

T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK ve REKONSTRÜKTİF CERRAHİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL SİYATİK SİNİR ONARIMINI TAKİBEN REJENERASYON ÜZERİNE
PİNEALEKTOMİ ve MELATONİNİN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Bekir ATİK

Tez Danışmanı: Yrd.Doç. Dr. Mehmet BEKERECİOĞLU

Gaziantep – 2002

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK ve REKONSTRÜKTİF CERRAHİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL SİYATİK SİNİR ONARIMINI TAKİBEN REJENERASYON ÜZERİNE
PİNEALEKTOMİ ve MELATONİNİN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Bekir ATİK

Tez Danışmanı: Yrd.Doç. Dr. Mehmet BEKERECİOĞLU

Gaziantep – 2002

ÖNSÖZ

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalında uzmanlık eğitimim sırasında bana destek veren ve ilgisini esirgemeyerek eğitimime büyük katkıda bulunan hocam ve tez danışmanım sayın Yrd.Doç Dr. Mehmet Bekerecioğlu'na, kısa sürede olsa çalışma fırsatı bulmaktan gurur duyduğum sevgili hocalarım Doç.Dr. Mehmet Mutaf ve Yrd.Doç.Dr. Mustafa Tercan'a, Anabilim Dalımızdaki çalışma arkadaşlarıma, nörofizyoloji ve histopatoloji çalışmalarında yardımını esirgemeyen sayın Doç.Dr.Mustafa Yılmaz'a ve sayın Prof Dr. İbrahim Sarı' ya deneysel çalışmalarında bana yardımcı olan başta Beyhan Cengiz olmak üzere Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi çalışanlarına, eğitimim süresince bütün sıkıntılara ortak olan ve bana sabırla tahammül eden eşim Nuran Atik'e, evlatları olmaktan dolayı bahtiyar olduğum anne ve babama teşekkür eder, saygı ve şükranlarımı sunarım.

KISALTMALAR

BKAP	Birleşik kas aksiyon potansiyeli
NO	Nitröz oksit
SOR	Serbest oksijen radikalleri
M	Melatonin
P	Pinealektomi
K	Kontrol
DBU	Deneysel baskı uzunluğu
DPA	Deneysel parmak ayrıklığı
DOA	Deneysel orta parmak ayrıklığı
NBU	Normal baskı uzunluğu
NPA	Normal parmak ayrıklığı
NOA	Normal orta parmak ayrıklığı
BUF	Baskı uzunluğu faktörü
PAF	Parmak ayrıklığı faktörü
OAF	Orta parmak ayrıklığı faktörü
SFİ	Siyatik fonksiyonel indeks

RESİM, TABLO VE GRAFİKLER

Resim 1 Motor nöronun şematik resmi	4
Resim 2 Periferik sinir gövdesi	5
Resim 3 Periferik sinir yaralanmaları	11
Resim 4 Pineal bezin insanda yerleşimi ve melatoninin fizyolojik sekresyonu	18
Resim 5 Pineal bezin histolojik görünümü	18
Resim 6 Melatoninin sentez aşamaları	19
Resim 7 Pinealektomi standart hazırlık	27
Resim 8 Transvers ve sagittal suturaların ortaya konması	28
Resim 9 Kemik halkanın çıkarılıp sinüslerin ortaya konması	28
Resim 10 Süperior sagittal sinüsün anteriora çekilmesi	29
Resim 11 Pineal bezin dışarı alınması	29
Resim 12 Siyatik sinir cerrahi teknik	30
Resim 13 Medtronic Keypoint EMG Cihazı	32
Resim 14 Normal BKAP ölçümü	32
Resim 15 Yürüme şablonu	33
Resim 16 Normal siyatik sinir histolojisi	42
Resim 17 Pinealektomi grubu denek 5 histopatolojik görüntü	42
Resim 18 Kontrol grubu denek 5 histopatolojik görüntü	43
Resim 19 Melatonin grubu denek 5 histopatolojik görüntü	43
Resim 20 Pinealektomi grubu denek 1 histopatolojik görüntü	44
Resim 21 Kontrol grubu denek 1 histopatolojik görüntü	44
Resim 22 Melatonin grubu denek 1 histopatolojik görüntü	45
Tablo 1 Elektrofizyolojik sonuçlar	36
Tablo 2 Grup I' e ait elektrofizyolojik sonuçlar	37
Tablo 3 Grup II' e ait elektrofizyolojik sonuçlar	38
Tablo 4 Grup III' e ait elektrofizyolojik sonuçlar	39
Tablo 5 Elektrofizyolojik sonuçların istatistiksel analizi	40
Tablo 6 Yürüme analizi sonuçları	41
Tablo 7 SFİ sonuçlarının istatistiksel analizi	41

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
KISALTMALAR	ii
RESİM TABLO VE GRAFİKLER	iii
İÇİNDEKİLER	iv
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.TARİHÇE	3
2.2.PERİFERİK SİNİR ANATOMİSİ	4
2.3. PERİFERİK SİNİR YARALANMALARI	10
2.4. PERİFERİK SİNİR REJENERASYONU	14
2.5. BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE SPESİFİK PROTEİNLER	15
2.6. HÜCRE ADAZYON MOLEKÜLLERİ	15
2.7. EXTRASELLÜLER MATRİX MOLEKÜLLERİ	16
2.8.NÖRONAL OLMAYAN HÜCRE ve MOLEKÜLLER	16
2.9. MELATONİN	16
3.MATERYAL VE METOD	26
3.1.HAZIRLIK	26
3.2.CERRAHİ TEKNİK	26
3.3.GRUPLAR	31
3.4.DEĞERLENDİRME	31
3.5.İSTATİSTİK YÖNTEMİ	35
4.BULGULAR	36
4.1.ELEKTROFİZYOLOJİK BULGULAR	36
4.2.İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	39
4.3 FONKSİYONEL İNCELEME	40
4.4.HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	42
5.TARTIŞMA	46
6.SONUÇ	51
7.ÖZET	52
8.SUMMARY	54
9.KAYNAKLAR	56

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Periferik sinirler, canlılarda duyu ve motor fonksiyonların oluşmasında görev alan en önemli yapılardır. Periferik sinirlerde oluşabilecek hasarlar, bu fonksiyonların kısmen veya tam olarak ortadan kalkması ile sonuçlanır.

Standart şartlarda yapılan cerrahi onarımlara rağmen, çoğu zaman tam bir fonksiyonel iyileşme elde edilemez. Bu sıkıntının önlenmesi konusunda bir çok cerrahi teknik denenmesine karşın (1-6), onarılmış periferik sinirin rejenerasyonuna etki edebilecek ilaç ve/veya çeşitli maddelerle yapılmış çalışmalar çok azdır (7-9).

Periferik sinirin rejenerasyonunu ve klinik sonuçlarını etkileyen çeşitli nedenler vardır. Onarım hattında oluşan iskemi ve devamındaki inflamatuvar süreçte, yaralanma bölgesinde başta serbest oksijen radikalleri (SOR) olmak üzere toksik etkili bir çok ajan birikir (10-13). Sonuçta membran permeabilitesi bozulur ve hücre içine kalsiyum akışı başlar. Hücre içinde kalsiyum iyonunun artması proteolitik enzimleri aktive ederek, nörofilament ve mikrotübülleri de kapsayan hücre yapı taşlarının yıkımına neden olur (14,15). Kalsiyum kanal blokerleriyle yapılan çalışmalarda bu olumsuz etkiler kısmen azaltılmıştır (14-17).

Yaralanmış olan periferik sinirin rejenerasyonunu ve klinik sonuçları etkileyen olaylardan biride, yara iyileşmesinin kaçınılmaz sonucu olarak kontrol dışı gelişen, onarım alanındaki skar oluşumudur (18). Rejenerasyon süreci içinde onarım yapılmış sinirin proksimal ve distal uçları arasında skar oluşumu, aksonun ileriye doğru büyümesini fiziksel olarak engeller ve sinir büyüme konisinin dallanmasına, ayrılmasına, geriye dönmesine veya sonlanmasına neden olur (2).

Melatonin pineal bezden salgılanan bir hormondur. Günümüzde, melatoninin, sirkadian ritimler, uyku, ruhsal durum, üreme, tümör gelişimi ve yaşlanma gibi birçok olayın biyolojik regülasyonunda rolü olabileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır (19-24). Ancak, melatoninin insan fizyolojisi ve patofizyolojisindeki önemine yönelik bilgiler henüz çok yeterli değildir.

İn vivo ve in vitro çalışmalarda, melatoninin güçlü bir serbest radikal giderici ajan olduğu gösterilmiştir. Oldukça toksik olan hidrosil radikalleri başta olmak üzere, diğer serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif hasardan makromolekülleri (özellikle de DNA'yı) koruyabilir. Bu etkisini, reseptörden bağımsız bir şekilde, direkt

olarak oluşturur. Serbest radikal giderici etkisi bakımından, bilinen tüm antioksidanlardan (mannitol, glutatyon ve vitamin E gibi) daha güçlüdür (25).

Yapılan bu çalışmada deneysel olarak oluşturulan periferik sinir yaralanmalarında, melatoninin rejenerasyon üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlandı.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 TARİHÇE

Periferik sinir ile ilgili ilk bilgilere Hipokrat döneminde, sinir kesileri ve iyileşmesi üzerindeki ilk kayıtlara ise Galen döneminde rastlanmaktadır. İlk sinir koaptasyonunun İtalya'da, Guy de Chaulic tarafından yapıldığı bilinmektedir (1). Periferik sinir dokusunun histolojik olarak tanınmasında en önemli adım şüphesiz Van Leewenhoek'un mikroskopik incelemesi ile gerçekleşmiştir. Sinir dokusunun uyarılabilirliği Glisson (1597-1677), sinirlerin fonksiyonel özelliklerini Galvani (1737-1798), nöron ve aksonların yapılarını Von Purkinje (1787-1869), Schwann hücrelerinin tanınması ve fonksiyonunun aydınlatılması ise Schwann (1839) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu bilgilerin ışığında, Waller (1850) tarafından sinir yaralanma sonuçları ve akson rejenerasyonunun tanımlanması önemli bir tarihi gelişme olmuştur. Sinir iletiminin biyokimyasal temellerine ait ilk bilgiler de Bernard'ın kürar ile yaptığı çalışmalarda açığa çıkmıştır. Golgi ve Cajal (1906) sinir hücrelerinin sinir sistemi ile fonksiyonel ilişkilerini ve yapısını açıklayan çalışmaları ile Nobel ödülünü kazanmışlardır. Sherrington (1906), günümüzde sinaps olarak adlandırılan fonksiyonel organizasyondan ilk söz eden bilim adamıdır. Savaş yaralanmalarındaki sinir onarımları ve klinik olarak sinir rejenerasyonu ilk kez Tinel (1915) tarafından gözlemlenmiş ve yayınlanmıştır. Bu alanda ikinci Nobel ödülü (1944) sinir liflerinin fonksiyonlarını açıklayan elektrofizyolojik çalışmaları ile Erlanger ve Gasser'e verilmiştir. Hodes ve Larrabee (1948) ise bu elektrofizyolojik bulguları klinik testlere uygulayarak klinikte kullanılabilir hale getirmişlerdir (1,2).

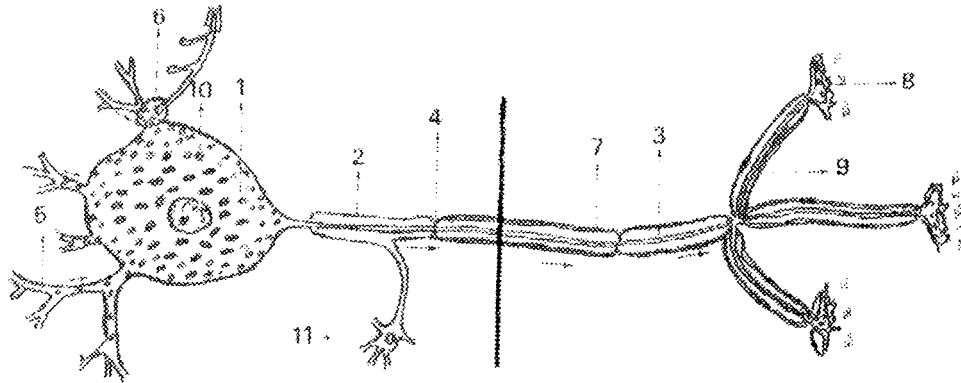
İlk kez Ferrara (1608) ve Arnemann (1787) sinir sütünasyonu fikrini ortaya atmışlar fakat orta çağda yerleşen fikirler neredeyse 19.yüzyıla kadar sebat etmiştir. Virchow 1846' da kesik iki sinir ucu arasında 10 cm den fazla olan kalıcı bir aralık varlığında bazen "inandırıcı olmayan" bir iyileşme sözkonusu olduğunu yazmıştır (26).

XIX. yüzyılın sonlarında Crikshank, yaralanmış sinirin anatomik devamlılığının iyileşmeyi sağladığını ve üniter yapısını kazanan sinir dokusunun kendi fonksiyonunuda kazanacağı ifade etmiştir. Sinir sütünasyonunu teyit eden bir çok yazar olmasına rağmen sinir lifleri hakkındaki yapısal bilgiden yoksun olduğundan iyileşmenin aksonal rejenerasyondan olduğunu düşünememişlerdir (26).

Periferik sinir cerrahisi alanındaki ilk ayrıntılı çalışmalar Seddon'a aittir (1948). Savaş yaraları üzerinde farklı seviyelerdeki sinir yaralanmalarını incelemiş ve kendi adıyla anılan "Seddon sınıflaması"nı geliştirmiştir. Onarım sonrası sinir rejenerasyonu, greft ile sinir onarım teknikleri, iskeminin sinir üzerine etkileri konularında da öncülük etmesi açısından önemli çalışmalar yapmıştır (27). Bu alandaki diğer bir öncü olan Sunderland periferik sinirlerin internal topografik anatomisi üzerinde ayrıntılı çalışmalar yapmıştır (28). Daha sonraları fasiküler sinir onarımı tekniğinin gelişmesinde öncü olmuştur. Günümüzde uygulanan periferik sinir cerrahisine önemli katkıda bulunan Millesi, Terzis, Moberg ve Dellon, sinir onarımında greftler ve gerginlik, tedavi teknikleri ve duyuşal innervasyon ile ilgili çalışmalar yapmışlardır (3,29).

2.2 PERİFERİK SİNİR ANATOMİSİ

Sinir dokusu, entegre bir iletişim ağı şeklinde vücuda dağılmıştır. Anatomik olarak beyin ve spinal korddan oluşan santral sinir sistemi ile sinir lifleri ve sinir hücrelerinin küçük kümeleri olan sinir ganglionlarından oluşmuş periferik sinir sistemi olarak sınıflandırılabilir (Resim1). Sinir dokusu, uzun sinir lifleri içeren nöronlar ile bunları destekleyen, koruyan, nöral aktiviteye katılan, nöral beslenmeyi ve sinir sisteminin savunmasını sağlayan hücrelerden oluşur.



Resim 1: Bir motor nöronun şematik resmi (30):

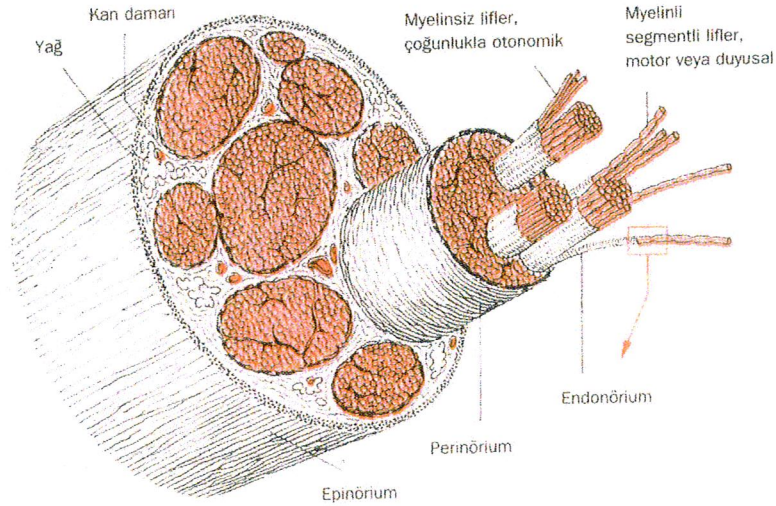
1: Perikaryon, 2: Myelin kılıfı, 3: Akson, 4: Ranvier nodu, 5: Dendritler, 6: Sinaps, 7: Schwann hücresi, 8: Motor son plak, 9: Kollateral dal, 10: Nissl cisimciği, 11: Oligodendrosit.

Periferik sinir gövdesi altı kısımda incelenir (1). Bunlar;

- A. Sinir lifleri
- B. Bağ dokusu
- C. Sinir fasikülleri
- D. Kan damarları

E.Lenfatikler ve doku aralığı

F. Nervi nervorumlar (Resim2).



Resim 2 : Periferik sinir gövdesi (30)

Medulla spinalisin değişik seviyelerinden çıkan sinirler pleksuslar oluşturur. Bu pleksuslardaki sempatik lifler motor ve duyu sinir lifleri ile karışarak yeniden düzenlenirler.

Her periferik sinir, post ganglionik sempatik sinirlere ilaveten spinal kord seviyelerinden çıkan çok sayıda motor-duyu fibrilleri de içerir. Nöronlar karmaşık yapısal karakterler gösteren bağımsız anatomik ve fonksiyonel birimlerdir. Uyarıları almak, iletirmek ve iletmek, belli hücreşel aktiviteleri başlatmak, nörotransmitterleri ve diğer bilgi moleküllerini salgulamaktan nöronlar sorumludur. Nöronlar genelde üç bölümden oluşur.

Dendritler, uyarıyı çevreden, duyu epitel hücrelerinden ve diğer nöronlardan almak için özelleşmiş çok sayıda uzantılardır. Perikaryon, nöronun gövdesi olup uyarıyı alır, çekirdek ve çevresindeki stoplazmadan oluşur. Stoplazmada kaba endoplazmik retikulum, golgi kompleksi ve mitokondriler bulunur (30). Akson, tek bir uzantıdır, sinir impulsunu diğer hücrelere yaymak ve iletmek üzere özelleşmiştir. Perikaryon ve dentritte bulunan granüle endoplazmik retikulum ve ribozomlar akson tepeciğinde

yoktur. Aksonun plazma membranına aksolemma, içeriğine ise aksoplazma denir. Aksonlar genelde sabit bir çapa sahiptirler ve çok dallanma göstermezler. Aksoplazma bir kaç mitokondri, mikrotübül, nöroflaman ve granülsüz plazma retikulumu sisternalarını içerir. Poliribozomların ve granüllü endoplazma retikulumunun olmaması aksonun ihtiyaçları için perikaryona bağlı olduğunu gösterir. Eğer akson kesilecek olursa kesin distal bölümü dejenere olur (4).

2.2.1 Sinir lifleri

Sinir lifleri ektoderm kökenli özel kılıflarla sarılmış aksonlardan oluşur. Sinir lif grupları, beyin ve spinal kordun traktuslarını ve periferik sinirleri oluşturur. Periferik sinir liflerinde bu kılıf schwann hücreleri, santral sinir liflerinde ise oligodentrositlerce oluşturulur. Sinir lifleri myelinli ve myelinsiz olmak üzere iki tiptedir. Küçük çaplı aksonlar genellikle myelinsiz sinir lifleridir. Her ikisinde de aksonlar schwann hücresi ile sarılıdır ve myelin schwann hücreleri tarafından oluşturulmaktadır. Myelin kılıflar tarafından sarılmış olan liflere myelinli sinir lifleri denir. Embriyolojik çalışmalar myelin oluşmasında ilk adım schwann hücre stoplazmasında var olan bir yarığa aksonun penetrasyonu olduğunu göstermiştir. Yarığın kenarları mesakson'u oluşturmak üzere bir araya gelir, böylece iki kenarın plazma membranları birleşir. Henüz tam anlaşılmayan bir mekanizma ile mesakson, akson çevresinde birkaç kez dolanır. Dolanımların sayısı myelin kılıfın kalınlığını belirler. Myelin kılıfın yapı taşı lipid ve proteinlerdir. Uç-uca sıralanan schwann hücreleri akson yüzeyinde ranvier nodları denilen bölgelerde birbirleri ile ilişkilidirler. Bunlar, aksonun uzunluğu boyunca komşu Schwann hücreleri arasındaki boşluklardır. Bu geçiş noktalar ekstrasellüler iyonların aksone ulaşmasına izin verirler. Bu anatomik yapı, saltatuar ileti denilen, myelinli liflere özgün, noddan noda atlayarak giden çok hızlı iletim şekline neden olur (29). İki boğum arasına internod adı verilir ve schwann hücreleri tarafından oluşturulur. Internodun uzunluğu aksonun çapına bağlı olarak değişir. Myelinin kalınlığı, aksonun çapına göre değişir ve akson boyunca sabittir. Aksonu saran plazma membranı aksolemma, aksoplazma yapısındadır ve aksoplazmik taşıma görevini de yapar.

