



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**REJYONEL SİNİR BLOKAJINDA KULLANILAN İĞNENİN KESKİN
VEYA KÜNT UÇLU OLMASININ OLUŞABİLECEK SİNİR HASARI
ÜZERİNE ETKİSİ; DENEYSEL RAT ÇALIŞMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. Cevdet YARDIMCI

KAHRAMANMARAŞ / 2012



**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**REJYONEL SİNİR BLOKAJINDA KULLANILAN İĞNENİN KESKİN
VEYA KÜNT UÇLU OLMASININ OLUŞABİLECEK SİNİR HASARI
ÜZERİNE ETKİSİ; DENEYSEL RAT ÇALIŞMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. Cevdet YARDIMCI

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin YILDIZ

Bu araştırma KSÜ BAPKBB tarafından 2011/3-3D ile desteklenmiştir

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana emeği geçen ve her zaman olduğu gibi bu çalışma sırasında desteklerini eksik etmeyen değerli hocalarım; Doç. Dr. Hafize ÖKSÜZ' e, Doç. Dr. Nimet ŞENOĞLU' na, Yrd. Doç. Dr. İsmail COŞKUNER' e, Yrd. Doç. Dr. Emin SİLAY' a teşekkür ederim.

Bu çalışmanın her aşamasında sabırla destek olan ve yol gösteren değerli hocam ve tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Hüseyin YILDIZ' a teşekkür ederim.

Patoloji konusunda yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Hamide SAYAR' a, Biyokimyasal değerlendirme konusunda yardımcı olan Doç. Dr. Ergül Belge KURUTAŞ' a ve hayvan deneylerindeki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Davut ÖZBAĞ' a teşekkür ederim.

İstatistik konusunda yardımcı olan Doç. Dr. Ali ÇETİNKAYA' ya, Doç. Dr. Yalçın KARAGÖZ' e teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim sırasında birlikte çalıştığım asistan ve tekniker arkadaşlara teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince büyük bir özveriyle bana destek olan aileme teşekkür ederim.

Dr. Cevdet YARDIMCI

ÖZET

Amaç: Rejyonel sinir blokajında kullanılan iğnenin keskin veya künt uçlu olmasının oluşabilecek sinir hasarı üzerine etkisini araştırmak.

Biz bu çalışmamızda tartışmalı bir konu olan periferik sinir blokları sonrası sinir hasarı nedenlerinden olarak gösterilen sinir bloğunda kullanılan iğnenin ucunun künt veya keskin olmasının sinir hasarını nasıl etkileyebileceğini araştırmaya çalıştık. Bu amaçla üniversitemiz etik kurulundan onay alındıktan sonra 30 adet rat rastgele olarak 5 gruba ayrıldı. Bu hayvanların siyatik sinirleri cerrahi olarak eksplore edildikten sonra bir grup kontrol grubu olarak hiçbir işlem yapılmadan cilt kapatıldı. Diğer gruplarda 25 G Künt uçlu, 25 G Keskin uçlu, 27 G Künt uçlu ve 27 G künt uçlu iğneler kullanılarak siyatik sinirler dik açılı ile tam kat perfore edildikten sonra cilt kapatıldı. Bu işlemden 48 saat sonra ratlar yeniden anestezi altına alındı, ratların siyatik sinirleri yeniden eksplore edilerek siyatik sinirlerinden örnekler alınarak hasarın belirlenmesi için biyokimyasal ve histolojik incelemeye tabi tutuldu.

Bu çalışmada SOD ortalama değerleri hesaplandığında en düşük SOD değerinin Kontrol grubunda (2,1535 U/mg protein) ve en yüksek SOD değerinin 25 G Künt grubunda (4,9191 U/mg protein) olduğu tespit ettik, tüm gruplarda SOD değerleri kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğunu ancak grupların kendi aralarında istatistiksel bir anlam olmadığını tespit ettik. Doku KAT ortalama değerleri hesaplandığında en düşük doku KAT değeri 2,235 Ü/mg prot ile 25 G Keskin grubunda, en yüksek doku KAT değeri ise 4,523 Ü/mg prot ile 27 G Keskin grubunda tespit ettik ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamadık. Bu çalışmada MDA ortalama değerleri hesaplandığında en düşük MDA değerinin Kontrol grubunda (2,993 nmol/mg protein) ve en yüksek MDA değeri 25 G Künt grubunda (4,59 nmol/mg protein) olduğu tespit ettik. 27 G Keskin grubu hariç diğer gruplardaki yükseklikler kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit ettik.

