 cells contribute to toxic shock-like syndrome in an animal model of fatal monocytotropic ehrlichiosis. *J Immunol* 2004; 172: 1786-800.
113. Toluidine Blue ([http:// education.vetmed.vt.edu/ curriculum/VM8054/ Labs/ Lab2 Examples/ extolblu.htm](http://education.vetmed.vt.edu/curriculum/VM8054/Labs/Lab2/Examples/extolblu.htm) / 06.01.2011)

114. Green FJ. The Sigma-Aldrich Handbook of Stains, Dyes and Indicators. Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wisconsin, 1990.
115. Horobin RW, Kiernan JA, Eds. Conn's Biological Stains. A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine. 10th ed. BIOS, Oxford, 2002.
116. Marenholz I, Heizmann CW, Fritz G. "S100 proteins in mouse and man: from evolution to function and pathology (including an update of the nomenclature)". Biochem. Biophys. Res. Commun. 2004; 322 (4): 1111–22.
117. Donato R. "Intracellular and extracellular roles of S100 proteins". Microsc. Res. Tech. 2003; 60 (6): 540–51.
118. Nonaka D, Chiriboga L, Rubin BP. "Differential expression of S100 protein subtypes in malignant melanoma, and benign and malignant peripheral nerve sheath tumors". J. Cutan. Pathol. 2008; 35 (11): 1014–9.
119. Wolf R, Ruzicka T, Yuspa SH. "Novel S100A7 (psoriasin)/S100A15 (koebnerisin) subfamily: highly homologous but distinct in regulation and function". Amino Acids. 2010. (doi:10.1007/s00726-010-0666-4).
120. Suzuki R, Matthews EA, Dickenson AH. Comparison of the effects of MK-801, ketamine and memantine on responses of spinal dorsal horn neurones in rat model of mononeuropathy. Pain 2001; 91: 101-9.
121. Chen S-R, Somoriski G, Pan H-L. Antinociceptive effects of chronic administration of uncompetitive NMDA receptor antagonists in a rat model of diabetic neuropathic pain. Neuropharmacology 2009; 57 (2): 121-6.
122. Omura T, Sano M, Omura K, Hasegawa T, Nagano A. A mild acute compression induces neuropraxia in rat sciatic nerve. Intern J Neuroscience 2004; 114: 1561-72.
123. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice of histotechnology. 2nd. ed. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980, 481.
124. Herkenham M. Molecular Neuroanatomy. F. W. Van Leeuwen FW, Buijs RM, Pool CW, Pach O (eds). Elsevier Science Publishers, New York. 1988; 111-120.
125. Köktürk İ. Elektron mikroskop ve genel araştırma metodları. İzmir, Bornova Ege üniversitesi matbaası, 1967; 53-54, 68-69, 108-113, 115-116.
126. Sharon I. Fishfeld CI. Acute nerve injury. (<http://emedicine.medscape.com/article/249621-overview/11.12.2010>).