Periferik sinir sistemindeki tüm myelinsiz aksonlar schwann hücrelerinin basit kılıfı ve bazal membranı ile çevrilmiştir ve bu liflerde ranvier boğumu yoktur. Bitişik schwann hücreleri kılıf sürekliliğini oluşturmak üzere uzunlamasına yerleşirler (30). Myelinsiz liflerde nörotübüllerin sayısı nöroflamanların sayısından fazladır. Periferik sinirlerde iletim hızı, akson çapının karesi ile orantılı olarak artar. Myelin kılıf, iletim

hızını önemli oranda artırır. Akson, schwann hücrelerinin stoplazması, plazma membran, bazal laminası ve myelin tarafından sarılır. Bazal lamina, endonöral kollajen ve retiküler liflerden oluşan yapıya tüp veya kılıf adı verilir ve sinir lifine destek görevi görür. Dejenerasyon sonucu tüp halinde varlığını sürdürürken rejenere aksonlara da iskelet görevi görür. Myelinli sinir lifleri, fasiküller arasına uzanan ve onları bir arada tutan bağ dokusu ile birlikte beyaz renkte görülür

2.2.2 Bağ dokusu

Sinir lifleri boyunca bağ dokusu tarafından sarılarak fasikül adı verilen demetleri oluştururlar. Sinir gerilme gücünü bu bağ dokusu sağlar. Değişik sinir kesitlerinde bağ dokusu oranının %25-85 olduğu gözlenmiştir (29).

Periferik sinirlerde üç farklı bağ dokusu katı bulunur;

1. Epinörium.
2. Perinörium.
3. Endonörium.

Epinörium: Gevşek areolar bağ dokusudur. Bu doku fasikül çevresini çapraz yada sıralı yapıda sarar. Genellikle uzunlamasına yerleşirler. Sinir gövdesine yakın planda yoğunluk kazanırlar. Periferik siniri çevreleyen yağ dokusu ile birleşirler . Fasikülleri deforme edici güçlere ve travmaya karşı korurlar. Gerilmeye karşı koruyucu etkileri sınırlıdır. Gerilme arttığında fasiküller tarafından giderilmeye çalışılır (31). Büyük bir bölümü kollajenden oluşmasına karşın epinöriumda ayrıca elastik lifler de bulunur. Çapları kişiye, sinire ve yerine göre değişmekle birlikte eklem yakın yerlerde daha kalındır (32). Sinir dallanıp fasikül oluşturarak daha küçük bir hal aldığında epinörium da daha kısa seyir izler. Birkaç fasikülden oluşan periferik sinirlerde bir veya daha fazla arter, ven ve lenfaktikler fasiküllere paralel olarak epinörium içinde uzunlamasına seyrederek. Bu arterlerin tıkanması yada inflamasyonu, vaskülitte seyreden hastalıklardaki sinir hasarının en önemli nedenidir.

Perinörium: XIX. yüzyılda Henle tarafından tanımlanan bu yapı, her bir fasikülü saran sıkı ve kuvvetli bir bağ dokusudur. Endonöral yapıları koruyucu mekanik bariyer işlevi görür. Bunlara ek olarak difüzyon bariyeri görevi de vardır. Perinöral difüzyon bariyeri esas olarak endonöral ortamın korunması ve regülasyonuna yöneliktir. Bariyer, travmaya ve iskemiye karşı dayanıklı olmasına rağmen bozulduğunda sinir iletimi doğrudan etkilenir (31,33).

Perinöral hücreler iç ve dış yüzeyde bazal membran ile birleşerek lamelleri oluştururlar. Özelleşmiş fibroblastlar arasındaki açıklık çok dardır (90 Angström). Bu (tight junctions) sıkı ilişkiler difüzyon bariyeri işlevinde çok önemlidir. Aktif bariyerdeki difüzyon, gerektiği durumlarda içeriye yada dışarıya doğru yönelir (33). Perinörium, kollajen tabakaları tarafından ayrılan düzleşmiş hücrelerin konsantrik dizimleri ile oluşmuştur. Bu hücre katlarının sayısı sinirden sinire değişmekle birlikte on beş tabakaya kadar çıkabilir (29).

Distale gidildikçe hücre tabakası sayısı da azalır. En uçta tek tabaka oluştururlar. Bu perinöral hücreler sonunda duyu cisimciklerinde sonlanarak terminal sensörleri oluştururlar. Periferik sinirlerdeki epinöral kılıf, spinal sinirlerde dura mater ile devamlılık gösterirken, perinörium ise pia-araknoid ile devam eder.

Endonörium: Sinir liflerinin gevşek bir bağ dokusu ile çevreli olduğu kattır. Bu katta, aksonlar ve onları çevreleyen schwann hücreleri, kollajen fibriller, fibroblastlar, kapiller damarlar ve az sayıda mast hücreleri bulunur. Mast hücreleri, sinir yaralanmasını takiben kan sinir bariyerinin bozulması sonucu endonörial damarlardaki geçirgenlik artışından sorumludurlar. Mast hücrelerinden salınan enzimler miyelinolitik aktiviteleri nedeni ile demyelinizasyona neden olurlar. Hücrelerin %90'nı schwann hücreleri, % 10'unu ise fibroblast ve diğer hücreler oluşturur. Endonöriumdaki kollajen lifler her bir sinir lifini çevreleyerek endonöral tüplere destek sağlarlar. Yine bu katta lenfatik kanallar yoktur . Sinir lifleri myelinli yada miyelinsizdirler. Endonöriumdaki kollajen lifler, sinir liflerini ve onların çevresindeki schwann hücrelerini iki farklı kılıf oluşturacak şekilde sararlar. Dış kılıftaki geniş çaplı kollajen lifler, uzunlamasına yerleştiğinden, schwann hücre bazal membranı ile birlikte yaralanan sinirin rejenerasyonunda önemli rol oynar. En dıştaki endonöral kılıfı, sinir liflerini oblik yada dairesel şekilde kuşatan ince kollajen lifler oluşturur. Endonöral alan, sinir fonksiyonu için uygun çevreyi sağlar. Bu kılıfın bütünlüğü bozulduğunda endonöral içerik dışarı çıkar (32).

2.2.3. Fasikül

Periferik sinir gövdesi bir veya daha fazla fasikülden oluşur. Fasikül, ince ama güçlü hücre tabakaları ve perinörium ile çevrelenmiş sinir liflerinin kümesidir. Fasiküler yapının sinir gövdesi kesitlerinde uca doğru gidildikçe değiştiği gözlenir. Fasiküler yapı dallanarak şekil değiştirir. Sürekli uca doğru dallanır. Aynı düzeydeki değişik sinir gövdelerinin fasiküler biçimi, karşı kenar aynı düzeyden alınan sinir gövdesi fasiküler

yapıları ile büyük ölçüde farklılık gösterir. İnsandaki periferik sinir fasiküllerinin çapı 0.04 mm'den 20 mm'ye kadar değişir. Arada 4 mm'lik fasiküller de görülür. Fasiküler yapılar mono, oligo veya polifasikülerdir. Ekstremitelerin uç bölümüne gidildikçe fasiküller arası pleksus oluşumu azalır (1).

2.2.4. Kan akımı

Periferik sinirlerde iki temel kan dolaşımı vardır. Bunlardan biri ekstrensek dolaşım olarak adlandırılır ve periferik sinir boyunca uzunlamasına adventisya içinde seyreden, arteriya nervorum ve bölgesel damarlardan oluşur. Bu seyir sırasında intrinsek dolaşım ile ilişkiyi sağlayan, periferik sinir gövdesine giren kollateralleri verirler. Bu damarlar esas olarak ekstranöral dokuları beslerler. Bu dolaşım, sempatik uyarılardan ve lokal uygulanan farmakolojik ajanlardan etkilenir. Geniş periferik sinirlerin yüzeylerinde izlenen makroskopik arteriyoller, sinir onarımlarında proksimal ve distal sinir uçlarının birleştirilmesinde yardımcı olurlar. İkincisi yani intrinsek dolaşım ise periferik sinir bağ dokusu içinde (epinörium, perinörium, endonörium) bulunan damarsal ağdan oluşur ve sempatik uyarılardan, metabolik olaylardan, lokal ilaçlardan etkilenmez. Bu iki sistem periferik sinirin beslenmesini sağlar (34).

Venöz ağın intranöral yapısı genellikle arteriyel yapıya benzer. Ancak interfasiküler venüllerin sayısı arteriollerin sayısından fazla görülmektedir.

Endonöral kapillerlerin endotel hücreleri arasında sıkı bağlantılar mevcuttur. Bunlar, kan-beyin bariyerine benzeyen, geçirgenliği kontrol eden kas-sinir bariyerini oluşturur. Epinöral ve perinöral kapillerin endotelyal hücreleri arasındaki ilişki ise sıkı değildir. Bu nedenle çevre dokulara bir miktar sızıntı olabilir. Perinöral ve endonöral damarlar fasiküler pleksuslar oluştururlar. Bu organizasyon epinöral damarlarda yoktur. Bu pleksuslar, periferik sinir yapısına katılan her bir fasiküle minyatür bir dolaşım sağlar (33).

Çevre dokudan ayrılmış, sinir devamlılığı iki ucundan kesilerek sonlandırılmış bir sinir segmentinin kan dolaşımı sadece ekstrensek dolaşım ile sağlanabilir. Bu özelliğin bulunması, serbest vaskularize sinir grefti kavramı ve uygulamalarını gündeme getirmiştir (31).

2.2.5 Lenfatikler

Epinöriumdaki lenfatik sıvı, sinir gövdesini besleyen arterlerle birlikte bulunan lenfatik kapillerlerce drene edilir. Fasiküller içinde gerçek lenfatik kapillerler yoktur.

Ancak sinir fibrilleri arasında sıvı dolu endonöral boşluklar vardır. Bu boşluklar ile ektrafasiküler lenfatikler arasındaki perinörium etkin bir bariyer oluşturur. Bu nedenle endonöral ödem dışarıya çıkamaz ve endonöral nekroz-skar oluşabilir (31).

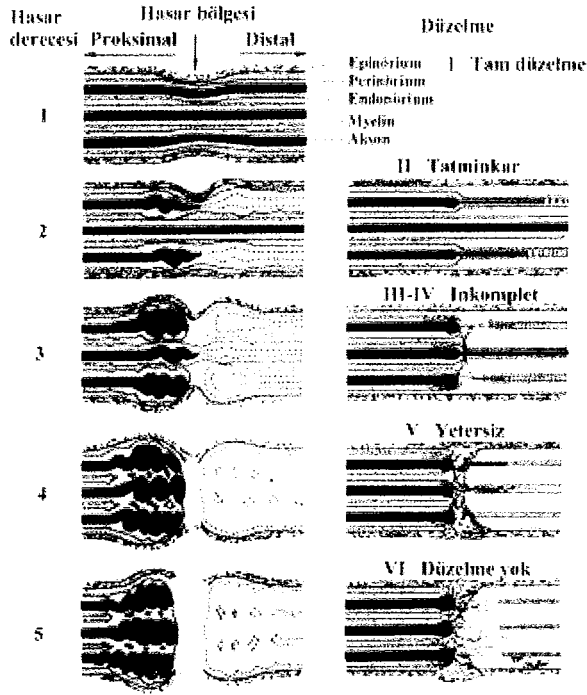
2.2.6 Sinirler

Nervi nervorum adı verilen, sinir gövdeleri ve perivasküler pleksus içindeki fibrillerden kaynaklanan özel sinirleri vardır. Bağ dokusunun her üç katında da yaygın ağ oluştururlar. Hem sempatik hem de duyu lifleri içerirler. (31,33)

2.3 PERİFERİK SİNİR YARALANMALARI

Periferik sinir yaralanması, sinir iletim elemanlarının ve aksonal devamlılığın kaybını içerir. Yaralanan bölgenin proksimal ve distal ucunda, hedef organlarda dejeneratif değişikliklerle karakterizedir. Sunderland (18), bu yaralanmaları 5'e Seddon (27) ise 3'e ayırır. Günümüzde yaralanmalar 6 alt grupta incelenir (Resim 3).

1. Birinci derece; sinirin devamlılığı var, kompresyon yada iskemi sonrası lokal iletim bloku, demiyelinizasyon olabilir. Genelde 2-3 haftada tüm olarak iyileşir.
2. İkinci derece; akson yaralanması var, destek yapılar sağlam wallerian dejenerasyonu oluşur. İyileşme aylar sürebilir.
3. Üçüncü derece; endonörium ayrılmış, epinörium ve perinörium sağlamdır. İyileşme interfaziküler fibrozise bağlı olarak zayıf ile tam arasında değişebilir.
4. Dördüncü derece; tüm nöral ve destekleyici unsurların bozulması söz konusu dur. Epinörium sağlam fakat sinir genellikle sertleşmiş ve genişlemiştir.
5. Beşinci derece; devamlılığın kaybı ile birlikte tam kesi mevcuttur.
6. Altıncı derece; birinciden dördüncüye kadar olan unsurların bir kombinasyonudur. Korunmuş duyu fasikülleri olabilir.



Resim 3: Periferik sinir yaralanmaları (35)

Seddon, periferik sinir yaralanmalarını üç gruba ayırmıştır;

- 1-Nöropraksi,
- 2-Aksonotmezis,
- 3-Nörotmezis.

2.3.1 Nöropraksi

Darbe sonucu kontüzyon tarzı sinir zedelenmeleri, künt travma, hafif kompresyon, iskemi veya aşırı derece sinir gerilmesi sonucu ortaya çıkar. Tanı ve tedavide sinirde oluşan hasarın nasıl ortaya çıktığı önemlidir. Hafif derecede kompresyon veya kontüzyon nöropraksiye neden olur. Buna örnek olarak uzun süre bacak bacak üstüne atmak sonucu ortaya çıkan peroneal sinir felci ve cumartesi gecesi felci (saturday night palsy) verilebilir. Nöroprakside oluşan patoloji, biyokimyasal yapıdaki değişiklik ve myelin tabakasının etkilenmesine bağlıdır. Palpasyon ve inspeksiyonda sinir normaldir, hatta mikroskopide normal olabilir. En kötü ihtimal ile silindirik akson korunur segmental demyelizasyon ortaya çıkar. Nöroprakside fokal iletim bloğu mevcuttur. Geçici iskemi veya basıya bağlı olarak gelişebileceği gibi fokal demyelinizasyon sonucunda oluşabilir. Nöroprakside görülen duyu kaybı, duyu zayıflaması, aksonal kesilerdeki gibi ciddi olabilir. Elektrofizyolojik değerlendirmelerle

aksonal devamlılığın saptanması çok önemlidir. Ancak, akut durumlarda bunu ayırmak mümkün olmayabilir. Bu sırada distal sinir ucu boyunca iletim mümkündür. Bu ara dönemde yapılan çalışmalar, iletim özelliklerinin fokal anormalliklerden çok süreklilik kaybına bağlı iletimin durması şeklinde olmaktadır. Birkaç aksonda görülen sürekli iletim, sinir devamlılığının işareti olup, cerrahi girişim olmaksızın fonksiyonel iyileşmenin olabileceğini düşündürür. Aksonal devamlılığın kaybı olmaksızın, fonksiyon paralizisine neden olan lezyonlar genellikle sinirin sıkışması sonucudur ve demyelinizasyonla ilgilidir (27).

2.3.2 Aksonotmezis

Akson ve myelin devamlılığının kaybı ve destek dokunun korunması ile karakterizedir. Epinörium, perinörium, endonörium tüpleri korunmuştur. Fakat hasarın distalinde dejenere aksonlarda schwann hücreleri proliferasyonu ve makrofajlar görülür. Hasarın derecesine göre proksimalde myelin tabaka, aksonal uzunluk ve çaptaki kayıp wallerian dejenerasyonu ile beraber görülür. Hasarın hemen proksimalindeki segmentte iletimin azalması, akson ve myelin çapındaki azalmaya bağlıdır. Fibrilasyon, innervasyon kaybından 2-3 hafta sonra başlar. İstemli hareket yapılmak istendiğinde kas aksiyon potansiyeli yoktur. Stimülasyonun distalinde hareket oluşmaz (27).

2.3.3 Nörotmezis

Nörotmezisde akson, endonörium, perinörium ve epinörium devamlılığı yoktur. wallerian dejenerasyonu vardır (27).

Periferik sinir kesisinde sinir hücre gövdesinde ve proksimal uçta değişiklikler olur. Aksonun kesilmesini takiben nöron gövdesi ölebilir yada nöronda anatomik ve fonksiyonel değişiklikler başlar. Hücre gövdesi hacminde artma, nükleusta merkezden çevreye göç, stoplazmada bazofilik cisimciklerin kaybı olur. Hücre, rejenerasyon için gerekli maddelerin sentezini hızlandırır. Nöronların uyarılabilirliği ve iletim fonksiyonundan ziyade onarım ön plandadır (4). Aksonal rejenerasyon için gerekli mikrotübül ve mikroflaman sentezi artar. Kesik sonrası proksimalde görülen dejenerasyon, retrograd olarak en yakın Ranvier noduna kadar ilerler. Yine kesik uçta perinöriumun kesilmiş, yırtılmış olması, ödemlenen fasiküllerin düzeninin bozulup dağılmasına yol açar. Elektrolit dengesi bozulduğunda kesik yerden protein kaybı da artar.

Periferik sinir kesisini takiben distal sinir ucunda da dejenerasyon olur. İlk kez Waller (1850) tarafından tanımlandığı için *Wallerian Dejenerasyonu* adı verilmiştir. Bu

işlem ile, aksoplazma ve myelin debris ortamdan uzaklaştırılır. Kesi sonrasında açığa çıkan proteolitik enzimler lizisi başlatır. Bunu, yaralanmadan yaklaşık 10-14 saat sonra açığa çıkan schwann hücre proliferasyonu izler ve yaklaşık iki hafta sürer. Bölgeye fibroblast göçü ile debris temizliği aylarla ifade edilen sürede tamamlanır. Prolifere olan schwann hücreleri rejenerasyon için gerekli myelin sentezini gerçekleştirirler. Bazal membran ile sarılı schwann hücre kolonileri endonöral tüpleri oluşturur, rejenere aksonlara kılavuzluk yaparlar (36).

Periferik sinir kesisini takiben hedef organ dejenerasyonu adı verilen değişiklikler olur. Hedef organ, kas veya duyuusal hedef organ olabilir. Denervasyon sonucu her iki türden hedef organda da dejenerasyon görülebilir. Duyu siniri kesisinde reinnervasyonun varlığı klinik test ve sübjektif duyum ifadelerine dayalı olarak saptanmaya çalışılır. Deride denervasyon sonrasında trofik değişiklikler gözlenir. Duyusal reinnervasyon çalışmalarında, yeterli innervasyon için optimum denervasyon süresi belirlenememiştir. Ancak duyu sinirlerindeki reinnervasyonda, koruyucu duyunun geri gelmiş olması, iki nokta ayırımının olabildiğince küçük olması arzu edilir (18). Bu iki nokta ayırım testiyle ortaya konabilir.

Hedef organ kas ise, histolojik özellikleri korunmakla birlikte liflerde atrofi gözlenir. Atrofi başlangıçta çok hızlı seyrederek, dördüncü aydan sonra daha düşük hızlara iner, 4.-5. aylardan sonra %80-90 atrofi gerçekleşmiş olur. Denervasyon iki üç yıldan fazla sürerse, denerve kas fibrosise gider, çeşitli faktörler de fibrozise eklenirse kontraktürle sonuçlanır (4,18,28).

Periferik sinir kesisi sonrası akson rejenerasyonunun temel mekanizmaları hakkındaki bilgi birikimi giderek artmaktadır. Aksonal tomurcuklanmayı başlatarak rejenerasyonu sağlayan mekanizmalar halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Rejenerasyon işleminde aksonlar, nöronal olmayan hücreler ve ekstraselüler elemanlar rol oynar. Diğer taraftan yaralanma bölgesindeki nörotrofik (humoral) ve nörotropik faktörlerin rejenerasyon etkileri deneysel olarak yoğun şekilde araştırılmaktadır (37-39).

2.4 PERİFERİK SİNİR REJENERASYONU

Fonksiyonel bir sinir rejenerasyonu için üç önemli işlemin başarı ile tamamlanması gereklidir.

1. Aksonal kesi sonrası nöron gövdesi canlı kalmalıdır.
2. Bu nöronlar proksimal uçtan aksonu rejenere etmeli ve rejenere akson ucu distal sinir güdüğüne girmelidir.
3. Rejenere aksonlar proksimal güdükten çıkıp kendilerine ait doğru uç organ hedefleri ile birleşmelidir (4,40).

Kesinin proksimal ucunun en distalindeki ranvier düğümü düzeyinde schwann hücrelerinin kontrakte olması ile aksonal tomurcuklanma başlar. Dejenere sinir kılıflarından, denerve dokulardan salınan trofik faktörlerce akson rejenerasyonunun tetiklendiğine inanılmaktadır (4,38,39). Bu tomurcuklanma ise hücre elemanları ile birlikte yaralanmadan 24 saat sonra başlar. Tomurcuklanma birden fazla sayıda kollateraller şeklinde olabilir. Rejenere aksonlar, distal uçtaki endonöral tüpler içine doğru ilerler. İlerlemenin hızı canlı türlerine göre değişir. Rejenere aksonlar ve kollateralleri distaldeki endonöral tüplere birbirinden bağımsız olarak rastgele girerler. Maalesef her aksonal rejenerasyon normal sinir fonksiyon ve morfolojisi ile sonuçlanmaz. Akson uçları kesi hattını geçemez veya distaldeki endonöral tübe giremezse nörom oluşturur ya da fonksiyonel reinervasyonu oluşturamazlar (1).

Duyusal rejenere bir aksonun kollateralleri yada aksonun kendisi farklı duyu reseptörlerine gidebileceği gibi, motor aksonlar da duyusal endonöral tüplere girerek uygunsuz duyu-motor reinervasyonuna neden olabilir (1, 4,40).