Histopatolojik inceleme yönünden ise en fazla hasarı 25 G Künt grubunda en az hasarı ise 27 G Keskin grubunda tespit ettik. Kontrol grubuyla istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmasına rağmen, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit etmedik. Bu incelemeler sonunda iğne uçlarının keskin veya künt uçlu olmalarıyla oluşan hasar arasında direkt bir ilişki kurabilecek bir sonuca ulaşamadık.

Ancak bu konuda daha büyük hayvan modelleriyle yapılacak başka çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Rat, siyatik sinir, 25 G Kunt iğne, 25 G Keskin iğne, 27 G Kunt iğne, 27 G Keskin iğne, sinir hasarı

ABSTRACT

Aim: To investigate the effect of needle type used for peripheral nerve blocks on the nerve damage.

In our study we tried to investigate needle type effect used in peripheral nerve blocks on the nerve damage. In this regard after having consent from our university ethic council 30 female rats were separated into five groups randomly. After exposing these animals' sciatic nerve one group' s nerves were closed without performing any procedure. In the other groups the sciatic nerves perforated perpendicularly with 25 G blunt needle, 25 G sharp needle, 27 G blunt needle and 27 G sharp needle and tissue layers and skin was closed anatomically. 48 hours after this procedure rats were anesthetized again and sciatic nerves exposed and obtaining nerve samples they were analyzed biochemically and histopathologically to investigate the nerve damage.

In our study; we found the least mean value of SOD in the control group (2,1535 U/mg protein) and the highest value in 25 G group (4,9191 U/mg protein). The mean SOD values were statistically high comparing to control group. According to the CAT values; we found no statistical difference among the groups. When we evaluated the MDA values we found the least mean MDA value in the control group (2,993 nmol/mg protein) and the highest value in the 25 G blunt needle group (4,59 nmol/mg protein). Except 27 G sharp needle group the values were statistically high in other groups.

According to the histopathologic evaluation; we found the highest damage in the 25 blunt needle group and the least damage in the 27 G sharp needle group. Statistically difference were found between control and the needle groups. But we couldn' t find statistical difference between other groups.

After these investigations we couldn' t find a direct relation in needle types and needles sizes on the peripheral nerve damage. But we think that it is needed other investigations performed on the big experimental animals.

Key words; Rat, sciatic nerve, 25 G Blunt needle, 25 G Sharp needle, 27 G Blunt needle, 27 G Sharp needle, nerve damage

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
RESİMLER VE ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
KISALTMA LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Periferik Sinir	5
2.2. Lipid Peroksidasyonu.....	24
2.3. Serbest Radikaller	25
2.4. Antioksidan Savunma Mekanizmaları	28
3. MATERYAL METOD	35
3.1. Deney Hayvanları.....	35
3.2. Hasar Modeli.....	35
3.3. Deney Grupları.....	36
3.4. Biyopsi Örneklerinin Alınması	37
3.5. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini	38
3.6. Malondialdehit Düzeyinin Tayini	40
3.7. Doku Katalaz (KAT) Analizi	43
3.8. Histopatolojik Değerlendirme.....	44
3.9. İstatiksel Analiz.....	44
4. BULGULAR.....	45
4.1. Biyokimyasal Bulgular	45
4.2. Histolojik Bulgular.....	48
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇLAR	55
7. KAYNAKLAR	56

TABLolar DİZİNİ

Tablo- 1 Sinir Liflerinin Kalınlık ve Hızlarına Göre Sınıflaması	15
Tablo- 2 Periferik Sinir Yaralanmasının Klinik Sınıflaması.....	19
Tablo- 3 SOD Standard eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı.....	39
Tablo- 4 SOD Standard eğri çizimi için kuvars küvetlerin hazırlanışı	39
Tablo- 5 MDA Standard eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı	41
Tablo- 6 Dokuda MDA düzeyinin tayini için tüplerin hazırlanışı	43