127. Kalender AM, Doğan A, Bakan V, Yıldız H, Gökalp 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. (doi:10.1186/1749-7221-4-6)
128. Algora J, Chen L-E, Seaber AV, Wong GHW, Urbaniak JR. Functional effects of lymphotoxin on crushed peripheral nerve. *Microsurgery* 1996; 17: 131-5.
129. Rodrigo R, Cauli O, Boix J, ElMili N, Agusti A, Felipe V. Role of NMDA receptors in acute liver failure and ammonia toxicity: therapeutic implications. *Neurochemistry International* 2009; 55: 113-8.
130. Wiech K, Kiefer R-T, Töpfner S, Preissl H, Braun C, Unertl K, Flor H, Birbaumer N. Placebo-controlled randomized crossover trial of the N-methyl-D-Aspartic Acid receptor antagonist, memantine, in patients with chronic phantom limb pain. *Anesth Analg* 2004; 98: 408-13.
131. Nikolajsen L, Gottrup H, Kristensen AGD, Jensen TS. Memantine (a N-Methyl-D-Aspartate Receptor Antagonist) in the treatment of neuropathic pain after amputation or surgery: a randomized, double-blinded, cross-over study. *Anesth Analg* 2009; 91: 960-6.
132. Hackworth RJ, Tokarz KA, Fowler IM, Wallace SC, Stedje-Larsen ET. Profound pain reduction after induction of memantine treatment in two patients with severe phantom limb pain. *Anesth Analg* 2008; 107: 1377-9.
133. Chaplan SR, Malmberg AB, Yaksh TL. Efficacy of spinal NMDA receptor antagonism in formalin hyperalgesia and nerve injury evoked allodynia in the rat. *JPET* 1997; 280: 829-38.
134. Khan AA, Iadarola M, Yang H-Y T, Dionne RA. Expression of COX-1 and COX-2 in a clinical model of acute inflammation. *J Pain* 2007; 8 (4): 349-54.
135. Paiotti APR, Neto RA, Forones NM, Oshima CTF, MiszputenSJ, Franco M. Immunoreexpression of cyclooxygenase-1 and -2 in ulcerative colitis. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40 (7): 911-8.
136. Takeda K, Sawamura S, Tamai H, Sekiyama H, Hanaoka K. Role for cyclooxygenase 2 in the development and maintenance of neuropathic pain and spinal glial activation. *Anesthesiology* 2005; 103: 837-44.
137. Zhao Z, Chen SR, Eisenach JC, Busija DW, Pan HL. Spinal cyclooxygenase-2 is involved in development of allodynia after nerve injury in rats. *Neuroscience* 2000; 97 (4): 743-8.

138. Cámara-Lemarroy CR, la Garza FG-de, Barrera-Oranday EA, Cabello-García AJ, García-Tamez A, Fernández-Garza NE. Celecoxib accelerates functional recovery after sciatic nerve crush in the rat. *Journal of Brachial Plexus and Peripheral Nerve Injury* 2008; 3 (25). (doi:10.1186/1749-7221-3-25).
139. Leug L, Cahill CM. TNF- α and neuropathic pain- a review. *Journal of Neuroinflammation* 2007; 7 (27): (<http://www.jneuroinflammation.com/content/7/1/27> / 11.12.2010)
140. Moldawer LL, Marano MA, Wei H, Fong Y, Silen ML, Kuo G, Manogue KR, Vlassara H, Cohen H, Cerami A, Lowry S. Cachectin/tumor necrosis factor- α alters red blood cell kinetics and induces anemia in vivo. *FASEB J* 1989; 3: 1637-43.
141. Probert L, Selmaj K. TNF and related molecules: Trends in neuroscience and clinical applications. *J. Neuroimmunol.* 1997; 72: 113-7.
142. Sharief MK, McLean B, Thompson EJ. Elevated serum levels of TNF in Guillain-Barre-Syndrome. *Ann. Neurol.* 1993; 33: 591-6.
143. Khanolkar-Young S, Rayment N, Brickell PM, Katz DR, Vinayakumar S, Colston MJ, Lockwood DNJ. Tumour necrosis factor-alpha synthesis is associated with the skin and peripheral nerve pathology of leprosy reversal reactions. *Clin.Exp. Immunol.* 1995; 99: 196-202.
144. Zhu J, Bai XF, Mix E, Link H. 1997. Cytokine dichotomy in peripheral nervous system influences the outcome of experimental allergic neuritis: Dynamics of mRNA expression for IL-1 beta, IL-6, IL-10, IL-12, TNF-alpha, TNF-beta, and cytolysin. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1997; 84: 85-94.
145. George A, Schmidt C, Weishaupt A, Toyka KV, Sommer C. Serial determination of tumor necrosis factor-alpha content in rat sciatic nerve after chronic constriction injury. *Experimental Neurology* 1999; 160: 124-32.
146. La Fleur M, Underwood JL, Rappolee DA, Werb Z. Basement membrane and repair of injury to peripheral nerve: Defining a potential role for macrophages, matrix metalloproteinases, and tissue inhibitor of metalloproteinases-1. *J. Exp. Med.* 1996; 184: 2311-26.