Rejenere aksonun çevresini kuşatan schwann hücreleri hem aksonun büyümesini indükler hem de proksimalden distale remyelinizasyonu başlatır. Promyeline lifler doğru hedef organa ulaştıktan sonra süreç içinde maturasyonunu tamamlar ve proksimalden distale doğru akson çapı artar. Ancak hiçbir zaman kesi öncesi myelin kalınlığı ve akson çapına erişemezler. Bu sırada promyeline rejenere aksonlara uygulanan bası ve mikrotravmalar, kılıf kalınlığı ve akson çapının daha alt düzeylerde kalmasına neden olur (5). Sinir rejenerasyonunda sinir hücresinin yaşamını ve büyümesini destekleyen hümmoral faktörlere nörotrofik faktörler, büyüyen ve rejenere olan sinir uçlarına yapışarak onların büyüme yönünü etkileyen faktörlere ise nörotropik faktörler denir. Temel nörobiyolojideki hızlı gelişmeler periferik sinirin aksonal rejenerasyonunu içeren moleküler mekanizmalara yeni görüşler getirmektedir. Son çalışmalar, rejenerasyon ve aksonal uzamada hücre adhezyon moleküllerinin, büyüme faktörlerinin ve reseptörlerin

önemli rolleri olduğunu göstermiştir. Nörotrofik faktörlerin, lif maturasyonu, uygun ve doğru rejenerasyonu kolaylaştırmadaki etkileri vurgulanmaktadır (39).

2.5 BÜYÜME FAKTÖRLERİ ve SPESİFİK PROTEİNLER

NGF (Nerve Growth Factor): Son kırk yıldır üzerinde çalışılmaktadır. Sinir kesisinden etkilenen hedef organ tarafından oluşturulur. İnerve eden sinir terminalleri tarafından alınır ve hücre gövdelerine taşınır (6).

BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor): Beyin ekstrelerinden (12kDa ağırlıkla) izole edilebilmiştir. Dorsal kök ganglionlarındaki nöronların canlılığının devamı ve hücre ölümünü azaltması üzerindeki etkileri in vivo çalışmalarla gösterilmiştir (6).

aFGF ve bFGF (Acidic and Basic Fibroblast Growth Factor): Heparine yüksek duyarlılığı olan güçlü mitojenlerdir. Madison ve arkadaşlarınca yapılan in vivo çalışmalarda özellikle aFGF' nin, periferik sinir kesi ve onarım sonrasında nöronal canlılığı arttırdığı gözlenmiştir. Bu etkinin, duyu sinirlerinde motor sinirlere göre daha fazla olduğu görülmüştür. Diğer bir çalışmada bFGF'nin, periferik sinirlerdeki akson rejenerasyonunu uyardığı gözlenmiştir (6).

NLK (Neuroleukin): Medulla spinalis nöronlarındaki büyüme ve canlılığı etkiledikleri gösterilmiştir. Genetik incelemelerde NLK' nın aslında glikolitik enzim olan fosfoglikoizomeraz olduğu gösterilmiştir (6).

CNTF (Ciliary Neurotrophic Factor): Birçok dokudan (kalp, göz, siyatik sinir v.s.) izole edilmiş bir büyüme faktörüdür. İn vitro çalışmalarda dorsal kök ganglionları ve sempatik nöronların canlılığını artırdığı gösterilmiştir. Lin ve arkadaşları tarafından in vivo çalışmalarla da incelenmiştir. Periferik sinir sisteminde aktif olarak bulunan bu nöronal büyüme faktörleri, santral sinir sistemi nöronları üzerinden indirekt olarak periferik sinir sistemini etkiler. (37,38)

2.6 HÜCRE ADHEZYON MOLEKÜLLERİ

Hücre-hücre, hücre-substrat ilişkilerini içeren tanımlanmış moleküllerin listesi hızla büyümektedir. Periferik sinir sistemine özgün hücre-yüzey moleküllerinin en iyi tanımlanmış olanları NCAM (Neural Cell Adhesion Molecule), Ng CAM (Neuron - glia Cell Adhesion Molecule) ve N – Cadherindir. Bunlar schwann hücrelerinde bulunurlar. Periferik sinir sisteminin gelişmesi esnasında myelinizasyon başlar başlamaz düzeyleri

azalır. Periferik sinir yaralandığında (normal sinir gelişiminde olduğu gibi) NCAM ve NgCAM düzeyi bir çok schwann hücresi üzerinde yeniden artmaktadır (41).

2.7 EKSTRASELÜLER MATRİKS MOLEKÜLLERİ

Sinir rejenerasyonundan sorumlu ekstraselüler matriks molekülleri Laminin ve Fibronektin tanımlanmış moleküllerdir. Bunların schwann hücresi morfolojisini etkileyerek rejenerasyon oranını artırdığı gösterilmiştir. Nöronal büyüme faktörleri ile hücre yapışma molekülleri arasında dinamik bir ilişki vardır (6,41,42).

2.8 NÖRONAL OLMAYAN HÜCRELER ve RESEPTÖRLER

Sinir onarımına katkıda bulunan iki nöronal olmayan hücre, schwann hücresi ve makrofajlardır (42). Son zamanlarda makrofajların sadece dejenere myelini ortadan kaldırmayıp, yara iyileşmesinde genel bir etken oldukları bilinmektedir. Endotel hücre göçünü etkileyebilirler, schwann hücrelerine mitojen verirler ve denerve schwann hücrelerinden çıkan NGF salgısının başlamasında etkili olurlar. Bu alanda yapılan çalışmalarda, schwann hücreleri ile rejenerere aksonlar arasında olası moleküler ilişki açığa çıkarılmıştır. Sinir yaralanmasını takiben NGF üretimi ve schwann hücreleri üzerindeki NGF de artış, reseptörle otokrin bağlanma, rejenerasyon ilerledikçe NGF nin akson üzerinde distalde daha yoğun halde yerleşik yeni reseptörlere doğru yer değiştirdiği, sonra da hücre ana gövdesine geri taşındığı anlaşılmıştır (6,41-43). Nöronal olmayan hücreler, büyüme faktörleri, hücre adhezyon molekülleri ve aksonlar arasındaki bu karmaşık ilişki, periferik sinir rejenerasyonunda önemli rol oynamaktadır.

2.9 MELATONİN :

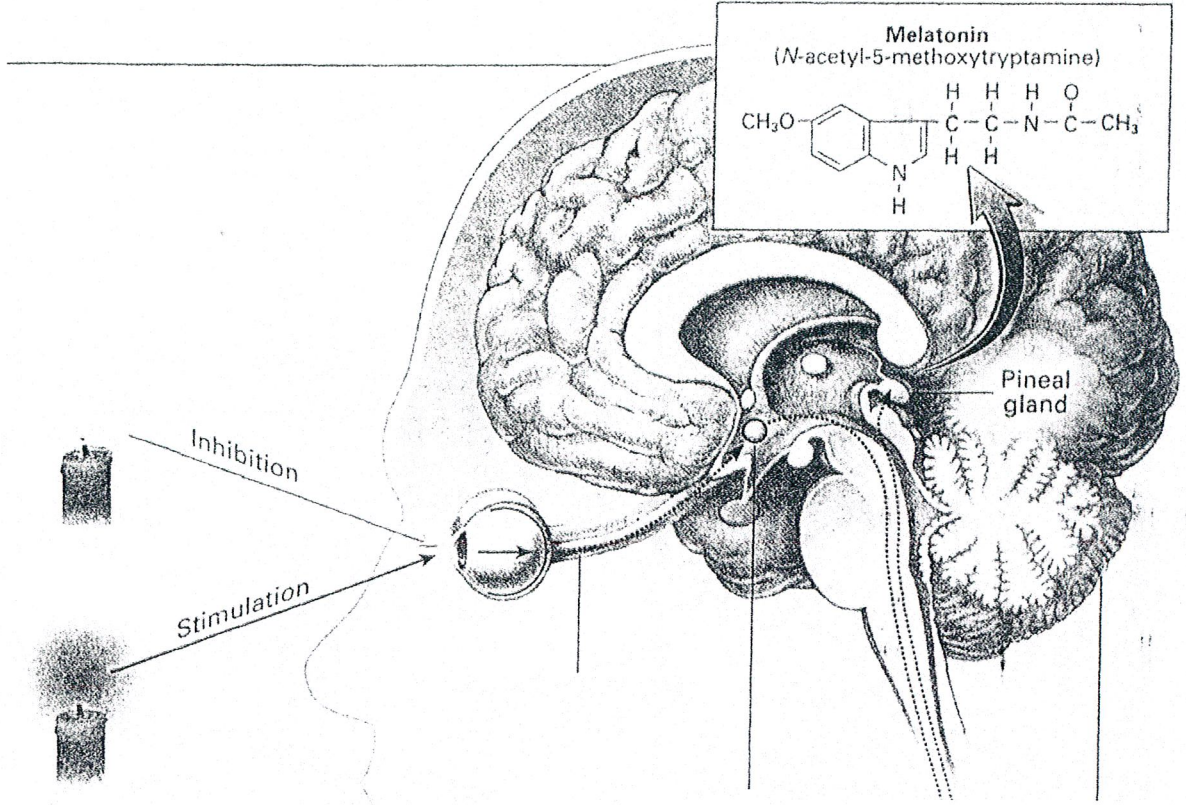
Melatonin alglerden insanlara kadar tüm canlı organizmalarda bulunan bir indol amindir. Üç yüzyıl önce, Fransız filozof Rene Descartes, pineal bezi 'ruhun sandalyesi' olarak tanımlamıştır. Buradan salgılanan ana maddenin melatonin olduğu, ancak 1950'li yılların sonlarına doğru gösterilmiştir. Günümüzde melatoninin, sirkadian ritimler, uyku, ruhsal durum, üreme, tümör gelişimi ve yaşlanma gibi birçok olayın biyolojik regülasyonunda rolü olabileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır (19). Ancak, melatoninin insan fizyolojisi ve patofizyolojisindeki önemine yönelik bilgiler henüz çok yeterli değildir.

Melatonin'in sentezlenip dolaşıma salındığı yer olan pineal bez (Resim 4), insanda 120-150 mg, sıçanda 0.9-1.56 mg ağırlığındadır. Zengin bir damarlaşma gösteren bez, kan akımı yönünden, 4 ml/dak/gr'lık değerle, endokrin organlar içinde, böbreklerden sonra ikinci sırada gelmektedir. Pineal bezde, pinealositler ve nöroglia

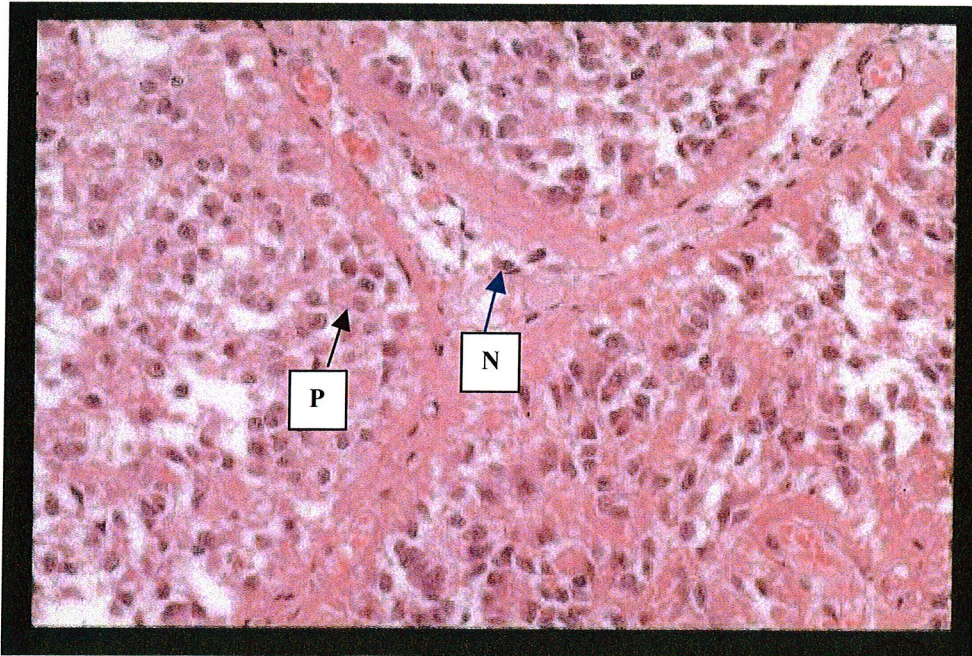
hücreleri bulunmaktadır (Resim 5). Dominant olan ve melatonin sentezinin yapıldığı hücreler pinealositlerdir. Bez ayrıca, melanin, hemosiderin ve lipofuksin gibi pigment maddeleri de içerir (44).

Pineal bez, elektriksel sinyalleri hormonal sinyale çeviren nöroendokrin bir transdüser olarak görev yapar. Melatonin salgılanma hızını belirleyen en önemli faktör, ortamın aydınlık veya karanlık olmasıdır. Genel olarak, ışık melatonin yapımını azaltırken, karanlık artırır. Pineal bezin endokrin aktivitesi çoğu endokrin organdan farklı olarak, önemli derecede sinirsel innervasyona bağlıdır. Retinohipotalamik pineal sistem, retinanın fotoreseptörlerinden başlar ve retinal sinir ile retinohipotalamik yoldan suprakiazmatik nükleusa, oradan da servikal ganglion ve postganglionik sempatik lifler ile pineal beze ulaşır (44,45). Buradaki sempatik sinir uçlarından salgılanan norepinefrin, melatonin sentezini artırır. Bu nöronal sistem, ışığa maruz kalındığında baskılanır, karanlıkta ise aktive olur. Melatonin sentezinin günlük ritmi ise, suprakiazmatik nükleustaki pacemakerlar ile sağlanmaktadır (19).

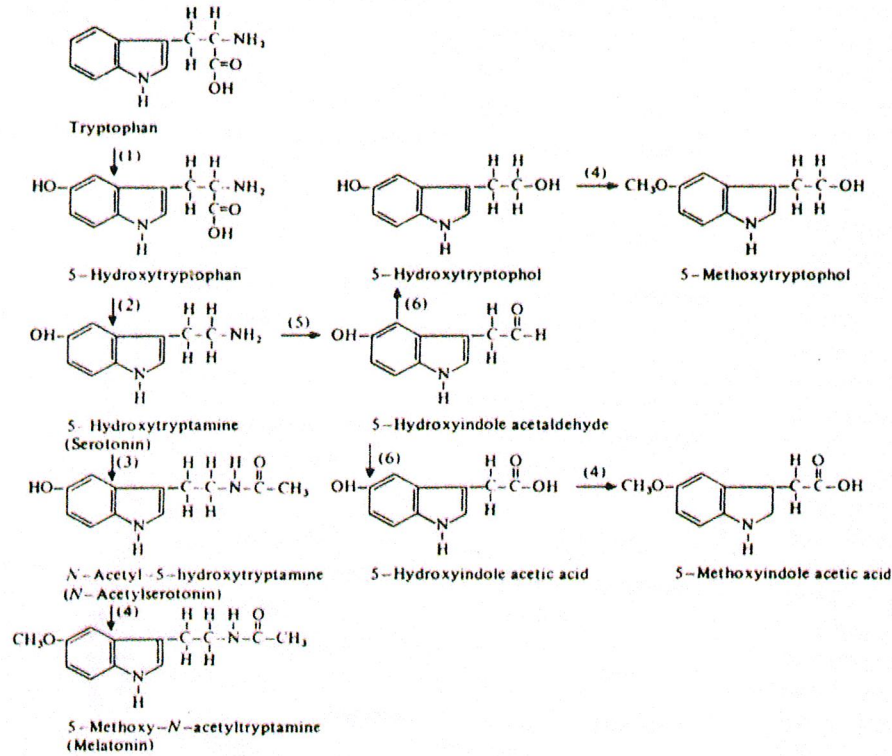
Melatonin sentezinde başlangıç maddesi, pineal bez tarafından plazmadan alınan ve bir indol aminoasit olan triptofandır (Resim 6). Triptofan, esansiyel bir aminoasit olup, besinlerle dışarıdan alınması gerekmektedir. Dışarıdan triptofan verilmesi, dolaşımdaki melatonin düzeyini arttırmaktadır. Triptofan, pinealositlerde, triptofan hidroksilaz enzimi ile 5-hidroksitriptofan'a hidroksillenir. 5-hidroksitriptofan, aromatik-L-aminoasit dekarboksilaz ile 5-hidroksitriptamin (serotonin)'e dekarboksillenir. Serotonin, N-asetil transferaz (NAT) enzimi ile N-asetil serotonin'e ve bu da, hidroksiindol-o-metil transferaz etkisi ile melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin)'e dönüşür (19). Melatonin sentezi için gerekli enzimlerin, pinealositler dışında, suprakiazmatik nükleus, retina ve ince barsakta da bulunduğu, immünohistokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir. Bu nedenle pineal bez çıkarıldığında, dolaşımdaki melatonin tam olarak yok olmamaktadır ve bir miktar melatonin dolaşıma katılmaktadır. (19,44,46)



Resim 4: Pineal bezin insanda yerleşimi ve melatoninin fizyolojik sekresyonu (19)



Resim 5: Pineal bezin histolojik görüntüsü P : Pinealosit N : Nöroglia



Resim 6 : Melatonin sentez aşamaları (19)

Melatonin pineal bezde, depolanmadan hızlı bir şekilde komşu kapiller damarlara geçer, yağda çözünürlüğünün yüksek olmasından dolayı, tüm biyolojik doku ve sıvılara dağılır. Plazmada yaklaşık %70'i albumine bağlı olarak taşınır. Çoğu karaciğerde, bir kısmı böbrekte metabolize edilir. Karaciğerde 6-hidroksimelatonin'e dönüşür. Bu madde, böbrekte sülfat ve gluküronik aside bağlanarak idrarla atılır. Ana metaboliti, 6-sülfatoksimeletonindir (19).

Karanlık başladığında melatonin seviyesi yükselmeye başlar. Geceyarısından sonra pik seviyesine ulaşır ve sonra giderek düşer. Sabahları erken ışığa maruz kalındığında, melatoninin gece sekresyonunun başlaması erken olur. Akşam saatlerinde verilen melatonin de, endojen melatonin salınımını erken başlatır (44,46).

Dozları, formülasyonları ve farmakokinetiği :

Melatonin, insanlarda yapılan çalışmalarda, 0.1 mg'dan 2000 mg'a kadar değişen çok geniş bir doz aralığında uygulanmıştır. Hayvan çalışmaları ile de uyumlu olan bu geniş doz aralığı, düşük toksisitenin göstergesidir. 0.5 mg'ın üzerindeki dozlar, farmakolojik doz olarak kabul edilir ve endojen pik seviyelerinin üzerinde bir serum konsantrasyonuna neden olur (20).

Jelatin kapsül veya tablet şeklindeki oral melatonin preparatları, 30 dakika içinde absorbe edildikten sonra, karaciğerde hızla metabolize edilerek, suda çözünebilen hidroksi türevine dönüşür. Plazmadaki yarılanma ömrü yaklaşık 45 dakikadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde tipik olarak kullanılan 3 mg'lık melatonin tabletleri, fizyolojik plazma konsantrasyonunun 50 katından daha yüksek değerlere ulaşabilir. Bu dozun vücuttan tamamen uzaklaştırılması yaklaşık 10 saat kadar sürer. Oral uygulamada biyoyararlanım bireyler arasında çok fazla değişkenlik gösterir. Oral yoldan alınan 80 mg'lık jelatin kaplı bir melatonin kapsülü, gece pikinde 350-10000 kez daha yüksek bir serum konsantrasyonu sağlar. 0.1-0.3 mg melatonin ise, normal gece ritmi ile benzer konsantrasyonları oluşturur (19,20).

Gece boyunca oluşan plazma melatonin düzeyine benzer plazma düzeyi elde etmek amacıyla salınan oral melatonin preparatları geliştirilmiştir. Tablet, kapsül ve pastil formlarının yanı sıra transdermal uygulanmasına yönelik çalışmalarda mevcuttur (20).

Etki mekanizması :

Melatoninin farmakolojik olarak tanımlanmış iki membran reseptörü bulunmaktadır. ML1, yüksek afiniteli (pikomolar konsantrasyonlarda) bağlanma yeri olup, a ve b alt tipleri gösterilmiştir. ML2 ise, düşük afiniteli (nanomolar konsantrasyonlarda) bağlanma yeri olarak tanımlanmıştır. ML1 reseptörlerinin aktivasyonu, G proteini üzerinden, adenilat siklazı inhibe ederek, hedef hücrelerde cAMP düzeyini düşürür. Bu reseptörler, retinal fonksiyonların, sirkadiyen ritimlerin ve üremenin regülasyonunda rol oynadığı düşünülmektedir. ML2 reseptörlerinin aktivasyonu, fosfoinozitid hidrolizini stimüle eder, ancak bunların dağılımı henüz tam olarak tanımlanmamıştır. Melatonin hücre içine kolayca geçerek, buradaki yapısal proteinlerle de etkileşebilir ve direkt olarak sitozolik kalmodüline bağlanarak, kalsiyum sinyalini bu yolla da etkileyebilir. Ayrıca, melatoninin nükleer retinoid Z reseptörlerinin (alfa ve beta) de bir ligandı olduğu gösterilmiştir. Bu bağlanma, düşük nanomolar konsantrasyonlarda olup, nükleusa hormon tarafından gönderilen sinyale aracılık edebilir (47).