RESİMLER VE ŞEKİLLER DİZİNİ

Resim- 1 Bir sinir Hücresinin Şematik Görünümü	3
Resim- 2 1860 Yılında kullanılan enjektörler	5
Resim- 3 Bir Sinir Hücresinin ve Schwann Kılıfının Şematik Görünümü	7
Resim- 4 Bir Periferik Sinirin Şematik Görünümü	8
Resim- 5 Myelinli Bir Sinirin Çapraz Kesiti	9
Resim- 6 Myelin Kılıfının Oluşum Basamakları ve Ranvier düğümü.....	10
Resim- 7 Periferik Sinirde Elektriki Uyarının İletim Şekli.....	12
Resim- 8 Bir sinir hücresinde Aksiyon Potansiyeli oluşumu	13
Resim- 9 İğne Ucu Tipleri.....	17
Resim- 10 Normal Motor Periferik Sinir Anatomisi ve Hasara Yanıtı	22
Resim- 11 Rat' ta Siyatik Sinirin Eksplorasyonu	35
Resim- 12 Rat' ın Siyatik Sinirine İğne İle Ponksiyon.....	36
Resim- 13 Rat' ın Siyatik Sinirine İğne İle Ponksiyon Edilmiş Hali	36
Şekil- 1 Antioksidan Savunma Mekanizması	29
Şekil- 2 GSH Redoks döngüsü.....	32
Şekil- 3 SOD Standard Eğrisi Çalışması.....	40
Şekil- 4 Malondialdehit Standard eğrisi çalışması.....	42
Şekil- 5 Grupların doku SOD değerleri (U/mg protein).....	45
Şekil- 6 Doku KAT değerleri (U mg/prt).....	46
Şekil- 7 Gruplarda MDA değerleri nmol/mg protein.....	47
Şekil- 8 Sinir Hasarı Miktarı	48
Şekil- 9 Konjesyon Miktarı.....	49
Şekil- 10 Kanama Miktarı.....	49
Şekil- 11 İnflamasyon Miktarı	50

KISALTMA LİSTESİ

- ADP: Adenozin Difosfat
ATP: Adenozin Trifosfat
CNS: Merkezi sinir sistemi
DNA: Deoksiribonükleik Asit
ETS: Elektron Transport Sistemi
FAD: Flavin Adenin Dinükleotit
FMN: Flavin Mononükleotid
GR: Glutasyon Redüktaz
GSH: Redükte Glutasyon
GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz
GSSG: Okside Glutasyon
GST: Glutasyon-S-Transferaz
H.: Hidrojen Radikali
H₂O₂: Hidrojen Peroksit
HO₂.: Perhidroksi Radikali
HOCl: Hipoklorik Asit
KAT: Katalaz
L.: Yağ Asidi Zincir Radikali
L-O₂.: Lipit Peroksil Radikali
MDA: Malondialdehid
MDA: Malondialdehit
NADPH: Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NO.: Nitrik Oksit Radikali
NO: Nitrik Oksit
NOS: Nitrik oksid Sentaz
O₂: Oksijen
OD: Optik Dansite
OHT: Hidroksil Radikali
PAF: Trombosit Aktive Edici Faktör
PGG: Prostaglandin G
PGH: Prostaglandin H

PNS: Periferik sinir sistemi

PUFA: Çoklu Doymamış Yağ Asidi

RNA: Ribonükleik Asit

ROO.: Peroksil Radikalleri

SOD: Süper oksit dizmutaz

SOD: Süperoksit Dismutaz

SOR: Serbest Oksijen Radikalleri

TBARS: Tiyobarbitürik Asit ile Reaksiyona Giren Maddeler

XDH: Ksantin Dehidrogenaz

XO: Ksantin Oksidaz

1O₂: Singlet Oksijen

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Rejyonel anestezi son yıllarda yatan ve günübürlük cerrahide geniş kullanım alanı bularak belirgin bir şekilde gelişmiştir. Ameliyat sırasında ve sonrasında etkin ve güvenli bir anestezi ve analjezi sağlayabilme yeteneğini de içeren bir çok avantajları vardır. Periferik rejyonel anestezinin nöroksiyal anesteziye göre birçok teorik faydaları vardır. Bu periferik teknikler tipik olarak belirgin otonomik değişikliklerle birlikte değildir ve kardiyovasküler hastalığı olanlarda ve nöraksiyel anestezi kontrendikasyonu olan diğer hastalarda kullanılabilirler. Ayrıca daha az analjezik ihtiyacı olmasından dolayı atelektazi gelişimi azalır, mobilizasyon süresi kısalır ve barsak motilitesi ve sedasyon sorunları daha az ortaya çıkar. Ayrıca, özellikle günübürlük cerrahi merkezlerinde bulantı-kusma, uzun toparlanma süresi ve idrar retansiyonu sıklıklarını azaltarak sağlık sisteminin maliyetlerini azaltıp hasta memnuniyetini artırabileceği bildirilmiştir (1,2,3).