İn vivo ve in vitro çalışmalarda, melatoninin güçlü bir serbest radikal giderici ajan olduğu gösterilmiştir. Oldukça toksik olan hidroksil radikalleri başta olmak üzere, diğer serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif hasardan makromolekülleri (özellikle de DNA'yı) koruyabilir. Bu etkisini, reseptörden bağımsız bir şekilde, direkt olarak oluşturur. Serbest radikal giderici etkisi bakımından, bilinen tüm

antioksidanlardan (mannitol, glutatyon ve vitamin E gibi) daha güçlüdür (25). Ayrıca, melatonin, antioksidanların büyük çoğunluğunun aksine, hem suda, hem de yağda çözünebildiğinden, hücrenin tüm komponentlerine etki eder. İndirekt olarak, spesifik melatonin reseptörleri aracılığı ile, antioksidan enzim düzeylerini artırarak doku koruyucu etki gösterir (12,48,49,50). Melatoninin antioksidan etkisinin gözlenebilmesi için gerekli konsantrasyonlar, gece pik serum konsantrasyonlarına göre, oldukça yüksek olması gerektiği vurgulanmıştır (19). Fizyolojik konsantrasyonlarda bu etkinin gözlemlendiği çalışmalar henüz netlik kazanmamıştır.

Melatoninin Etkileri :

a) Uyku Üzerine Etkileri :

Melatoninin beynin elektriksel aktivitesindeki modülatör rolü bilinmektedir. Melatonin verilenlerin elektroensefalogramlarında (EEG) özellikle alfa (α) dalgalarında artış olmaktadır. Pineal bezden melatonin salgılanma ritmi, normal uyku alışkanlığı saatleri ile senkronizedir. Kan melatonin düzeyi, geceleri gündüzdən 10 kez daha yüksektir. Uyku bozukluğu olan yaşlılarda, serum melatonin konsantrasyonu, uyku problemi olmayan aynı yaştakilere oranla daha düşük bulunmuştur. Yetişkinlere oral 5 mg/gün verildiğinde, uykunun REM süresini ve uyku kalitesini artırdığı rapor edilmiştir (51,52). 1-2 mg/gün dozunda, 3 hafta boyunca uykusuzluk problemi olan yaşlılara verildiğinde, uyku süresi ve kalitesinin arttığı görülmüştür. 0.1, 0.3 ve 1 mg/gün dozlarında, gün içi ve akşamları verildiğinde etkili bulunmuş, ancak, sabahları verildiğinde herhangi bir etkisi olmadığı bildirilmiştir (51).

Jet lag, denizaşırı uçak seyahatleri sonrasında, vücut ritminin bozulmasına bağlı olarak gelişen, uykusuzluk ve grip benzeri semptomlarla kendini gösteren bir rahatsızlıktır. Beraberinde, konsantrasyon ve oryantasyon bozukluğu, kan basıncı, kan şekeri, uyanıklık ve hormon düzeylerinde değişiklikler gözlenebilir, Jet lag'de, 5 mg melatonin verilmesi ile erken adaptasyonun sağlandığı, uyku problemi ve diğer semptomlarında hafiflediği gözlenmiştir (21). Bu hastalığın önlenmesi için yolculuk günü ve bunu takip eden 3 gün boyunca kullanılmasını öneren çalışmalar da vardır (1). Deniz tayfaları üzerinde yapılan bir araştırmada 5 mg melatonin verilmesi ile yorgunluk ve uyku bozukluğu gibi belirtilerin çok daha az olduğu ve ekzojen melatonin verilmesinin bu tip seyahatlarda yararlı olabileceği gösterilmiştir (21).

b) Santral Sinir Sistemi (SSS) Üzerine Etkileri:

Son derece lipofilik olan melatoninin sinir hücrelerine geçişinin çok kolay olması nedeniyle, sinir sistemi üzerine olan etkileri oldukça karmaşıktır.

Sinir sonlanmalarından salınan eksitatör nörotransmitterler, serbest radikallerin oluşumunu artırır ve beynin değişik bölgelerindeki dejenerasyonları hızlandırır. SSS'de oluşan bu dejenerasyon, yaş ilerledikçe artar. Bu artış, melatonin seviyesindeki azalmayla ilişkili bulunmuştur (51). Etyolojisinde serbest radikallerin olduğu düşünülen, Alzheimer, Parkinson gibi SSS hastalıklarında, melatonin serbest radikal giderici etkisi nedeniyle yararlı olabileceği belirtilmiştir (51). Depresyonlu hastalarda da, plazma melatonin seviyeleri düşük bulunmuştur. Bu durum, muhtemelen adrenerjik tonustaki azalmaya bağlanmıştır (53).

Sürekli analjezik kullanan hastalarda, geceleri analjezik ihtiyacının azaldığı bildirilmiştir. Bu azalma, geceleri serum melatonin düzeylerindeki artışla koreledir. Analjezik etkisindeki bu günüçi varyasyonlar, pinealektomi yapılan ratlarda ortadan kalkmaktadır. Melatoninin bu etkisinin opioid reseptörleri aracılığıyla olduğu düşünülmektedir (53).

c) Yaşlanma Üzerine Etkileri :

Yaşlanmakla vücudun antioksidan savunma kapasitesi azalmakta ve immün sistem zayıflamaktadır. Pineal bezin bir iç saat olduğunu düşünürsek, üreme yeteneğinin azaldığı dönemde (yaklaşık 45 yaş civarında); bez daha düşük düzeylerde melatonin üretmeye başlayacaktır. Bu sinyal, diğer sistemlere de zamanın geldiğini bildirecek ve yaşlanma ile ilgili süreçler hızlanacaktır.

Serbest radikal hasarının, zaman içinde üst üste eklenerek, yaşlanmanın bazı dejenerasyon bulgularına katkıda bulunabileceği fikri, ilk kez 1956'da Harman tarafından ortaya atılmış ve daha sonraki çalışmalarda, vücutta oluşan serbest radikallerin, yaşlanma ve yaşlanma ile ilgili patolojilerde rolü olduğuna dair önemli bulgular elde edilmiştir (19).

d) Kanser Üzerine Etkileri :

Hayvanlardaki deneysel çalışmalarda, türe bağlı olarak, pinealektominin, tümör oluşumunu artırdığı ve melatonin uygulamasının, karsinogenlerinin neden olduğu tümörogenezisi inhibe ettiği gösterilmiştir (22). İnsanda da çelişkili bilgiler olmakla beraber, çoğunda melatoninin koruyucu rolü olduğu belirtilmiştir. Tümör büyümesini

önleyici mekanizma, tam olarak bilinmemesine rağmen, antiproliferatif özelliğinin etkili olabileceği düşünülmektedir.

Östrojen reseptörü pozitif meme kanserinde, serum melatonin konsantrasyonu düşük bulunmuştur. Melatoninin, meme kanserindeki hücre proliferasyonunu, östrojen aktivitesini ve östrojen cevabını azalttığı gösterilmiştir (23). Prostat kanserinde de, melatonin metabolitlerinin idrarla atılımı azalmıştır (46).

e) İmmün Sistem Üzerine Etkileri :

Melatonin immün cevabı artırır. İmmün yetmezlik durumunda uygulandığında, belirgin immün aktivasyona yol açmaktadır. İmmün parametreler üzerine olumsuz etkileri olduğu bilinen, akut stres ve immünsupresif ajanların uygulanmasıyla oluşan immün yetmezlik tabloları, melatonin ile kontrol altına alınabilmektedir (54).

Melatoninin immünomodülatör etkisi, T-helper lenfositlerden kaynaklanan opioid peptitler, lenfokinler ve hipofizer hormonlar aracılığıyla olmaktadır. Ayrıca, interlökin-2 (özellikle vücudun kansere karşı mücadelesinde önemli rol oynayan T-lenfositlerin yapımını artırır) ve γ -interferon düzeylerinde de belirgin bir artışa neden olur. Melatonin, in vivo antikor cevabını (özellikle IgM ve IgG yi) da artırır (54).

Oral çinko tedavisinin de, benzer şekilde immün yanıtı artırıcı etkisinden söz edilmektedir. Beyinde, çinko açısından en zengin alan, pineal bezdir. Organizmada çinko döngüsü çeşitli hormonlar ve sitokinler tarafından düzenlenmektedir. Melatonin, çinko düzeylerini de etkileyerek, timik fonksiyonları düzenlemektedir (51).

f) İskemi-reperfüzyon Üzerine Etkileri:

Aritmilerin nedeni olarak, iskemideki elektrofizyolojik anormallikler (özellikle, Ca^{++} ve K^+ için iyonik dengesizlik) ve reperfüzyonda aşırı serbest radikal üretimi, geçerli hipotezler olarak kabul edilmektedir. Bu radikaller, membran hasarı, DNA yıkımı, proteaz aktivasyonu, lipid ve protein peroksidasyonu, takiben apoptozis ve nekrozla sonuçlanan hücre ölümü meydana getirmektedirler (55). Melatoninin, birçok biyolojik etkisinin yanısıra, güçlü bir radikal giderici ve antioksidan özelliğinin olması, iskemi-reperfüzyon hasarında etkili bir koruyucu olabileceğini düşündürmektedir.

Beyin iskemi-reperfüzyon modellerinde melatoninin, büyük oranda hasarı azalttığı bir çok çalışmada rapor edilmiştir. İskemi-reperfüzyonda, nitrik oksit (NO)'in hasardan sorumlu bir ajan olduğu düşünülerek yapılan bir çalışmada, beyinde bilateral 10 dakika iskemi, 5 dakika reperfüzyondan sonra, nitrit, nitrat ve cGMP düzeylerinde artış gözlenmiştir. Melatonin uygulaması, bu artışı geri çevirmiştir. İn vitro bir çalışmada da melatoninin, nitrik oksit sentaz (NOS)' ı inhibe ederek, NO'un indüklediği

lipid peroksidasyonunu önlediği gösterilmiştir (56). Pinealektomi yapılan sıçanlarda beyinde iskemi-reperfüzyon sonrası infarkt alanı, normal kontroller ile karşılaştırıldığında, daha yüksek olarak bulunmuş, melatonin uygulaması bunu geri çevirmiştir (25). Bu özelliğinin, iskemi-reperfüzyondaki antioksidatif kapasitesi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. İnsanda da, serum antioksidan kapasitesinin, melatonin düzeyi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (13,48).

g) Seksüel Olgunluk ve Üreme Üzerine Etkileri:

Pineal bez, puberteyi de etkiler. Melatonin seviyesi düştüğünde, hipotalamogonadal sistem aktive olur. Çocukluk ve ergenlik çağı boyunca melatonin sentezi giderek düşüş gösterir. Genç kadınlara, 4 ay 300 mg oral melatonin verildiğinde, luteinize edici hormon (LH) salınımını ve ovulasyonu inhibe ettiği, progesterin uygulamasının bu etkiyi artırdığı gösterilmiştir (24). Overlerin fonksiyonlarını direkt olarak da etkileyebilir. Overlerde granüloza hücre zarında melatonin reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir (24).

Öte yandan, belirli bir yaştan itibaren melatonin düzeyindeki ciddi düşüşün, immün sistemde olduğu gibi, endokrin sistemde de bir zayıflamaya neden olduğu ve buna bağlı olarak, seks hormonu üretiminde azalma sonucu, seksüel performansta düşüş ve cinsiyet organlarında da dejenerasyon geliştiği iddia edilmektedir (19).

h) Antioksidan özelliği:

Melatonin prekürsörü olan triptofan ve 5-OH triptaminin antioksidan aktivitesi bilinmektedir. Bu aktivite, serbest oksijen radikallerini yakalayan moleküldeki indol yapısına dayanır. Melatonin hidrofilik olduğu kadar büyük oranda lipofilik olup organizmanın bütün subsellüler kompartmanlarına ve hücre çekirdeğine ulaşabilir ve kan-beyin bariyeri gibi engelleri de kolayca geçerek geniş bir dağılım göstererek oksidatif koruma sağlayabilir (12,48,49). Melatoninin hücre nükleusuna girerek DNA'yı oksidatif hasardan koruyucu etkisi diğer antioksidanlara göre üstün bir özelliktir. Serbest oksijen radikallerinin yüksek seviyeleri kardiyomiyositlerde kalsiyum pompasının aktivitesini baskılar, melatonin ise bu pompanın aktivitesinde artışa neden olur. Melatonin subsellüler kompartmanlara kolayca girmesine rağmen bilinen bir toksik etkiye sahip değildir. Canlılarda endojen olarak üretilen melatoninin aşırı miktarlarını vücuttan uzaklaştıracak mekanizmalar mevcuttur, insanlara çok yüksek dozlarda (300 mg/gün) ve uzun periyotlarda (5 yıldan fazla) verildiği zaman dahi yan etki oluşturmadığı, bazı antioksidanların kısmen prooksidan etkisi mevcut iken melatoninin böyle bir etkisinin olmadığı bildirilmektedir (48).

Melatoninin antioksidan etkisine en az iki mekanizma aracılık eder. Birinci etkisi reseptörlerden bağımsızdır ve melatoninin toksik radikaller üzerine gösterdiği direkt etkisidir. Antioksidan özelliği, güçlü bir hidroksil ve peroksil radikallerini tutucu aktivitesine dayanır, indol çekirdeğindeki 5 pozisyonunda metil grubunun OH^- soğutma yeteneği için gerekli olduğu ve yan zincirdeki asetil grubunun bir toplayıcı olmamasına rağmen sinerjistik aktivite gösterdiği bir çok araştırmada saptanmıştır (12,49).

İkinci etkisi ise genomdaki reseptörler üzerinedir ve reseptör aracılığı ile radikali detoksifiye eden enzimi ortaya çıkarır. Melatoninin oksidatif hasara karşı koruyucu olan başka bir mekanizması ise nitrik oksit sentetaz'ı inhibisyonudur. Nitrik oksit sentetaz, nitrik asit üretir ve süperoksit anyon varlığında yüksek toksik etkili hidroksi radikale indirgenmektedir (49).

Hidrojen peroksit melatonine bağlı NADPH'ı ile enzimatik nötralizasyonu (pentoz yoluyla aktivasyonu) bu hormonun çeşitlendirilmiş metabolik yolunu tanımlar. Genel olarak melatonin hücreye NADPH'ı vererek eşdeğerlerini azaltıcı etki gösterir. Bu özelliği ile OH^- gibi radikal türleri için bir tuzak oluşturur. Melatonin ve sitozol üzerine gösterdiği etki için ayrıca hücre zarı reseptörüne ihtiyaç duymamaktadır. Oksidatif stres, radikal atak, hücre proliferasyonu, yaşlanma gibi durumlarda melatoninin faaliyeti nükleer düzeylere ulaşmaktadır. Melatonin direkt olarak glutatyon peroksidaz'ı ve G6PD'yi (pentoz yolunda) aktive ederek H_2O_2 nin OH^- a dönüşümünü önler ve indirekt olarakta antioksidan özellik gösterir (13,56).

3. MATERYAL VE METOD

3.1 HAZIRLIK

Bu çalışma, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Çalışmada 150-200 gr ağırlığında, 24 adet Albino tipi dişi rat kullanıldı. Deneysel çalışmadan önce ratlar bir hafta süreyle gözlenerek herhangi bir hastalıkları olup olmadığı saptandı. Çalışmaya alınan ratlar, her grupta 8 adet olmak üzere rastgele üç gruba dağıtıldı. Bütün hayvanlar operasyondan önce ve sonra 12 saat suni aydınlatma 12 saat karanlıkta ve çevre ısı 22 C olacak şekilde korundu, standart rat yemi ve su ile beslendi.

Melatonin : Bu çalışmada kullanılan Melatonin (Melatonin crystalline M 5250, Sigma Chemical Company, Houston, Texas, USA) Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında %99 luk saf alkol içinde çözülerek (400mg/1cc) santrifüj edildikten sonra, %0.9' luk NaCl ilavesi ile %1' lik solüsyon haline getirildi ve her ilaç uygulamasında bu işlem tekrarlandı.

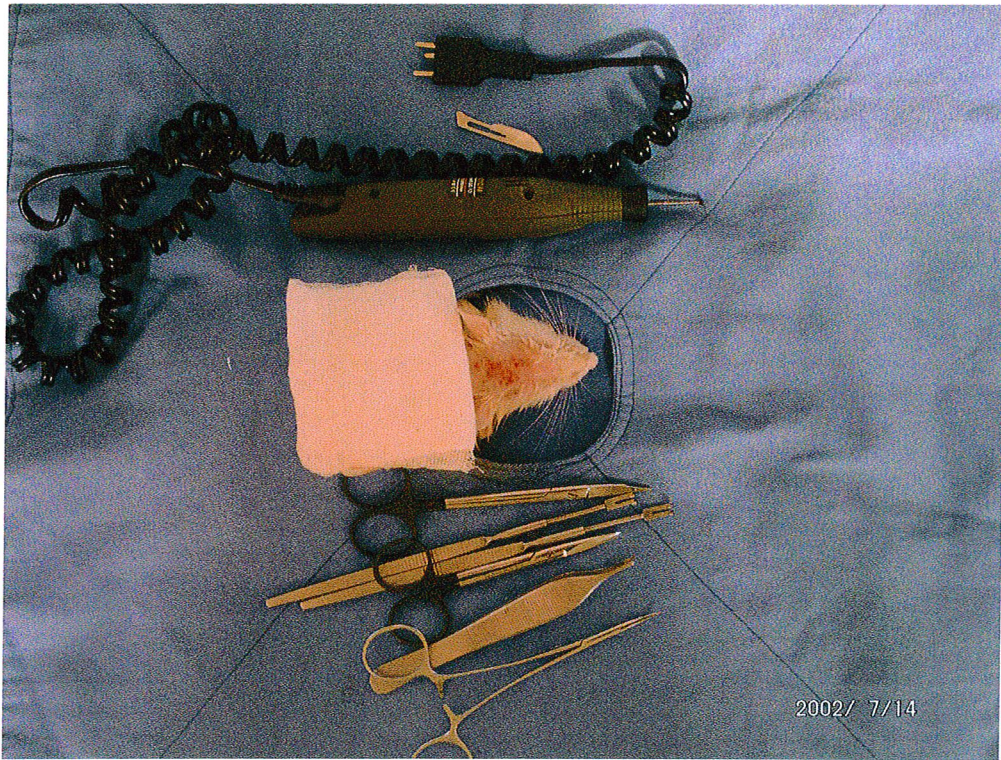
3.2 CERRAHİ TEKNİK

Denekler, bir gece önceden aç bırakıldı. Deneklere Xylocaine (Rhompun®, %2'lik solüsyon Bayer, İstanbul) 10mg/kg ve ketamin hidroklorür (Ketalar®, %5'lik Solüsyon, Parke-Davis lisansı ile Eczacıbaşı İlaç Sanayi, İstanbul) 50mg/kg karıştırılarak intraperitoneal olarak verildi. Çalışmanın tamamı x4 büyütme cerrahi loop altında mikrocerrahi teknik kullanılarak steril ortamda yapıldı.