Bununla birlikte, periferik sinir blokları tamamen komplikasyonsuz girişimler değildir. Bloğun kendisine (uygulanma yerine göre) özel komplikasyonların yanı sıra her blokta gelişebilecek komplikasyonlar vardır (1,4). Bazı uygulamalar yıllarca yapılmakta olup bu riskleri ve faydaları daha açık bir şekilde tanımlanmıştır. Bununla birlikte yeni blok uygulama şeklerinin komplikasyonlarının sıklığının belirlenmesi için yeterli literatür yokluğu veya eksik bildirimden dolayı gerçek sıklıktan daha az yansıyor olabilir (1,5). Periferik sinir bloğu anestezisinin büyük çoğunluğu sinir aktivitesinin tam dönüşü ile sonuçlanmasına rağmen küçük bir kısmında uzun süreli veya kalıcı sinir hasarları oluşabilmektedir (6). Rejyonel anestezi uygulamasında gelişebilecek sinir hasarı ile ilgili olarak; kullanılan lokal anestezinin veya adjuvanın sinir dokusu üzerine toksik etkisi, turnike basısı ve iskemi, kullanılan iğneye (kalınlık-keskinlikle ilişkili olarak) bağlı direk hasar gibi birçok mekanizmadan bahsedilmektedir (5,6,7,8,9).

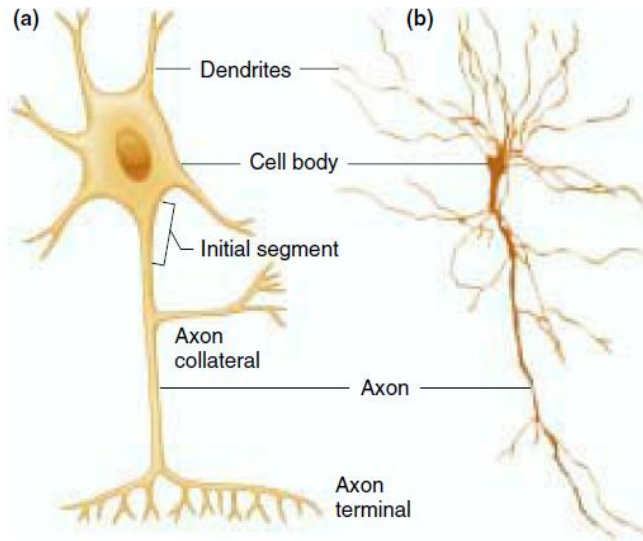
Sinir hasarı oluşması halinde sinir dokusunda gerek hasara bağlı gerekse gelişen hasarın tamiri sırasında oluşan aseptik inflamasyon neticesinde sinir dokusunda inflamasyon hücrelerinin (nötrofil, monosit ve makrofaj) miktarında ve antioksidan sistem (SOD, KAT) aktivitesinde ve biyokimyasal parametrelerde (MDA) değişiklikler oluşmaktadır (5,8,10).

Biz bu çalışmamızda rejyonel sinir bloklarında kullanılan iğnelerin uçlarının keskin veya künt olup-olmamasının bu sinirlerde oluşabilecek kalıcı veya geçici sinir hasarı üzerindeki etkisini dokuda oluşan biyokimyasal parametreler (MDA), antioksidan enzim seviyeleri (SOD ve KAT) ve histopatolojik değişiklikleri değerlendirerek araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

Çevrede oluşan değişiklikleri farketmek ve duyuları almak, değişikliklere uygun cevabı vermek ve bilgiyi yakın ve uzak gelecekte kullanmak üzere depolamakla görevli sinir sisteminin merkezi sinir sistemi (CNS= Beyin ve omurilik) ve periferik sinir sistemi (PNS= Kranial sinirler ve spinal sinirler) olmak üzere iki bölümü vardır (11,12,13). Periferik sinir sistemi merkezi sinir sisteminden çıkan bütün sinirlerdir (11,12,13). Periferik sinir sistemi bilgiyi merkezi sinir sistemine götürür ve merkezi sinir sisteminden perifere taşır. Merkezi sinir sistemi ulaşan bilgiyi düzenleyen ve yanıtı başlatan merkezdir (11,12).

Sinir sisteminin fonksiyonel birimi sinir hücresi (nöron)' dur. Nöronlar elektrokimyasal uyarılar oluşturma ve iletilme kapasitesine sahiptir. Birçok değişik tipte nöron hücresi bulunmasına rağmen aynı temel yapıya sahiptirler. Nöronlar; hücre gövdesi (perikaryon), dendrit ve akson (nörit) denilen 3 bölümden oluşur (12,13,14).



Resim- 1 Bir sinir Hücresinin Şematik Görünümü

Vander et al.: Human Physiology: The Mechanism of Body Function, Eighth Edition adlı kitabından alınmıştır

Hücre gövdesi (Perikaryon) nöronun trofik merkezidir ve kromatinden zengin nükleolusu olan hücre çekirdeğini içerir. Hücre gövdeleri ya merkezi sinir sisteminde

veya merkezi sinir sistemine yakın lokalizasyonludurlar. Sitoplazmayı çaprazlayan tüp şeklindeki yapılara nörofilament veya nörotübül denir. Bunlar sitoplazmayı çaprazladıkları halde aksonlarda paralel şekilde seyrederek. Sitoplazmada kaba endoplazmik retikulum olarak nissle cisimcikleri bulunur (12,14).

Dendritler dallanarak hücre yüzeyini genişletirler ve sinir uyarılarının alındığı yerlerdir. Bir nöron birden fazla dendride sahip olabilir. Diğer sinir hücrelerinin uzantıları bu bölgelerde sonlanır (12,14).

Bir sinir hücresi yalnızca bir aksona sahip olabilir. Akson sinir uyarısını iletir ve sinir uyarısının oluşturulduğu akson tepeciğinden başlar. Perikaryondan kısa bir mesafede lipid içeren bir yapı olan myelin kılıfla örtülmeye başlar. Akson dallar verir (akson kollateralleri) ve sonlanma bölgesinde küçük ayakçıklarla sinir hücrelerinde veya kas hücrelerinde sonlanır (akson terminalleri veya boutonları). Boutonlar uyarı iletiminin yapılacağı sıradaki hücrenin membranı ile sinaps yapar. Elektriki uyarılar akson boyunca sadece ileriye doğru iletilir (12,14).

Bir sinir hücresinin başka sinir hücreleriyle bağlantı yaptığı bölgeye sinaps denir. Elektriki uyarılar sinir membranı boyunca iletilebilir ancak sinapslarda uyarılar elektriki olarak iletilemeyip nörotransmitter denilen kimyasal maddelerce iletilirler (11).

Nöronlar fonksiyonlarına göre duyuşal (veya afferent), motor (veya efferent) ve ara (veya internöron) olarak 3'e ayrılırlar. Deri, kas ve eklemlerdeki reseptörlerden kaynaklanan duyuları merkezi sinir sinir sistemine taşıyan sinirlere somatik duyuşal sinirler, iç organlardaki reseptörlerden kaynaklanan bilgileri merkezi sinir sistemine taşıyan sinirlere viseral duyuşal sinirler denir. Motor nöronlar (veya efferent) nöronlar uyarıları merkezi sinir sisteminden efektörlere (kas doku ve bezler gibi) taşırlar. İskelet kaslarına bağlanan sinirlere somatik sinirler, düz kas, kalp kası ve salgı bezlere bağlı olanlara viseral sinirler denir. İternöronlar tamamıyla merkezi sinir sisteminde bulunurlar. Sadece duyuşal veya motor uyarıları taşımak veya bu fonksiyonları düzenlemek üzere özelleşmişlerdir. Beyindeki bazı internöronlar düşünme, öğrenme ve hafızayla ilişkilidir (11,12,14).

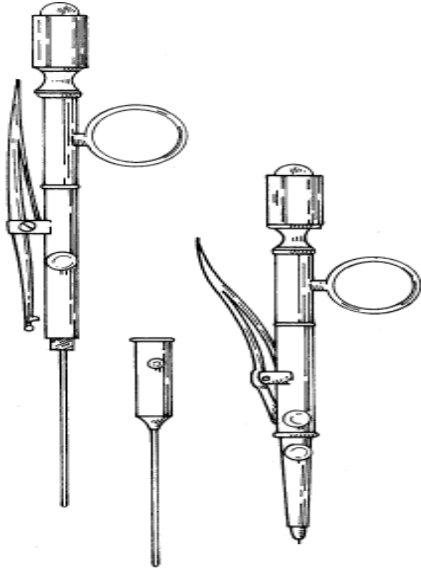
Çıkıntılarının sayısına bağlı olarak nöronlar; unipolar, bipolar ve multipolar olmak üzere 3'e ayrılırlar. Nöronların çoğu multipolardır. Aksonların çapı ve boyu sinirden sinire değişim göstermektedir. Bazılarının aksonları kısadır (internöron

aksonlar), bazılarının aksonları ise 1 m' den uzundur (12,14).