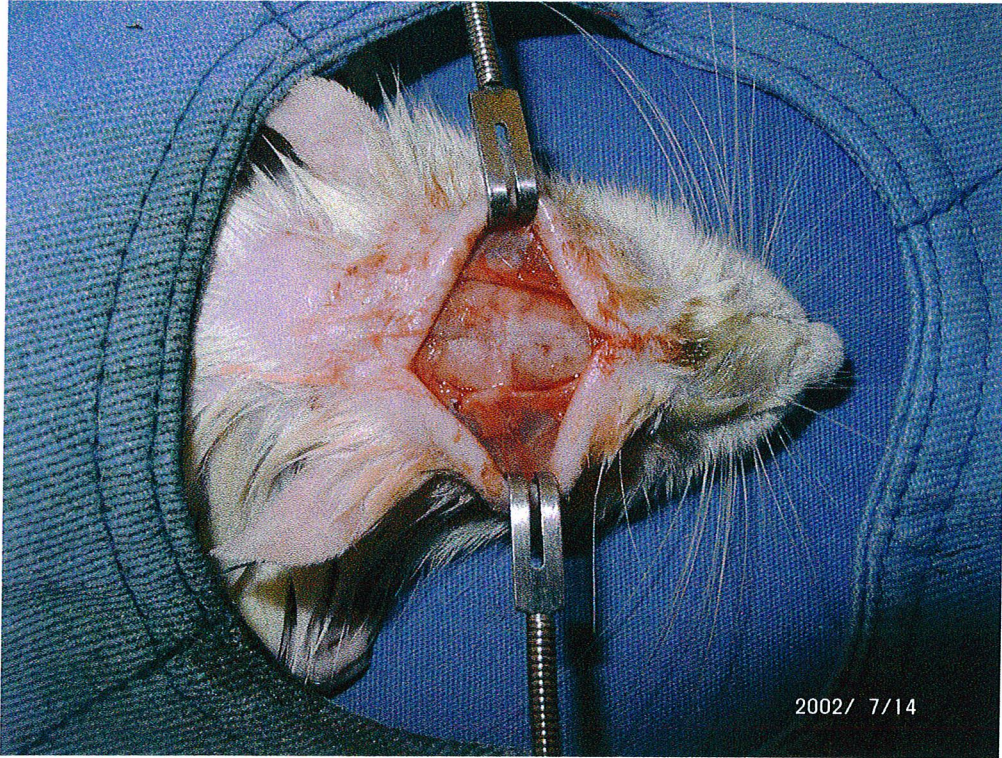
3.2.1 Pinealektomi

Pohlmeyer ve arkadaşlarının (57) tarif ettiği şekilde, anestezili rat yüzüstü yatırılarak dört ayağından operasyon masasına tesbit edildi. Baş ve boynu traş edilerek Polyvinylpyrolidon iyod (polyod® %10'luk solüsyon, DrogSan İlaç Sanayi, Ankara) ile nazikçe silindi ve steril delikli cerrahi örtüyle kapatıldı (Resim 7). Skalp derisine gözlerin hemen arkasından orta hatta 1,5 cm lik insizyon yapıldı. Bu insizyon ile tek hamlede kemiğe ulaşıldı. Kemik üzerindeki periost ve fasya disektörle kenarlara sıyrıldı. Böylece transvers ve süperior sagittal sütürler ortaya konuldu (Resim8). Bu sütürleri içine alacak şekilde 1 cm çaplı kemik daire şeklinde, kemik turu (20000 devir/dakika) yardımıyla kesildi ve duradan nazikçe sıyrılarak çıkarıldı (Resim 9). Bu kemik parçası

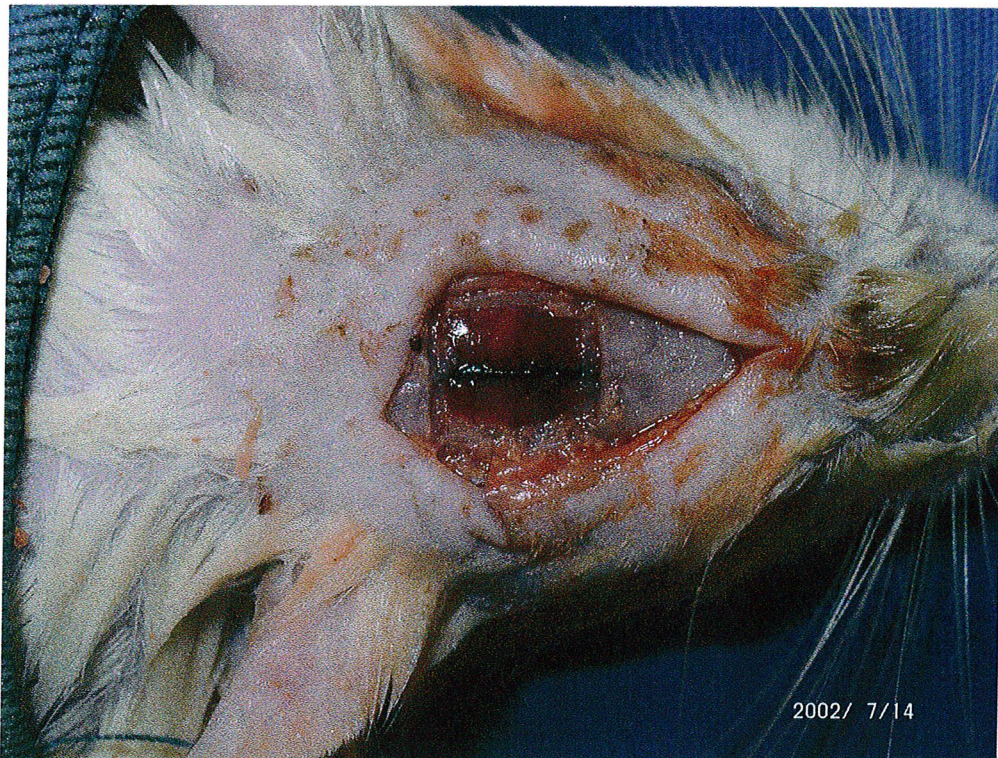
ameliyat sonuna kadar serum fizyolojik içinde saklandı. Süperior sagital sinüsün sağ ve sol yarısında iki logitudinal kesi yapıldı ve bir mikroforseps yardımıyla alttaki sinüs iki taraftan bağlanıp kesildi. Sinüsün posterioru nazikçe kaldırılarak ve pineal gland görünür hale getirildi (Resim10). Yaklaşık olarak 1 mm çapında olan pineal gland bir mikroforseps yardımıyla dışarı alındı (Resim 11). Kaldırılan kemik parçası yerine yerleştirildi ve deri 5/0 ipekle kapatıldı.



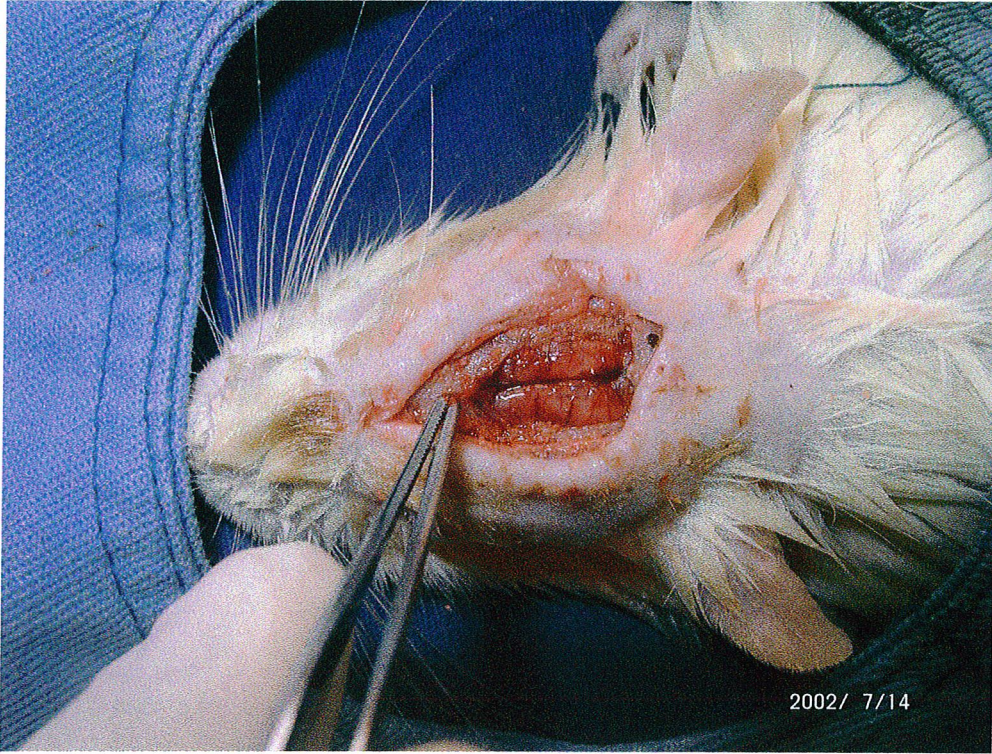
Resim 7: Standart hazırlık



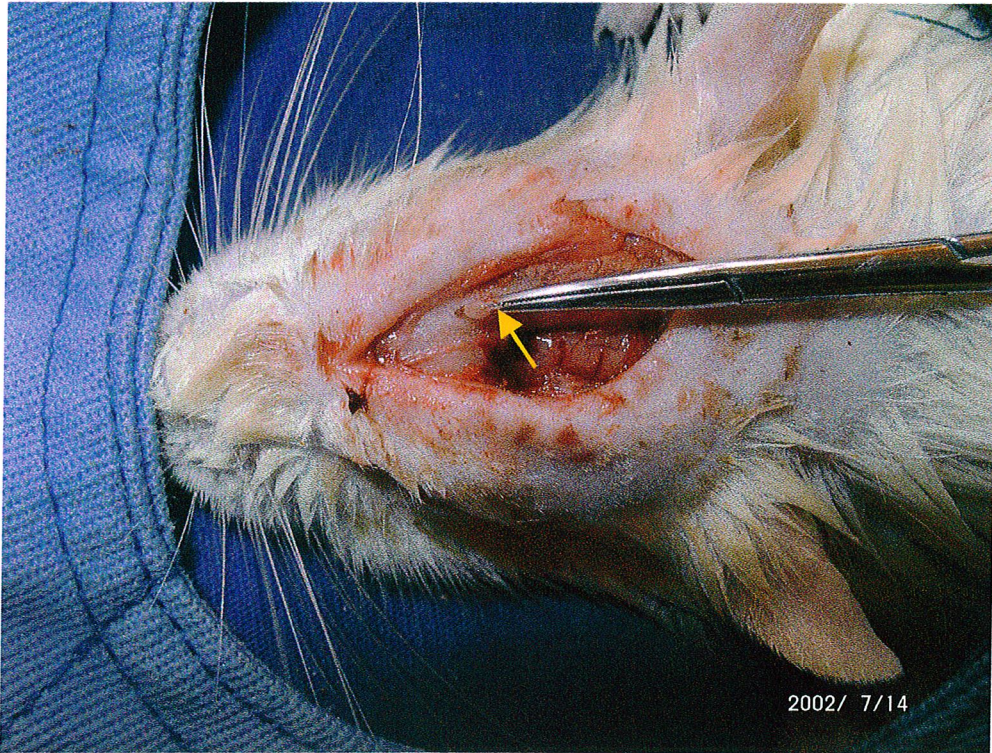
Resim 8: Transvers ve sagital suturların ortaya konması



Resim 9 : Kemik halkanın çıkarılıp sinüslerin ortaya konması



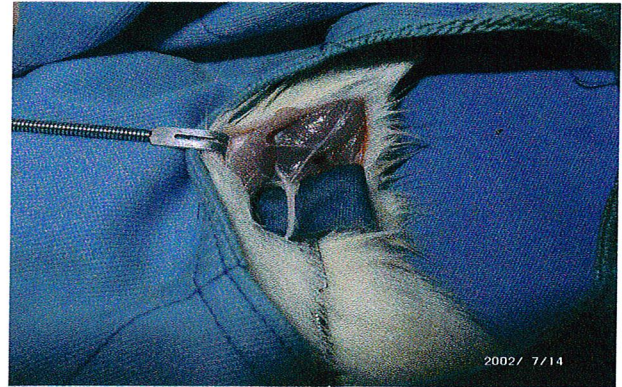
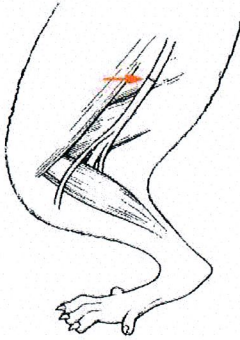
Resim 10: Süperior sagital sinüsün anteriora çekilmesi



Resim 11: Pineal bezin dışarı alınması

3.2.2 Siyatik sinir koaptasyonu

Anestezi altındaki ratlar, prone pozisyonunda, dört ekstremitesinden tespit edilerek sakrum ve sol alt ekstremitesi traş edildi. Polyvinylpyrolidon iyod ile saha temizliği yapıp steril kompreslerle örtüldükten sonra ekstremitenin uzun eksenine paralel deri insizyonu yapıldı. Gluteus maksimus kası femoral kemik kenarından disseke edilerek flep şeklinde kaldırıldı ve hemen altındaki siyatik sinir ortaya kondu. Sinir, vasküler pedikülü hariç çevre dokulardan serbestleştirildikten, tibial ve peroneal dallar birbirinden künt olarak disseke edildikten sonra, sural, peroneal ve tibial sinirlerin trifurkasyonundan 15 mm önce mikromakas ile keskin ve dik olarak kesildi (Resim 12). Kesik sinir uçları 8/0 atravmatik naylon suture materyali ile altı adet epinöral suture yöntemiyle uç-uca koapte edildi. Çalışma sırasında cerrahi ortamın kurumaması için sinirin üzerine % 0.9 NaCl solusyonu aralıklı olarak uygulandı. Operasyonun sonunda deri altı dokuları 5/0 krome katküt ile tek tek, deri ise 5/0 prolene ile subkutikuler olarak kapatıldı.



Resim (12) : Cerrahi yöntem. Sol siyatik sinir ve kasa giden dalları künt olarak disseke edildi ve açığa çıkarıldı. Sol siyatik sinir sural, peroneal ve tibial sinirlerin oluşturduğu trifurkasyondan 15 mm önce keskin ve dik olarak kesildi. Kesik sinir epinöral suturelerle uç-uca hemen onarıldı.

3.3. GRUPLAR

Birinci Grup : Pinealektomi yapıldı ve aynı seansta siyatik sinir kesilerek yeniden dikildi. Sinir koaptasyonundan sonra 0.5 ml %0.9 NaCl intraperitoneal enjekte edildi. Bu uygulamaya her sabah saat 10 – 11 arasında 21 gün boyunca devam edildi .

İkinci Grup : Pinealektomi yapılmaksızın kafatası açılıp tekrar kapatıldı (sham operasyon) ve aynı seansta siyatik sinir kesilerek yeniden dikildi. Sinir koaptasyonundan hemen sonra 10 mg/kg dozunda %1'lik 0.5 ml melatonin intraperitoneal enjekte edildi (50). Bu uygulamaya her sabah saat 10 – 11 arasında 21 gün boyunca devam edildi.

Üçüncü Grup : Pinealektomi yapılmaksızın kafatası açılıp tekrar kapatıldı ve aynı seansta siyatik sinir kesilerek yeniden dikildi. Sinir koaptasyonundan sonra 0.5 ml % 0.9 NaCl intraperitoneal enjekte edildi. Bu uygulamaya her sabah saat 10 – 11 arasında 21 gün boyunca devam edildi.

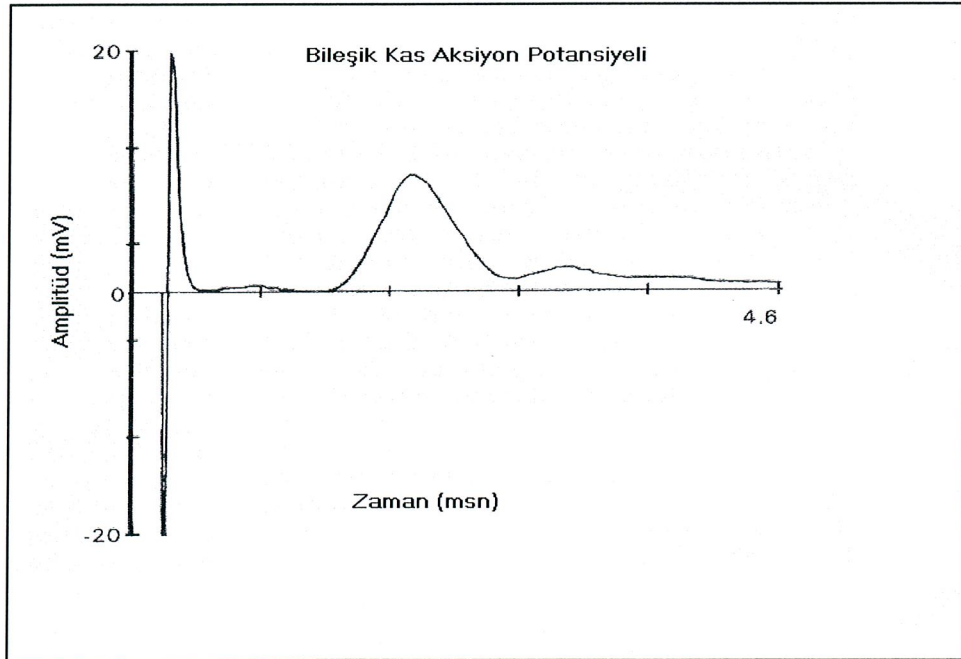
3.4. DEĞERLENDİRME

3.4.1. Elektrofizyolojik değerlendirme

Her bir denekte *bileşik kas aksiyon potansiyeli* (BKAP) ölçüldü. Elektrofizyolojik kayıtlar MEDTRONIC Keypoint® Version 9031 A0024 cihazı ve Keypoint Ver 3.00 yazılımı ile alındı (Resim13). Siyatik sinir uyarımı için, aralarında 5 mm uzaklık olan silikon materyal içine gömülerek uçlarındaki 2 mm'lik kısımları dışında izole edilmiş, bipolar tungsten metal elektrotlar, katod distale gelecek şekilde sinirin üzerine yerleştirildi. Kayıtlar, aktif elektrot gastroknemius kasının tam üzerine gelecek şekilde, tüyleri tıraş edilmiş deri üzerine, referans elektrot ise aynı kasın tendonu üzerine yerleştirilmiş, Ag/AgCl'den yapılan, 0.5 cm çapında yüzeyel elektrotlarla alındı. Topraklama elektrodu ise tüyleri tıraş edilmiş kuyruk üzerine yerleştirildi. En düşük amplitüde uyarıyla alınan en yüksek cevap kaydedildi. Uyarılar filtre band aralığı 3Hz-10KHz, 0.1 msn'lik akımla verildi. Elde edilen bileşik kas aksiyon potansiyelinin bazal çizgiden ilk yukarı sapmasının olduğu yer latans (ms) olarak değerlendirildi. Bileşik kas aksiyon potansiyelinin amplitüdü (mV), süresi (ms) ve alanı (mVms) değerlendirmeye alındı (Resim 14).



Resim 13: Medtronic Keypoint EMG Cihazı (58)

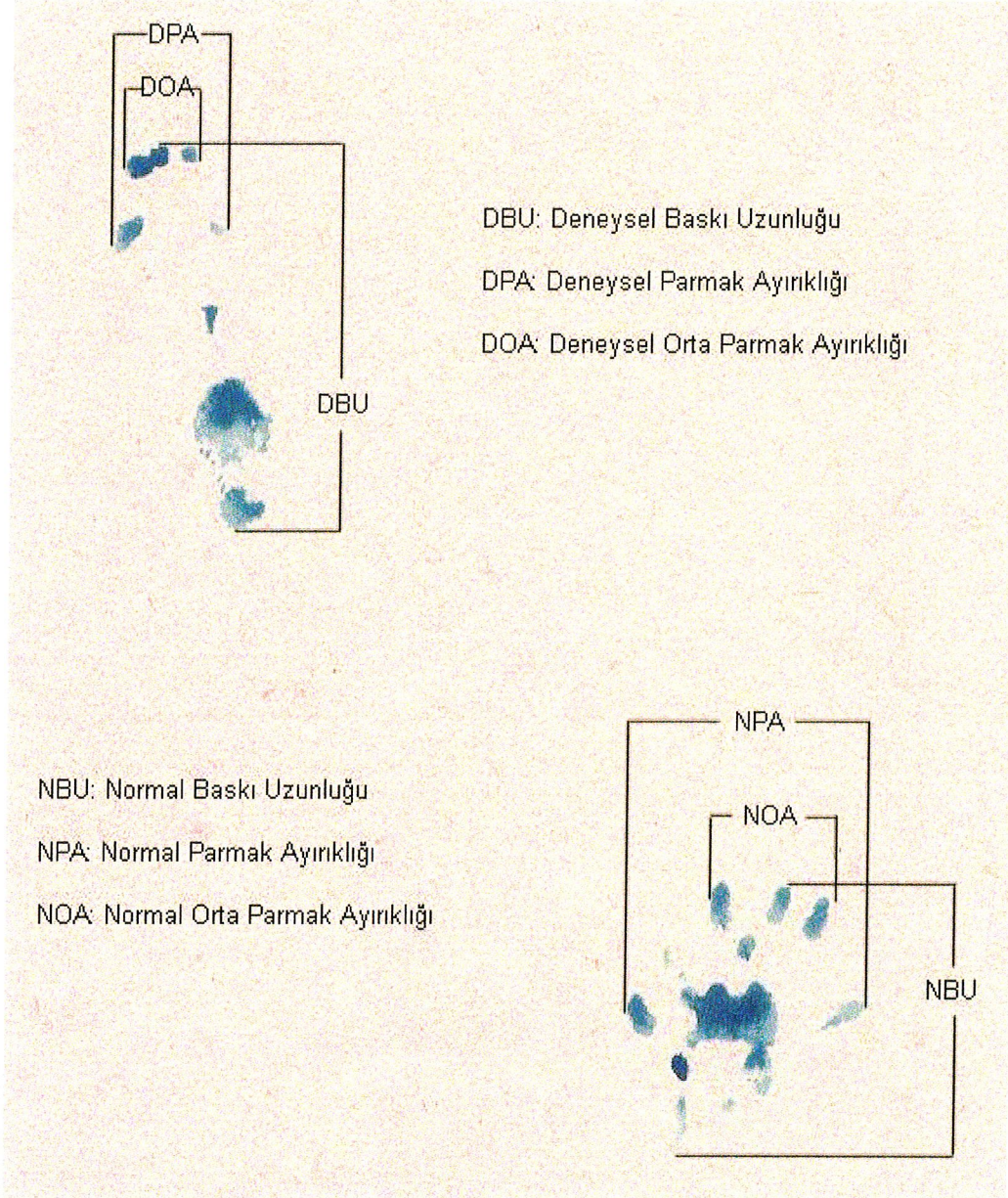


Resim 14: Normal BKAP ölçümü (58)

3.4.2. Fonksiyonel Değerlendirme

Walking track (yürüme şablonu) analizi

Tüm deneklere ameliyat sonrası, sakrifiye edilene kadar 4 ve 12. haftalarda bir yürüme şablonu analizleri yapıldı. Başka çalışmalarda da tarif edildiği şekilde ratlar, 10x10x100 cm boyutlarında bir ucu kapalı ve karanlık bir koridorda, koridor tabanına her hayvan için ayrı emici kağıt yerleştirildikten sonra, her iki ayağı metilen mavisine batırıldıktan sonra yürütüldü (59-64). Kağıt üzerinde oluşan ayak izlerinden ölçümler yapıldı (Resim 15).



Resim15 : Yürüme şablonu (64)

Siyatik sinir lezyonu olan sıçandan elde edilen tipik yürüme şablonu. Normal taraf (sağ= kontrol) ve sinir onarımı yapılan deney tarafında (sol=cerrahi işlem) yapılan ölçümler görülmekte.