2.1. Periferik Sinir

2.1.1. Periferik Sinir Bloklarının Tarihçesi

Rejyonel sinir blokları ağrının sinir lifleri ile taşındığı ve yolu üzerinde herhangi bir yerde kesintiye uğrayabileceği fikri üzerine kuruludur. Ağrının, sinir sisteminde yönetildiğine dair fikir Johannes P. Müller' in 1826' da tariflediği teoriden kaynaklanır. Bunu daha sonra Erb (1874)' un değişik yoğunluk teorisi ve Melzack ve Wall (1965)' in ağrının kapısı teorisi takip etmiştir. Rejyonel anestezi, ilk başarılı genel anestezi uygulanma yılı olan 1846' ya kadar uygulanamıyordu. İlk sinir bloğu 1855' te Rynd tarafından periferik sinir etrafına morfin uygulamasıyla başlamıştır. 1855' te Wood ilk kez bir enjektör kullanarak subkutanöz enjeksiyon uygulamıştır (15).



Resim- 2 1860 Yılında kullanılan enjektörler

Not: P. PRITHVI RAJ MD' nın Textbook of Regional Anesthesia 2003 EDITION adlı kitabından alınmıştır.

1884' te William Halsted brakiyal pleksus' un ilk rejyonel blokajını uyguladı. Bu ilk uygulamada brakiyal pleksus cerrahi olarak ortaya çıkarılıp sinirler intranöral olarak bloke ediliyordu (15,16).

1887' de George Crile genç bir çocuğun tetanik kasılmasını kontrol altına almak için brakiyal pleksus bloğunu kullandı. Ve bu bloğun ağrısız üst ekstremitte cerrahisi için kullanılabileceğini bildirdi (15).

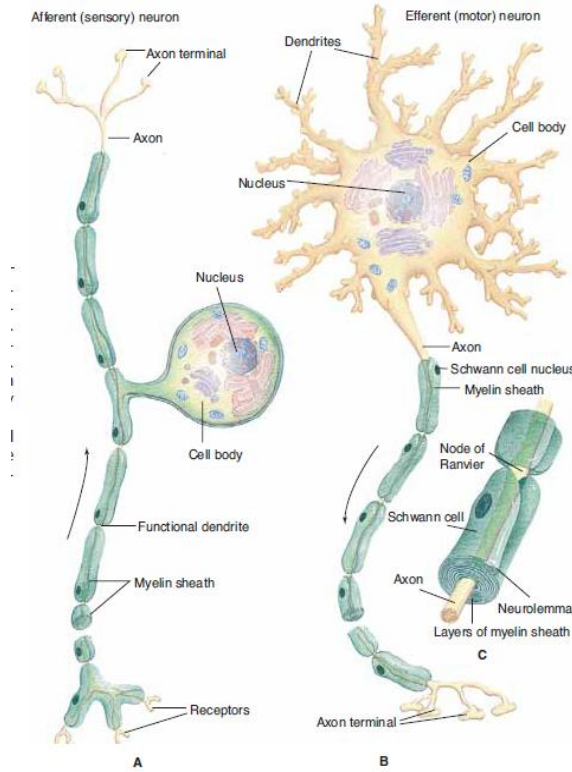
1911' de Hirschel brakiyal pleksusa ilk kez perkutanöz yaklaşımı tanımladı. Onun intra arteriyel yaklaşım tarifi bazı modifikasyonlarla birlikte halen kullanılmaktadır. Aynı yıl Almanya' da Kulenkampff brakiyal pleksusa supraklavikular kör yaklaşım tekniğini tanımladı (15).

1917' de Almanya' da pleksusu bloke etmek için basitleştirilmiş bir yaklaşım tarifledi. Aksilada pleksus bloğunda nörovasküler kılıfın önemini işaret eden kişinin 1921' de Reding olduğu düşünülür (15).