Baskı uzunluğu (BU) : topuktan 3. parmağa kadar olan uzaklık,

Parmak ayırıklığı (PA) : 1. ve 5. parmak arasındaki uzaklık,

Orta parmak ayırıklığı (OA) : 2. ve 4. parmak arasındaki uzaklık, her sıçanda deneysel (DBU, DPA, DOA) ve kontrol (NBU, NPA, NOA) taraflarda cetvelle ölçüldü (Resim 15). Her üç ölçüm için, normal (sağ bacak) ve deney sonrası (sol bacak) değerler arasındaki farkın normal değerlere bölünmesi ile bir faktör oluşturuldu.

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

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

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

Bu faktörler daha sonra Bain-Mackinnon-Hunter (BMH) siyatik fonksiyon indeksinin (SFİ) hesaplanmasında kullanıldı (30).

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

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

3.4.3. Histolojik Değerlendirme

Elektrofizyolojik çalışmaların tamamlanmasından sonra siyatik çentikten popliteal fossaya kadar uzanan siyatik sinir, onarım hattı ve çevresindeki dokuyu içerecek şekilde çıkarıldı. Daha sonra deneklerin tamamı intrakardiyal yüksek doz tiopental sodyum (Penthotal Sodium ® , ampul 0.5 g, Abbott) verilerek sakrifiye edildi.

Alınan doku %10' luk formalin ile fikse edildikten sonra alkol solusyonları ile dehidrate edilerek parafine yerleştirildi. Onarım hattının 0.5 cm proksimalinden ve 0.5 cm distalinden transvers, onarım hattından longitudinal olarak 5 mm kalınlığında alınan kesitler hematoxilen ve eosin ile boyandı. onarım hattından alınan kesitler, kollajene bakmak için ayrıca 'Masson trichrome' ile boyandı.

3.5. İSTATİSTİK YÖNTEMİ

Veriler Windows 98 işletim sisteminde SPSS for Windows Release 11.0. istatistik programında non-parametrik testlerden “Mann Whitney U Testi” kullanılarak değerlendirildi.

4.BULGULAR

4.1.ELEKTROFİZYOLOJİK BULGULAR

Bütün deneklerin siyatik sinirleri kesilmeden önce bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitüdü, latansı ve sinir ileti hızı kaydedildikten sonra yapılan istatistiki karşılatırmada grup içinde homojen oldukları gözlendi (Tablo 1). Bütün gruplarda latansın uzadığı amplitüd ve hızın düştüğü saptandı.

Tablo1: Grupların elektrofizyolojik ölçüm sonuçları. P: Pinealektomi , M: Melatonin, K: Kontrol.

	Denek	Siyatik sinir kesi öncesi			Onarım sonrası 12. hafta		
		P	M	K	P	M	K
Latans (msn)	1	1.08	.83	.75	1.67	.83	1.58
	2	1.08	1.00	1.08	1.25	1.00	1.25
	3	1.08	.83	1.25	1.42	1.00	1.42
	4	.92	.83	.83	1.08	1.33	1.17
	5	1.33	.83	1.08	1.58	1.00	2.00
	6	.75	.83	.92	1.08	.83	1.00
	7	1.17	1.08	1.00	1.33	1.33	1.92
	8	.83	.92	1.25	1.08	1.08	1.25
Amplitüd (mV)	1	67.10	41.50	42.70	13.40	39.50	20.30
	2	36.00	41.70	27.90	26.20	31.80	26.20
	3	45.20	67.00	34.30	21.40	54.20	23.70
	4	52.50	42.90	67.40	21.10	36.50	30.00
	5	54.10	55.70	45.80	17.70	39.50	18.00
	6	36.50	64.60	60.80	27.90	45.80	35.80
	7	16.70	54.50	20.10	13.40	37.70	8.90
	8	30.90	14.20	57.30	20.10	13.40	1.60
% Amplitüd	1	-	-	-	-80.03	-4.82	-52.46
	2	-	-	-	-27.22	-23.74	-6.09
	3	-	-	-	-52.65	-19.10	-30.90
	4	-	-	-	-59.81	-14.92	-55.49
	5	-	-	-	-67.28	-29.08	-60.70
	6	-	-	-	-23.56	-29.10	-41.12
	7	-	-	-	-19.76	-30.83	-55.72
	8	-	-	-	-34.95	-5.63	-97.21
Sinir ileti hızı (m/sn)	1	40.00	58.80	40.00	4.00	40.00	23.80
	2	40.00	62.50	58.80	23.80	58.80	40.00
	3	40.00	58.80	58.80	12.80	58.80	40.00
	4	62.50	58.80	58.80	20.00	40.00	24.40
	5	58.80	58.80	58.80	30.30	40.00	33.30
	6	58.80	58.80	62.50	29.40	40.00	40.00
	7	62.50	58.80	58.80	50.70	40.00	35.70
	8	40.00	62.50	58.80	20.00	58.80	23.80

Grup I:

Cerrahi işleme başlamadan önce sol siyatik sinirin bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitüdü, latansı, sinir ileti hızı kaydedildi. Kesi öncesi latansı ortalama 1.03 ± 0.18 msn bulundu. Onarımdan 12 hafta sonra ise ortalama 1.31 ± 0.23 msn olarak bulundu. Kesi öncesi amplitüd 42.37 ± 15.70 mV, onarımdan 12 hafta sonra ise ortalama 20.15 ± 5.29 mV olarak değerlendirildi. Bu değerler amplitüdeki $\% 45.66\pm 22.39$ düşüşü gösteriyordu. Kesi öncesi sinir ileti hızı 50.32 ± 11.12 msn onarımdan 12 hafta sonra ise ortalama 23.87 ± 13.83 msn olarak ölçüldü (Tablo 2).

Tablo 2: Grup I'e ait kesi öncesi ve onarımdan 12 hafta sonra siyatik sinirden ölçülen elektro fizyolojik değerler

Grup I (n=8)	Siyatik sinir kesi öncesi (ortalama)	Onarımdan 12 hafta sonra (ortalama)
Latans (msn)	1.03 ± 0.18	1.31 ± 0.23
Amplitüd (mV)	42.37 ± 15.70	20.15 ± 5.29
% Amplitüd	$\% - 45.66\pm 22.39$	
Sinir İleti Hızı (msn)	50.32 ± 11.12	23.87 ± 13.83

Grup II:

Cerrahi işleme başlamadan önce sol siyatik sinir bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitüdü, latansı, sinir ileti hızı kaydedildi. Kesi öncesi latansı ortalama 0.89 ± 0.10 msn bulundu. Onarımdan 12 hafta sonra ise ortalama 1.05 ± 0.19 msn olarak bulundu. Kesi öncesi amplitüd 47.76 ± 16.85 mV, onarımdan 12 hafta sonra ise ortalama 37.30 ± 11.77 mV olarak ölçüldü. Buna göre amplitüde $\% 19.65\pm 10.41$ düşüş gözlemlendi. Kesi öncesi sinir ileti hızı 59.72 ± 1.71 msn, onarımdan 12 hafta sonra ise ortalama 47.05 ± 9.72 msn olarak saptandı. (Tablo 3).

Tablo 3: Grup II'ye ait kesi öncesi ve onarımdan 12 hafta sonra siyatik sinirden ölçülen elektrofizyolojik değerler.

GrupII (n=8)	Siyatik sinir kesi öncesi (ortalama)	Onarımdan 12 hafta sonra (ortalama)
Latans (msn)	0.89±0.10	1.05±0.19
Amplitüd (mV)	47.76±16.85	37.30±11.77
% Amplitüd	19.65±10.41	
Sinir İleti Hızı (msn)	59.72±1.71	47.05±9.72

Grup III:

Cerrahi işleme başlamadan önce sol siyatik sinire diğer gruplara uygulanan işlemler uygulandı. Kesi öncesi latansı ortalama 1.02 ± 0.18 msn bulundu. Onarımdan 12 hafta sonra ise ortalama 1.45 ± 0.36 msn olarak bulundu. Kesi öncesi amplitüd 44.53 ± 16.62 mV, onarımdan 12 hafta sonra ise ortalama 20.56 ± 11.12 mV olarak değerlendirildi. Amplitüde % 49.96 ± 26.14 düşüş saptandı. Kesi öncesi sinir ileti hızı 56.91 ± 6.96 msn onarımdan 12 hafta sonra ise ortalama 32.62 ± 7.52 msn olarak belirlendi (Tablo 4).

Tablo 4: Grup III'ye ait kesi öncesi ve onarımdan 12 hafta sonra siyatik sinirden ölçülen elektro fizyolojik değerler

GrupIII (n=8)	Siyatik sinir kesi öncesi (ortalama)	Onarımdan 12 hafta sonra (ortalama)
Latans (msn)	1.02±0.18	1.45±0.36
Amplitüd (mV)	44.53±16.62	20.56±11.12
% Amplitüd	49.96±26.14	
Sinir İleti Hızı (msn)	56.91±6.96	32.62±7.52

4.2. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Elde edilen elektrofizyolojik veriler, bilgisayarda SPSS paket programında non parametrik testlerden Mann-Whitney U ile karşılaştırıldı (Tablo 5). Değerlerin $p<0.05$ 'den küçük olanları anlamlı kabul edildi. Siyatik sinir kesisinden önce grupların latans, amplitüd, amplitüd düşüş yüzdesi ve sinir ileti hızında istatistiksel fark bulunamadı ($p>0.05$). Onarımdan 12 hafta sonra pinealektomili ve kontrol grubu arasında, latans, amplitüd, amplitüd düşüş yüzdesi ve sinir ileti hızında anlamlı fark gözlenmezken ($p>0.05$), melatonin verilen grup ile pinealektomili grup arasında latans, amplitüd, amplitüd düşüş yüzdesi ve sinir ileti hızında melatonin verilen grup lehine istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildi ($p<0.05$). Yine melatonin verilen grup ile kontrol grubu arasında latans, amplitüd, amplitüd düşüş yüzdesi ve sinir ileti hızında melatonin verilen grup lehine istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildi ($p<0.05$).

Tablo 5: Elektrofizyolojik sonuçların istatistiksel analizi (Mann-Whitney U). P: Pinealektomi, M: Melatonin, K: Kontrol.

GrupI-II-III (N=24)		Siyatik Sinir Kesi Öncesi p değerleri	Onarımdan 12 hafta sonra p değerleri
Latans (msn)	P-M	p= 0.110	p= 0.022
	P-K	p= 0.873	p= 0.526
	M-K	p= 0.143	p= 0.023
Amplitüd (mV)	P-M	p= 0.400	p= 0.008
	P-K	p= 0.753	p= 0.713
	M-K	p= 0.834	p= 0.009
% Amplitüd	P-M	p= 0.027	
	P-K	p= 0.753	
	M-K	p= 0.006	
Sinir İleti Hızı (msn)	P-M	p= 0.170	p= 0.004
	P-K	p= 0.423	p= 0.072
	M-K	p= 0.332	p= 0.006

4.3. FONKSİYONEL İNCELEME

Dördüncü haftada teorik olarak tam fonksiyon kaybını gösteren -100 değerine yakın olan pinealektomi grubundaki siyatik fonksiyonel indeks (SFİ) $(-86.58+2.84)$, melatonin grubundaki SFİ $(-83.25+3.15)$ ve kontrol grubundaki SFİ $(-85.95+1.27)$ değerleri çalışma süresince düzelerek normal fonksiyonu gösteren 0 değerine yaklaştı ve 12. haftada pinealektomi grubundaki SFİ $(-68.11+2.21)$, melatonin grubundaki SFİ $(-59.83+2.90)$ ve kontrol grubundaki SFİ $(-68.28+2.61)$ düzeylerine geldi (Tablo 6).

Tablo 6: Yürüme analizi sonuçları

Denek No	4.hafta			12. hafta		
	Pinealektomi	Melatonin	Kontrol	Pinealektomi	Melatonin	Kontrol
1	-86.4	-82.4	-83.8	-69.3	-60.2	-68.8
2	-82.3	-84.9	-86.8	-66.4	-60.2	-67.9
3	84.7	-85.6	-87.3	-67.3	-61.8	-69.5
4	-87.5	-80.6	-85.5	-69.8	-58.2	-64.8
5	-87.7	-77.3	-86.7	-68.5	-53.4	-65.4
6	-92.2	-84.8	-84.5	-71.3	-61.9	-68.4
7	-86.3	-83.2	-85.9	-68.2	-60.7	-73.3
8	-85.5	-87.2	-87.1	-64.1	-62.2	-68.2
Ortalama	-86.58±2.84	-83.25±3.15	-85.95±1.27	-68.11±2.21	-59.83±2.90	-68.28±2.61

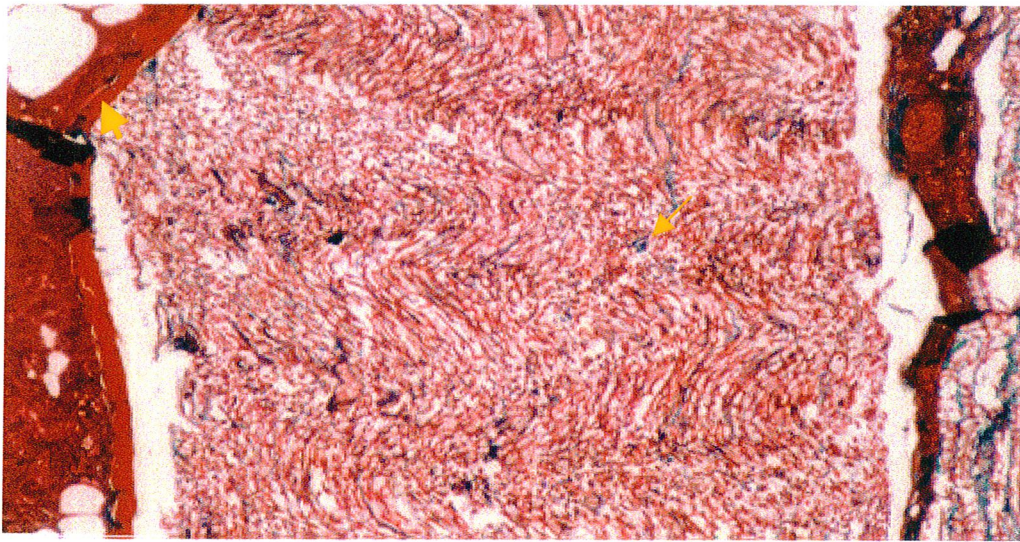
Siyatik sinir onarımından 4 hafta sonra ölçülen SFİ değerlerinin Mann-Whitney U testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmesinde, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$). Siyatik sinir onarımından 12 hafta sonra ölçülen SFİ değerleri arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada, pinealektomi grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark yokken ($p>0.05$), melatonin grubunun hem pinealektomili hemde kontrol grubuyla karşılaştırılmasında anlamlı fark bulundu ($p<0.05$) (Tablo 7).

Tablo 7: SFİ sonuçların istatistiksel analizi (Mann-Whitney U). P: Pinealektomi, M: Melatonin, K: Kontrol.

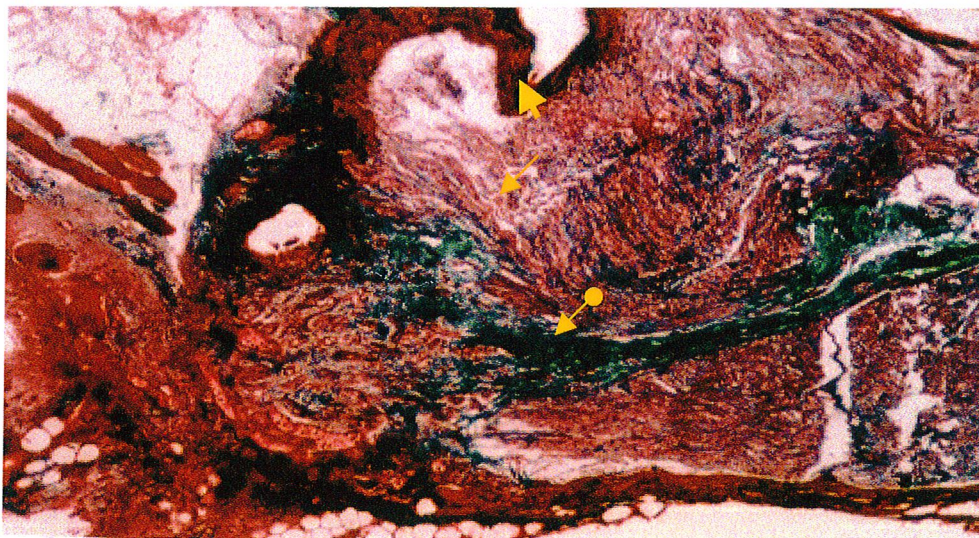
Grup I-II-III (N=24)	Siyatik sinir kesi öncesi p değerleri	Onarımdan 12 hafta sonra p değerleri
P-M	p= 0.059	p= 0.001
P-K	p= 0.636	p= 0.958
M-K	p= 0.059	p= 0.001

4.4 HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME :

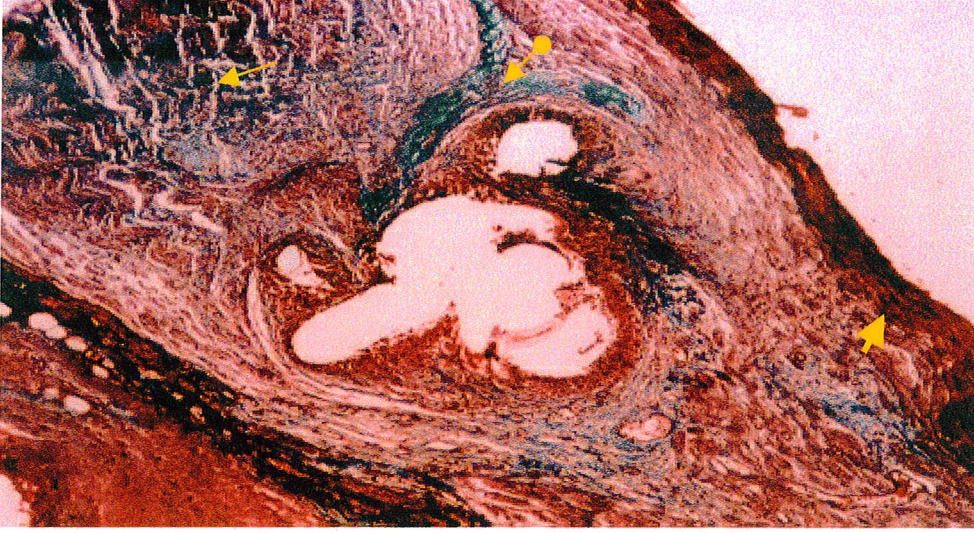
Onarım hattındaki kesitlerin Masson trichrome boyama yapılarak normal siyatik sinire göre (Resim 16) değerlendirilmesinde pinealektomi grubunda, kötü organize bir onarım alanı, ekstrasiküler bağ dokusunun (epinörium) diğer gruplara göre çapının arttığı ve içeriye doğru taşmış olduğu gözlemlendi. Yine endonöral kollajenin ileri derecede artmış olduğu gözlemlendi (Resim 17). Kontrol grubunda pinealektomi grubuna göre daha az olmak üzere, endonöral kollajende ve epinörium kalınlığında artış tesbit edildi (Resim 18). Melatonin grubunda ise diğer gruplara göre, epinörium daha ince, endonöral kollajenin daha az ve organizasyonun daha iyi olduğu gözlemlendi (Resim 19).



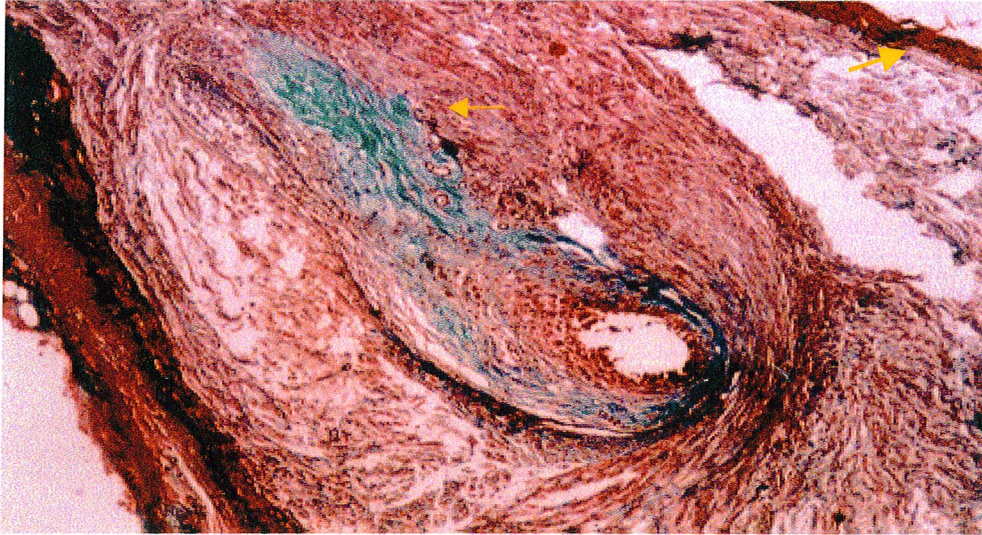
Resim 16: Normal siyatik sinir görünümü (masson trichrome X200). Endonöral kollajen (sarı ok), epinörium (kalın ok)



Resim 17: Pinealektomi grubu denek 5 (masson trichrome X200). Endonöral kollajen (sarı ok), doku içine taşmış ekstrasiküler bağ dokusu (topuzlu ok), epinörium (kalın ok)



Resim 18: Kontrol grubu denek 5 (masson trichrome X200). Endonöral kollajen (sarı ok), doku içine taşmış ekstrasfasiküler bağ dokusu (topuzlu ok), epinörium (kalın ok)

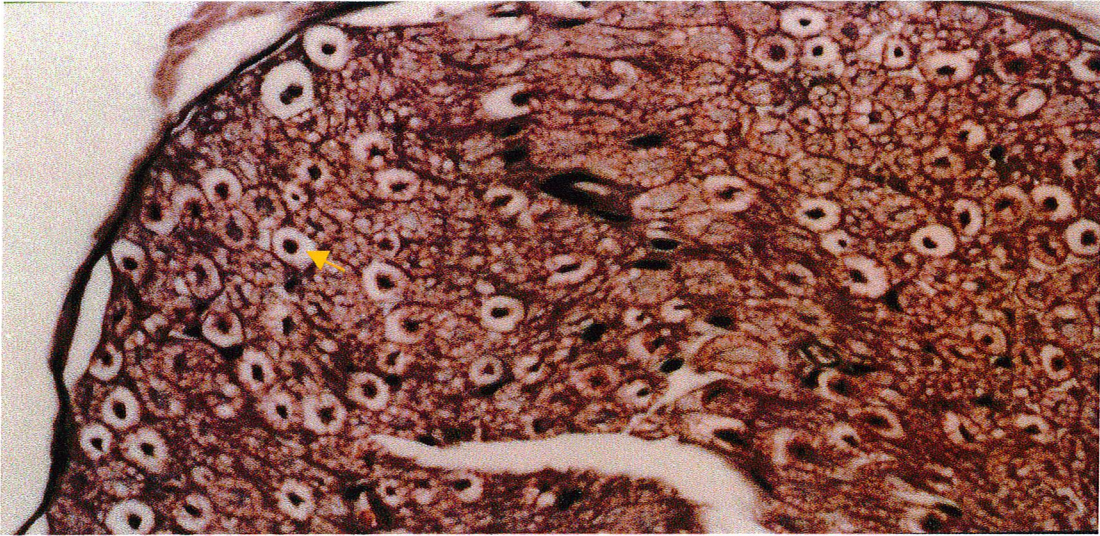


Resim19 : Melatonin grubu denek 5 (masson trichrome X200). Endonöral kollajen (sarı ok), epinörium (kalın ok)

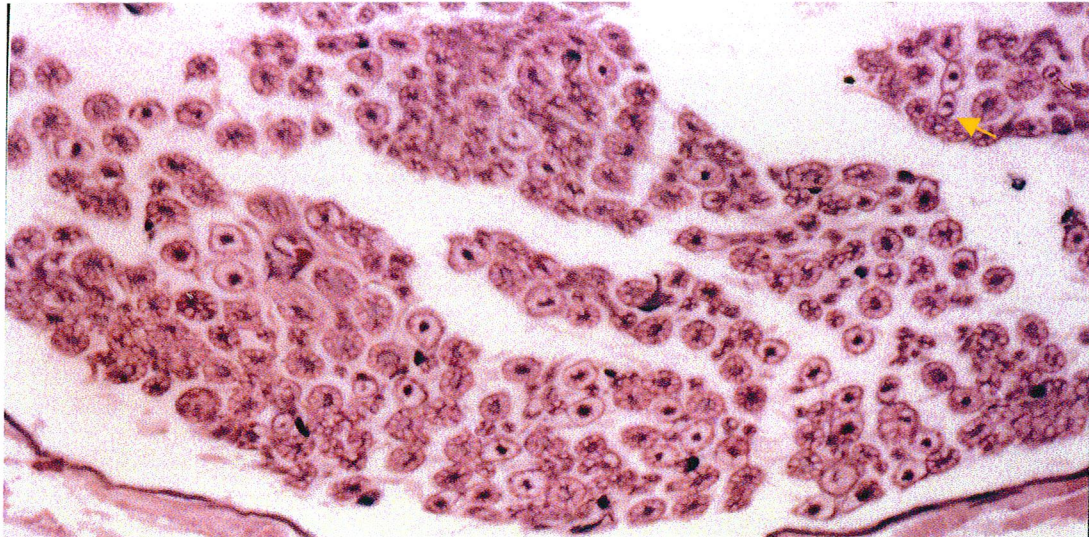
Sütür hattı distalindeki kesitlerin hemotoksilen eozinle boyanarak yapılan incelemesinde, pinealektomi grubunda akson sayısında ileri derecede azalma ve hiperkromatik boyanmış demiyelinize aksonlar gözlenmiştir (Resim 20).

Kontrol grubunda ise yine akson sayısında azalma ve demiyelinize aksonlar izlenmiştir (Resim 21).

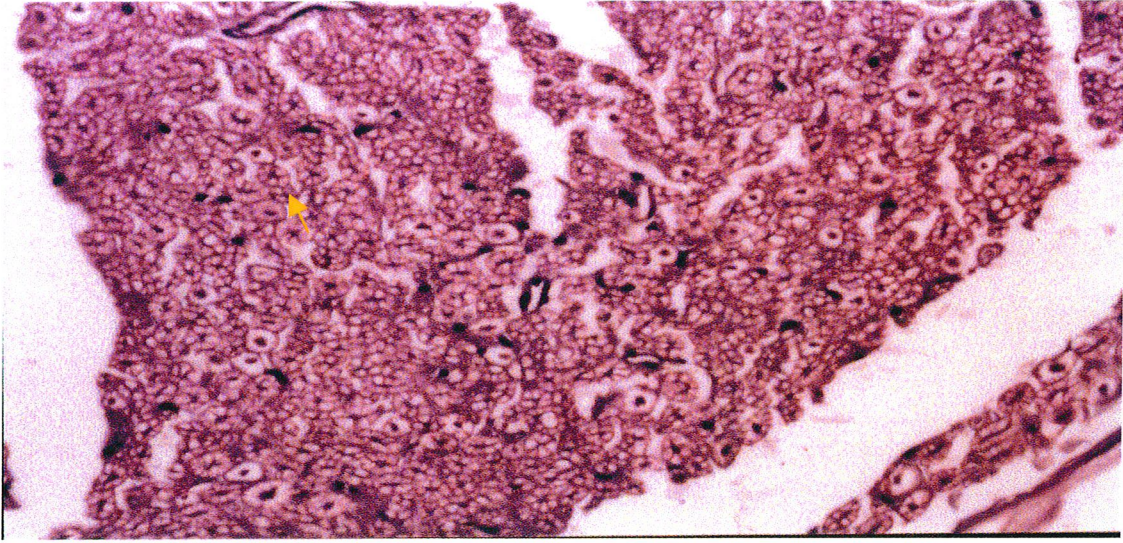
Melatonin grubunda ise, akson sayısında azalmanın ve demiyelinize aksonların diğer gruplara göre daha az sayıda olduğu ve fiberlerin iyi organizasyon gösterdikleri gözlenmiştir (Resim 22).



Resim 20: Pinealektomi grubu denek 1 (H&E X 400). Hiperkromatik boyanmış demiyelinize akson (sarı ok)



Resim 21 : Kontrol grubu denek 1 (H&E X 400). Hiperkromatik boyanmış demiyelinize akson (sarı ok)



Resim 22 : Melatonin grubu denek 1 (H&E X 400). Daha iyi organize olmuş fiberlerin yanında yer yer demiyelinize aksonlar (sarı ok)

5.TARTIŞMA :

Periferik sinirin aksonal devamlılığını kesintiye uğratan yaralanmalarda dejenerasyon oluşur. Yaralanan sinirin distal ucunda gözlenen wallerian dejenerasyon, aksonal ayrılma noktasından, sinirin sonlandığı noktaya kadar akson ve çevreleyen myelinin parçalanması ile oluşur.

Aksonal kesintinin proksimalinde ise akson, son korunan internoda kadar sınırlı bir dejenerasyona uğrar. Sinir rejenerasyonu, proksimal güdükten dışa büyüme şeklinde olur ve bu olay dejenere distal sinirin otorejenerasyonu şeklinde değildir. Yirmidört saate kadar değişebilen bir süre sonrasında proksimal kesik akson ucu büyüme konisi şeklinde bir çıkıntı yapar. İleriye doğru büyüme, akson ucundan proksimale doğru birkaç segmentlik Ranvier boğumundan ve büyüme konisinden dalların filizlenmesiyle birlikte uç kısmın ilerlemesiyle oluşur. Yirmidört saatin sonunda birkaç filiz yaralanma alanına ulaşır. Proksimal güdükten dışarı aksonal filizlenmeye, terminal uydu hücrelerden köken alan schwann hücreleri eşlik eder (2,18).

Hedef organla bir filiz bağlantı kurduğunda, diğer filizler dejenere olur ve tek bir akson olgunlaşır. Bu tek akson proksimalden distale Schwann hücreleriyle sarılır, ve sadece birkaç aksonun eski endonöral tabakaya girdiği görülür. Rejenere filizler, yeni schwann hücre ara yüzeyi boyunca ilerlerler (3).

Erişkinlerde aksonal filizler distal endonöral tüpe ulaştığında büyüme birçok faktöre bağlı olarak günde 1 ile 2 mm arasında devam eder. Onarım yapılmış sinirin proksimal ve distal uçları arasında skar oluşumu, aksonun ileriye doğru büyümesini fiziksel olarak engeller ve sinir büyüme konisinin dallanmasına, ayrılmasına, geriye dönmesine veya sonlanmasına neden olur (2).

Çalışmamızda onarılmış periferik sinirlerin rejenerasyon sürecini olumsuz etkileyebilecek metabolik olayları azaltmayı hedefledik.

Üç gruba ayrılan denekler, periferik sinir onarımından önce elektrofizyolojik, onarımdan 4 hafta sonra fonksiyonel, onarımdan 12 hafta sonra elektrofizyolojik, fonksiyonel ve histopatolojik olarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar nonparametrik Mann-Whitney U testi kullanılarak istatistiksel anlam araştırıldı.

Elektrofizyolojik olarak; onarımdan önce üç grup arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0.05$). Sinir onarımından 12 hafta sonra, pinealektomize ve kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlı fark yokken ($p>0.05$), melatonin verilen grup ile,

pinealektomize ve kontrol grubu arasında latans, amplitüd, amplitüd düşüş yüzdesi ve sinir ileti hızında melatonin verilen grup lehine istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildi ($p<0.05$).

Yürüme analizi yapılarak fonksiyonel incelemeye tabi tutulan sıçanlarda, onarımdan 4 hafta sonra istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0.05$). Onarımdan 12 hafta sonra pinealektomize ve kontrol grubu arasında istatistiksel fark tesbit edilememesine rağmen ($p>0.05$), sinir iyileşmesinin fonksiyonel olarak pinealektomize ve kontrol grubuna göre melatonin grubunda anlamlı derecede daha iyi olduğu saptandı ($p<0.05$).

İndirgenmiş glutatyon, E vitamini, C vitamini, β karoten ve melatonin gibi endojen ve eksojen kaynaklı maddeler antioksidan savunma sisteminin nonenzimatik bileşenleridir. Melatonin bilinen antioksidanlar içinde en güçlüsüdür (13,19,48,49). Pieri ve arkadaşları (25) 1994 yılında, peroksil radikalinin melatonin tarafından tutulmasını araştırmış, vitamin E ve vitamin C ile elde edilen sonuçlarla kıyaslamışlar; melatoninin, peroksil radikale karşı en etkili antioksidan olarak bilinen E vitamininden iki kat daha etkili olduğunu saptamışlardır. Son yapılan çalışmalarda melatoninin oksidatif stresle ilişkili olduğu, hem direkt radikal giderici hemde indirekt olarak antioksidan özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Serbest radikal giderici olarak yüksek derecede lipofilik özelliğe sahip olması melatoninin en önemli özelliği olması yanında, serbest radikal giderici etkisi için herhangi bir bağlanma bölgesine ve reseptöre ihtiyaç duymaması da diğer önemli özelliklerindedir (12,13,19,48,56).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, travma veya nörodejeneratif hastalıklarda artmış olan eksitatör aminoasitler ve serbest oksijen radikallerinin nöron rejenerasyonu üzerine olumsuz etkileri ortaya konmuştur(7-9,50,65-67). Periferik sinirler travmatik, iatrojenik veya başka nedenlerle kesildiklerinde, sinir onarımı yapılsa bile, kollateraller gelişene kadar intranöral mikrosirkülasyonun bozulması nedeniyle, onarım hattında iskemi oluşmaktadır. İskemi sırasında, sitozolde kalsiyum iyonunun artması, hücre şişmesi ve toksik etkili oksijen radikallerinin oluşumu ile nöral doku harabiyeti meydana gelmektedir (10,15).

Kılıç ve arkadaşlarının yaptıkları bir deneysel çalışmada, iskemi ve reperfüzyon üzerinde pinealektomi ve melatoninin etkisini araştırmışlar, ratların beyindeki infarkt volümünün melatonin verilen gruplarda diğerlerine oranla anlamlı derecede az olduğunu saptamışlardır (25).

Ratlarda oluşturulan kafa travması modeliyle yapılan çalışmalarda, SSS'de oluşan sekonder hasarın, normal ve pinealektomize deneklerdeki seyri incelenmiştir.

Normal deneklere göre, pinealektomize deneklerdeki nöronal dejenerasyon, daha şiddetli olmaktadır. Her iki grupta da, posttravmatik erken dönemlerde verilen melatonin ile dejenerasyonun şiddetinin azaltılabildiği gösterilmiştir (40).

Diabetik ratlarda α -tokoferolün da duyuşal ve motor ileti defektinin gelişimini önlediği ve sinir hasarındaki regeneratif cevapta olumlu etkileri olduğunu gösterilmiştir (66). Mekanizma tam olarak açıklanamamakla birlikte bu etki serbest oksijen radikallerinin baskılanmasına bağlıdır. Ancak, antioksidanların endonöronal kan akımını arttırdığı gösterilmiştir. Ortamda bulunan serbest oksijen radikalleri, nitrik oksit yıkımını artırarak nitrik oksit düzeyini azaltır ve buna bağlı olarak siniri besleyen vasküler yatakta vazokonstriksiyon sonucu sinir beslenmesi bozulur. Antioksidanların bu olumsuz etkiyi geri çevirerek, serbest oksijen radikallerinin, schwann hücreleri ve nöronlar üzerinde yaptığı hasarı önlemede koruyucu rol oynadığı belirtilmiştir (66).

Kalsiyumun travma sonrası nöronal homeostazisin sağlanmasında önemli bir rolü vardır. Ekstrasellüler Ca^{++} aktivitesi intrasellüler aktivitenin yaklaşık 1000 katı kadardır. Bu yüzden nöronların içine hasar sonrası kolaylıkla girebilir. Hücre içi kalsiyumun artmasının proteolitik enzimleri aktive ederek, nörofilament ve mikrotübülleri de kapsayan hücre yapı taşlarının yıkımına sebep olur. Ca^{++} mitokondrilerdeki elektron transpot zinciri (ETZ) fonksiyonlarını bozarak serbest radikalleri, potent vazojenik ve inflamatuvar maddeleri açığa çıkarır. Bu olay kan akımını azaltarak, membranın Ca^{++} ve diğer iyonlara olan geçirgenliğini dahada artırır (68,69).

Nöronal gelişimin ve aksonal büyümenin düzenlenmesinde, uygun hücre içi kalsiyum düzeyinin deneysel olarak oluşturulan lezyonlarda sinir iyileşmesi için temel etken olduğu anlaşılmıştır (14). Başka bir çalışmada, oksijen ve glikoz yokluğunda hücre ölümünün kalsiyumun hücre tarafından alınmasına bağlı olduğu gösterilmiştir (15).

Kalsiyum kanal blokerlerinin fasial sinir kesisini takiben motor nöronların canlılığını artırdığı ve fasial sinir anastomozunu takiben aksonal tomurcuklanmayı artırdığı gösterilmiştir (16,17,70). Başka bir çalışmada ise, kalsium kanal blokerlerinin hipoglossal sinirle fasial sinir arasında yapılan anastomoz sonrası hipoglossal motor nöron aksonlarının fasial sinire doğru tomurcuklanmasını hızlandırdığı gösterilmiştir (71).

Ratlarda yapılan bir çalışmada epinöral vazokonstriktör ajan uygulanmasıyla ortaya çıkan segmental vazokonstriksiyon ve endonöral iskeminin önceden intraperitoneal kalsiyum kanal blokerleri verilerek önenebileceği belirtilmiştir (68).

Melatoninin kalsiyum üzerine olan etkisini araştıran Vanecek, yaptığı çalışmada, GnRH'nın hipofiz üzerinde intrasellüler kaynaklardan kalsiyum mobilizasyonuna etki edip, membran potansiyelinde oluşan siklik değişiklikler sonucu kalsiyum hücre içine girmesini sağlayarak LH salınımını regüle ettiğini belirtmiştir. Bu aşamada verilen melatonin ise plazma membranında hiperpolarizasyona neden olarak kalsiyumun hücre içine girişini engeller. Ayrıca bu çalışmada kalsiyum kanal blokerleriyle, melatoninin kalsiyum üzerine olan etkisi taklit edilmiştir. Melatonin voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının permabilitesini etkileyerek kalsiyumun hücre içine göçünü önler. Bu etkiyi cAMP bağımlı kinaz üzerinden fosforilasyon ve defosforilasyon statüsünü değiştirerek yapar (44,72).

Piezzi ve arkadaşları bir çalışmada, siyatik sinir içinde bulunan ve sinaptik veziküllerin üretiminden sorumlu mikrotübüllerin üzerine soğuğun ve melatoninin etkisini araştırmışlardır. Mikrotübüller, ısı ve pH gibi çevresel faktörlerden çabuk etkilenen endoplazmik retikulumun bir parçası olan organellerdir. Deney hayvanlarının siyatik sinirleri soğutulularak yapılan incelemede, mikrotubullerin entegrasyonunun bozulduğunu, bu olumsuz etkinin melatonin verilen hayvanlarda daha düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Melatoninin bu olumlu etkisini, aksoplazmaya olan kalsiyum girişini regüle ederek ve soğutulduktan sonra ısıtılan siyatik sinirlerdeki mikrotubul bağımlı mitotik aparatın aktivitesini artırarak sağladığını düşünmüşlerdir (73).

Rodriguez ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, soğutulduktan sonra tekrar ısıtılan siyatik sinir mikrotubuler repolimerizasyonu ve normal elektriksel aktiviteye dönüşümünün kolşisin ile inhibe edildiğini göstermişlerdir. Melatonin ve kolşisin verilen grupta ise melatonin kolşisin ile yarışarak mikrotubulleri korumuştur.

Yaralanmış olan periferik sinirin rejenerasyonunu ve klinik sonuçları etkileyen olaylardan biride, yara iyileşmesinin kaçınılmaz sonucu olarak kontrol dışı gelişen, onarım alanındaki skar oluşumudur (18). Periferik sinir yaralanmasını takiben oluşan epinöral skar, mekanik bir engel oluşturarak aksonların distal sinir güdüğündeki uygun fasiküllere doğru filizlenmesini güçleştirir ve iletim bloğuna yol açar (6). Bu nedenle epinöral ve ektranöral skar oluşumunun azaltılması, cerrahi girişimin başarısını artırmaktadır.

Weichselbaum ve arkadaşları (74), farelerde pinealektominin yara iyileşmesini yavaşlattığı ve bu etkinin melatonin tedavisiyle giderildiğini ileri sürdüler.

Bu çalışmaya karşılık Drobnik ve arkadaşları (75), yaptıkları çalışmada; pinealektominin skar dokusunda hem total hemde çözünmeyen kollogen miktarını artırdığını, 30 $\mu\text{g}/100$

gr dozunda uygulanan melatoninin, sağlam ve pinealektomize sıçanlarda total ve çözünmeyen kollajen miktarını azalttığını göstermişlerdir.

Yine sıçanlarda pinealektomi ve barsak anastomozu yapılan yapılan bir çalışmada, cilt kesisi ve barsak anastomozu hattında kontrol grubuna göre anlamlı derecede kollajen artışı olduğunu, dışarıdan verilen melatoninin ise kollajen sentezini azaltarak bu etkiyi geriye çevirdiği saptanmıştır (76).

Bizim çalışmamızda da melatonin verilen grupta, kontrol ve pinealektomize gruba göre histolojik olarak epinöral ve extranöral kollajen miktarının daha az olduğunu belirledik. Melatoninin, onarım alanındaki kollajen miktarını azaltarak, yaralanmış sinirde aksonların, distal sinir güdüğündeki fasiküllere doğru filizlenmesini olumlu yönde etkilediğini düşünmekteyiz.

Periferik sinir iyileşmesi üzerine melatoninin olumlu etkisinin, güçlü bir antioksidan olması, yaralanma sonrası hücre içinde kalsiyumun kontrolsüz birikmesini önlemesi, endonöral ve ektranöral skar oluşumunu engellemesine bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Kontrol ve pinealektomi gruplarının sinir iyileşmesi açısından karşılaştırılmasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Bunun nedeninin pineal bez dışında başka anatomik bölgelerde de melatonin üretilebilmesi (19,44,46) olduğunu düşünüyöruz..

Melatoninin periferik sinir iyileşmesi üzerine olumlu etkide bulunduğu gözlenmiştir. Ancak bu olumlu etkilerinin geniş olarak ortaya konulması için, kontrollü deneysel ve klinik çalışmalara gerek olduğu düşüncesindeyiz.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER:

Periferik sinir yaralanmalarının tedavisi günümüzde hala araştırma konusu olmaya devam etmektedir. Günümüzde tedavi sonuçlarını daha kabul edilebilir hale getirmek için deneysel cerrahi teknik ve farmakolojik ajan uygulamaları devam etmektedir. Bu çalışmada, santral sinir sistemi rejenerasyonu üzerine olumlu etkileri olduğu bilinen ancak periferik sinir sistemi rejenerasyonu üzerine etkisi henüz araştırılmamış olan melatonin kullanılmıştır.

Çalışma, pinealektomi yapılan, melatonin tedavisi uygulanan ve kontrol olmak üzere üç grup kullanıldı ve gruplar, fonksiyonel, histopatolojik ve elektrofizyolojik olarak karşılaştırıldı.

Melatonin grubunun periferik sinir iyileşmesini diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede olumlu yönde etkilediği saptandı ($p<0.05$). Periferik sinir iyileşmesi üzerinde, pinealektomi ve kontrol grubu arasında istatistiksel farklılık yoktu ($p>0.05$). Buda pineal bez dışında değişik anatomik bölgelerde melatonin üretiliyor olmasına bağlandı.

Sonuç olarak melatonin periferik sinir iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğu düşünülmektedir. Melatoninin periferik sinirler üzerine olan bu etkisinin, deneysel ve klinik karşılaştırmalı çalışmalar yapılarak ortaya konulması gerektiği sonucuna varıldı.

7. ÖZET

Periferik sinir yaralanmaları ve onarımları günümüzde halen önemli bir sorun olarak devam etmektedir. Yaralanmadan sonraki rejenerasyon süreci içinde bir çok toksik metabolik olay oluşmakta ve iyi bir cerrahi onarıma rağmen aksonal dejenerasyon gelişerek tam bir fonksiyonel sonuç elde edilememektedir. Deneysel olarak periferik sinir cerrahisinde fonksiyonel sonucu olumlu etkileyecek bazı farmakolojik ajanlar kullanılmıştır. Pineal bezden salgılanan ve bilinen en güçlü antioksidan madde olan melatonin etkisi, santral sinir sisteminde çalışılmış ancak periferik sinirler üzerinde halen çalışılmamıştır. Melatoninin, sirkadian ritimler, uyku, ruhsal durum, üreme, tümör gelişimi ve yaşlanma gibi birçok olayın biyolojik regülasyonundaki rolüne ait bir çok çalışma vardır.

Bu deneysel çalışmada pinealektominin ve farmakolojik dozda verilen melatoninin, siyatik sinir rejenerasyonuna olan etkisi araştırılmıştır. Çalışma üç gruba ayrıldı ve her birinde sekiz adet Wistar-albino rat kullanıldı.

1. Grup : Pinealektomi yapıldı ve aynı seansta siyatik sinir kesilerek yeniden dikildi. Sinir koaptasyonundan sonra 0.5 ml % 0.9 NaCl intraperitoneal enjekte edildi.

2. Grup : Pinealektomi yapılmaksızın kafatası açılıp tekrar kapatıldı (sham operasyon) ve aynı seansta siyatik sinir kesilerek yeniden dikildi. Sinir koaptasyonundan hemen sonra 10 mg / kg dozunda % 1' lik 0.5 ml melatonin intraperitoneal enjekte edildi .

3. Grup : Pinealektomi yapmaksızın kafatası açılıp tekrar kapatıldı ve aynı seansta siyatik sinir kesilerek yeniden dikildi. Sinir koaptasyonundan sonra 0.5 ml % 0.9 NaCl intraperitoneal enjekte edildi.

Her grupta sinir iyileşmesi elektrofizyolojik, fonksiyonel ve histopatolojik olarak değerlendirildi. Siyatik sinir onarımından 4 hafta sonra ölçülen siyatik fonksiyon indeksi (SFİ) değerlerinin, gruplar arasında istatistiki anlam taşımadığı tesbit edildi ($p > 0.05$). Siyatik sinir onarımından 12 hafta sonra ölçülen SFİ değerleri arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada, pinealektomi grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$), ancak melatonin grubunun hem pinealektomili hemde kontrol grubuyla karşılaştırılmasında anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$). Onarımdan 12 hafta sonra yapılan elektrofizyolojik değerlendirmede, pinealektomili ve kontrol grubu arasında, anlamlı fark gözlenmezken ($p > 0.05$), melatonin verilen grup ile pinealektomili grup arasında melatonin verilen grup lehine istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildi ($p < 0.05$).

Yine melatonin verilen grup ile kontrol grubu arasında melatonin verilen grup lehine istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildi ($p<0.05$).

Kontrol ve pinealektomi gruplarının sinir iyileşmesi açısından karşılaştırılmasında anlamlı fark gözlenmedi. Bunun nedeninin pineal bez dışında başka anatomik bölgelerde de melatonin yapılabilmesine bağlı olduğu düşünüldü.

Sonuç olarak melatonin periferik sinir iyileşmesi üzerine olumlu etkiler yapmakta olduğu düşünülmektedir. Ancak melatoninin yine sinir iyileşmesi üzerine olumlu etkilerinin olduğu iyi bilinen değişik ajanlar ile karşılaştırılmasında sonra klinik çalışmaların başlanabilmesi mümkün olabilir.

8. SUMMARY :

Peripheral nerve injuries and their management have been a major problem. Numerous toxic metabolites that come out during regeneration period after the injury can negatively impact on the functional outcome by causing axonal degeneration despite proper surgical treatment. Some pharmacological agents have been used experimentally in an attempt to improve the functional outcome after surgical repair of the peripheral nerve. The influence of melatonin, the most potent antioxidant secreted from the pineal gland, on the central nervous system has been searched though its impact on the peripheral nerves remains unknown. There are evidences that melatonin is involved in the regulation of a variety of biologic events like circadian rhythm, sleep, mood, reproduction, tumour promotion and aging

In this experimental study, the influence of pinealectomy and administration of pharmacological doses of melatonin on regeneration of the sciatic nerve was investigated.

Group 1: Pinealectomy was performed with simultaneous sciatic nerve sectioning and re-suturing. The peritoneum was injected with 0.5 ml 0.9 % NaCl after coadaptation of the nerve. This procedure was repeated at 10 or 11 am for 21 days.

Group 2. The skull was opened and closed, and pinealectomy was not performed (Sham operation). Sectioning and re-suturing of the sciatic nerve was also performed simultaneously. The peritoneum was injected with 1% 0.5 ml melatonin at the dose of 10 mg/kg after coadaptation of the nerve. This procedure was repeated at 10 or 11 am for 21 days.

Group 3. The skull was opened and closed, and pinealectomy was not performed. Sectioning and re-suturing of the sciatic nerve was also performed simultaneously. The peritoneum was injected with 0.5 ml 0.9% NaCl after coadaptation of the nerve. This procedure was repeated at 10 or 11 am for 21 days.

In each group, the nerve recovery was assessed using electrophysiologic, functional and histopathologic options. The sciatic function index (SFI) values that were estimated four weeks after the sciatic nerve repair were not significantly different between the groups ($p>0.05$). According to the SFI values that were compared 12 weeks after the nerve repair, there was no significant difference between the pinealectomy and control group ($p>0.05$). However, there was a significant difference between the melatonin group and pinealectomy and control groups ($p<0.05$). The electrophysiologic assessment performed 12 weeks after the nerve repair revealed that the results of

pinealectomy and control groups were similar ($p>0.05$) while there was a significant difference between melatonin and pinealectomy groups as the result of melatonin group was better ($p>0.05$). In addition to that the result of melatonin group was significantly better than the control group ($p<0.05$).

There was no significant difference between the control and pinealectomy groups regarding the regeneration of the nerve. This condition might have resulted from the production of melatonin by some sources other than the pineal gland.

In conclusion, it was considered that melatonin is likely to be involved in the peripheral nerve recovery. Further clinical trails may be performed by comparing the effect of melatonin with another substance which is known to be involved in peripheral nerve recovery.

9. KAYNAKLAR :

1. Brushart TM. Nerve repair and grafting. In: Green DP Operative Hand Surgery, Churchill Livingstone Inc. Fourth Ed. Vol 2, 1998; 1381-1403
2. Terzis JK, Smith KL: Repair and grafting of the peripheral nerve. In: Mc Carthy JG (Ed.) : Plastic surgery, W.B. Saunders Co. Vol 1, 1990; 630-697
3. Millesi H, Meissl G, Berger A. The interfascicular nerve grefting of the median and ulnar nerves. *J Bone Joint Surg* 1972; 54A, 727
4. Lundborg G. Nerve regeneration and repair; a review. *Acta Orthop Scand* 1987; 58: 145-169
5. Watanebe O, Mackinnon SE, Tarasidis G, Hunter DA, Ball DJ. Long-term observation of the effect of peripheral nerve injury in neonatal and young rats. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102(6):2072-81
6. Madison RD, Archibald SJ, Krarup C. Peripheral nerve injury. Wound healing, Biochemical & Clinical Aspestes Ed: Cohen IK, Diegelmann RF, Lirdblad WI. 1992;450-487
7. Cecchini T, Cuppini R, Ciaroni S, Barili P, De Matteis R, Del Grande P. Changes in the number of primary sensory neurons in normal and vitamin-E-deficient rats during aging. *Somatosens. Mot. Res* 1995; 12(3-4):317-27
8. Cecchini T, Cuppini R, Ciaroni S, De Matteis R, Del Grande P. Increased number of sciatic sensory neurons in vitamin-E-deficient rats. *Somatosens. Mot. Res* 1994; 11(3):269-78
9. Cuppini R, Cecchini T, Ciaroni S, Ambrogini P, Del Grande P. Nodal and terminal sprouting by regenerating nerve in vitamin E-deficient rats. *J Neurol Sci* 1993; 117(1-2):61-7
10. Taylor GI, Ham F. The free vascularized nerve graft. A furter experimental and clinical application of microvascular techniques. *Plast Recons Surg* 1976; 57: 413
11. Myers RR, Yamamoto T, Yaksh TL, Powell HC. The role of focal nerve ischemia and Wallerian degeneration in peripheral nerve injury producing hyperesthesia. *Anesthesiology* 1993; 78: 308-316
12. Princ FG, Maxit AG, Cardalda C, Batlle A, Juknat AA. In vivo protection by melatonin against δ -aminolevulinic acid-induced oxidative damage and its antioksidant effect on the activity of heam enzymes. *J Pineal Res* 1998; 24 : 1-8
13. Sewerynek E, Abe M, Reiter RJ, Barlow RL, Chen L, McCabe T, Roman JL, Diaz-Lopez B. Melatonin administration prevents lipopolysaccharide-induced oxidative damage in phenobarbital –treated animals. *J cell biochem* 1995; 58: 436-444

14. Kater SB, Mills LR. Regulation of growth cone behavior by calcium. *The Journal of Neuroscience* 1991; 11: 891-899
15. Stys PK, Ransom BR, Waxman SG. Effects of polyvalent cations and dihydropyridine calcium channel blockers on recovery of CNS white matter from anoxia. *Neuroscience Letters* 1990; 115: 293-299
16. Neis WF, Angelov DN, Stennert E. Nimodipine accelerates the sprouting of axotomized motor neurons following hypoglossal- facial anastomosis in the rat. 2nd international neurotrauma symposium, Glasgow, Scotland 1993
17. Angelov DN, Neis WF, Streppel M, Andermahr J, Mader K and Stennert E. Nimodipine accelerates axonal sprouting after surgical repair of rat facial nerve. *J neuroscience* 1996; 16 (3) :1041-1048
18. Sunderland S. *Nerves and Nerve injuries*, 2d ed. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1978; 133-141
19. Brzezinski A: Mechanisms of disease: Melatonin in humans. *N England J Med* 1997; 336(3) :186-95
20. Sack RL, Lewy AJ, Hughes RJ. Use of melatonin for sleep and circadian rhythm disorders. *Ann Med* 1998; 30(1):115-21
21. Petrie K, Dawson AG, Thompson L. A double-blind trial of melatonin as a treatment for jet lag in international cabin crew. *Bio Psych* 1993; 33: 526-530
22. Tamarkin L, Cohen M, Roselle D, Reichert C, Lippman M, Chabner B. Melatonin inhibition and pinealectomy enhancement of 7,12-demethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumors in the rat. *Cancer Res* 1981; 41: 4432-6
23. Bartsch C, Bartsch H, Fuchs U, Lippert T, Bellman O, Gupta D. Stage dependent depression of melatonin in patients with primary breast cancer: Correlation with prolactin, thyroid stimulating hormone and steroid receptor. *Cancer* 1989; 64: 426-33
24. Voordouw BCG, Euser R, Verdonk RER. Melatonin and melatonin progestin combinations alter pituitary-ovarian function in women and can inhibit ovulation. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 108-17
25. Kılıç E, Özdemir Y, Bolay H, Keleştimur H, Dalkara T. *J Cerebral Blood Flow Met* 1999; Vol. 19 No: 5
26. Sunderland S. The history of nerve repair In: *Nerve Injuries and Their Repair. A Critical Appraisal*. Churchill Livingstone Inc pp. 1991; 361-377
27. Seddon HJ . Three types of nerve injury. *Brain* 1943; 66: 237-288
28. Sunderland S, Ray LJ. Denervation changes in mammalian striated muscle. *J Neurol Neurosurg. Psychiatr* 1950; 13: 159

29. Thomas PK, Ochoa J. Microscopic anatomy of peripheral nerve fibers. *Peripheral neuropathy*. Philadelphia, Saunders Co pp. 1984; 39-96
30. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO: Sinir dokusu. *Basic Histology*, seventh Ed. Appleton&Lange. 1993'de Temel Histoloji adı altında çeviri Ed: Aytakin Y, Seyhan Solakoğlu, Bölüm Çevireni: Erdoğan D, Barış Kitabevi, İstanbul, 1992; Bölüm:9, s. 197-230
31. Lundborg G. Structure and function of the intraneural microvessels as related to trauma, edema formation, and nerve function. *J Bone Joint Surg* 1975; 57A:938
32. Sunderland S. The connective tissues of peripheral nerve. *Brain* 1965; 88: 841
33. Lundborg G, Ryedevik B. Effects of stretching the tibial of the rabbit. A preliminary study of the intraneural circulation and the barrier function of the perineurium. *J Bone Joint Surg* 1973; 55 B: 390
34. Lundborg G, Longo FM, Varon S. Nerve regeneration model and trophic factors in vivo. *Brain Res* 1982; 232: 157
35. Yorulmaz İ. Sinir hasarının fizyopatolojisi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ders Notları : 1998
36. Komiyama A, Novicki DL, Suzuki K. Adhesion and proliferation are enhanced in vitro in Schwann cells from nerve undergoing Wallerian degeneration. *J Neurosci Res* 1991; 29: 308-318
37. Lin KY, Posnick JC, Al-Qattan MM, Vajsar J, Becker LE. Fetal nerve healing; an experimental study. *Plast Reconstr Surg* 1994; 93: 1323-1333
38. Lundborg G, Longo FM, Varon S. Nerve regeneration model and trophic factors in vivo. *Brain Res* 1982; 232: 157
39. Catharina EEM Van der Zee CEEM, Brakkee JH, Gispen WH. Putative neurotrophic factors and functional recovery from peripheral nerve damage in the rat. *Br J Pharmacol* 1991; 103: 1041-1046
40. Ayhan K, Ahmet Ç Melatonin ve santral sinir sistemi. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 1996; 3 (3): 237-44
41. Berg DK. New neuronal growth factors. *Ann Rev Neurosci* 1984; 7: 149-170
42. Lipton SA. Growth factors for neuronal survival and process regeneration. Implications in the mammalian central nervous system. *Arch Neurol* 1989; 46: 1241-1248
43. Mackinnon SE, Dellon AL. Neurotropism and neurotophism. Reply to TM Brushart's Letter to the Editor. *J Hand Surg* 1987; 12: 808-809

44. Reiter RJ. The mammalian pineal gland: Structure and function. *Am J Anat* 1981; 162:287-313
45. Cagnacci A. Melatonin in relation to physiology in adult humans *J Pin Res* 1996; 21:200-13
46. Reiter RJ. The ageing pineal and its physiological consequences. *BioEssays* 1992; 14: 169-75
47. Becker-André M, Wiesenberg I, Schaeren-Wiemers N, André E, Missbach M. Pineal gland hormone melatonin binds and activates an orphan of the nuclear receptor superfamily. *J Biol Chem* 1994; 269, 28531-28534
48. Kotler M, Rodriquez C, Sainz R M, Antolin I, Menendez-Pelaez A. Melatonin increases gene expression for antioksidant enzymes in rat brain cortex. *J Pineal Res* 1998; 24:83-89
49. Pierrefiche G, Topall G, Courboin G, Henriet I, Laborit H. Antioksidant activity of melatonin in mice. *Research communications in chemical pathology and pharmacology* 1993; Vol.80, No:2
50. Giusti P, Lipartiti M, Franceschini D, Schiavo N. Neuroprotection by melatonin from kainate-induced excitotoxicity in rats. *FASEB J* 1996; Vol: 10 891-896
51. Worzniak DF, Stewart GR, Miller-Dawney JW. Brief communication. Age-related sensitivity to kainat neurotoxicity. *Exp Neurol* 1991; 114: 250-3
52. Irina V Zhdanova, Margo L Cantor, Ojingwa U Leclair, Alex Kartashov, Richard J Wurtman. Behavioral Effects of Melatonin Treatment in Non-Human Primates. *Sleep Research Online* 1998; 1(3): 114-118
53. Golombek DA, Pevet P, Cardinali DP. Melatonin effects on behavior: possible mediation by the central GABAergic system. *Neurosci Biobehav Rev* 1996; 20 (3): 403-12
54. Meastroni GJM, Conti A, Pierpaoli W. Role of the pineal gland in immunity : II. Melatonin enhances the antibody response via an opiate mechanism. *Clin Exp Immunol* 1987; 68, 384-391
55. Tan DX, Lucien C Manchester, Reiter RJ, Qi W, Kim SJ: Melatonin protects hippocampal neurons in vivo against kainic acid-induced damage in mice. *J neuroscience research* 1998; 54: 382-389
56. Antolin I, Rodriquez C, Sainz MR, Mayo JC: Neurohormone melatonin prevents cell damage : effect on gene expression for antioksidant enzymes. *FASEB J* 1996; 884 Vol:10.
57. Pohlmeier G, Reuss S, Baum A. An improved technique for visually controlled pinealectomy in the rat. *J Exp Sci* 1993/1994; 36: 84-88

58. Erkutlu İ. Deneysel siyatik sinir enjeksiyon hasarında siklosporin-a'nın etkinliğinin araştırılması. Uzmanlık Tezi: 2002
59. Bain J, Mackinnon S, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg* 1989; 83: 129
60. Hare, GMT, Evans, PJ, Mackinnon SE. Walking track analysis. A long term assesment of peripheral nerve recovery. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89: 251
61. Evans, PJ, Bain JR, Mackinnon SE. Selective reinnervation: A comparison of recovery following microsuture and conduit nerve repair. *Brain Res* 1991; 559: 315
62. Kanaya F, Firrell J, Tsai TM, Breidenbach WC. Functional results of vascularized versus nonvascularized nerve grafting. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89: 924
63. Dellon ES, Dellon AL. Functional assessment of neurologic impairment: Track analysis in diabetic and compression neuropathies. *Plast Reconstr Surg* 1991; 88: 686
64. Buhsen Ö: Sıçan siyatik sinir onarımını takiben uygulanan 5-fluorourasil'in epinöral ve ekstranöral skar dokusu oluşumuna ve sinir rejenerasyonuna etkisinin araştırılması. Uzmanlık Tezi: 2000
65. Enrione EB, Weeks OI, Kranz S, Shen J. A vitamin E-deficient diet affects nerve regeneration in rats. *Nutrition* 1999; 15(2): 140-4
66. Love A, Cotter MA, Cameron NE. Effects of alpha-tocopherol on nerve conduction velocity and regeneration following a freeze lesion in immature diabetic rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1997; 355(1):126-30
67. Cecchini T, Cuppini R, Ciaroni S, Guidi L, Ambrogini P, Del Grande P. Regeneration of unmyelinated peripheral axons in vitamin E-deficient rats. *Ital J Anat Embryol* 1994; 99(2):81-90
68. Zochodne DW, Ho LT, Gross PM. Acute endoneurial ischemia induced by epineurial endothelin in the rat sciatic nerve. *Am J Physiol* 1992; 263: 1806-1810
69. Miller RJ. Multiple calcium channels and neuronal function. *Science* 1987; 235: 46-52,
70. Mattson P, Aldskogius H and Svensson M. Nimodipine-induced improved survival rate of facial motor neurons following intracranial transection of the facial nerve in the adult rat. *J Neurosurg* 1999; 90: 760-765
71. Angelov DN, Neis WF, Gunkel A, Streppel M, Guntinas-Lichius O and Stennert E. Nimodipine-accelerated hypoglossal sprouting prevents the postoperative hyperinnervation of target muscles after hypoglossal-facial anastomosis in the rat. *Restorative Neurol Neuroscience* 1997; 11: 109-121
72. Vanecek J. Cellular Mechanisms of Melatonin Action . *Am J Physiol Reviews* 1998; Vol.78 No. 3

73. Piezzi R.S, Caviicchia J C. Effects of Cold and Melatonin on the Microtubules of the Toad Sciatic Nerve. *Anatomical Record* 1981; 200: 115-120
74. Weichselbaum R, Patel M. Das grupta TK. Influence of the pineal gland on wound healing. *Nature* 1975; 254-57
75. Drobnik J, Dabrowski R. Melatonin supresses the pinealectomy induced elevation of kollojen content in a wound . *Cytobios* 1996; 85: 51-58
76. Bülbüller N: Melatoninin kesi yaraları ve anastomotik yara iyileşmesi üzerine etkisi. Uzmanlık tezi: 1998