1958' de Ortopedi cerrahı olan Preston Burnham brakiyal pleksus bloğu için nörovasküler kılıf yaklaşımını yeniden tanımladı (15).

2.1.2. Periferik Sinir Anatomisi

Sinir gövdesinden çıkan uzun sinir hücresi uzantısına ve onu çevreleyen zara, sinir lifi denir. Sinir ise çok sayıdaki sinir lifi, kan damarları ve bağ dokudan oluşan uzantılardır. Aksonlar nöroplazma (aksoplazma) ve onu zarf gibi çevreleyen plazma zarını (nörolemma) içerir. Aksonların içerisinde nörotübüller, nörofilamentler, mitokondri ve uzunlamasına yerleşmiş düz endoplazmik retikulum zarları bulunur. Nissle cisimcikleri bulunmaz (17). Merkezi sinir sisteminden çıkan bütün sinirlere periferik sinir denir (11,12,14). Bu sinirler nöronlardan ve özelleşmiş hücreler olan schwann hücrelerinden oluşur. Schwann hücreleri nöronları elektriki olarak izole eden fosfolipid yapıdaki myelin kılıfını oluşturur. Takip eden schwann hücresi ile arasındaki aralığa ranvier nodu denir. Bu bölgeler elektriki uyarı iletilirken depolarize olan bölgelerdir. Schwann hücresinin nükleusu ve sitoplazması myelin kılıfın dışında sarılır ve buna nörolemma denir. Nörolemma sinir hasara uğradığında tamir sırasında büyük önem taşır. Eğer bir nöron kesilir ve tekrar karşılıklı olarak biraraya getirilirse nörolemma'nın oluşturduğu tünel boyunca akson ve dendrid büyümesi oluşabilir (11).

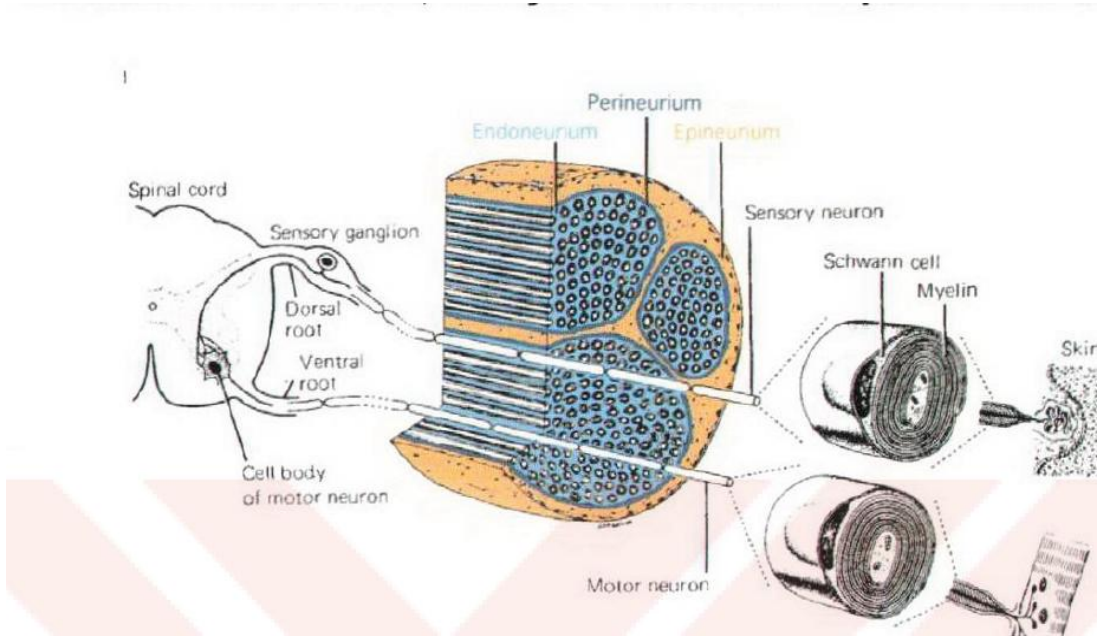


Resim- 3 Bir Sinir Hücresinin ve Schwann Kılıfının Şematik Görünümü
(A) Tipik bir sensoryal nöron, (B) Tipik bir motor nöron, (C) Myelin kılıfı ve nörolemanın ayrıntılı görünümü

Not: Valerie C. Scanlon' un Essentials of Anatomy and Physiology 5 th edition adlı kitabından alınmıştır.

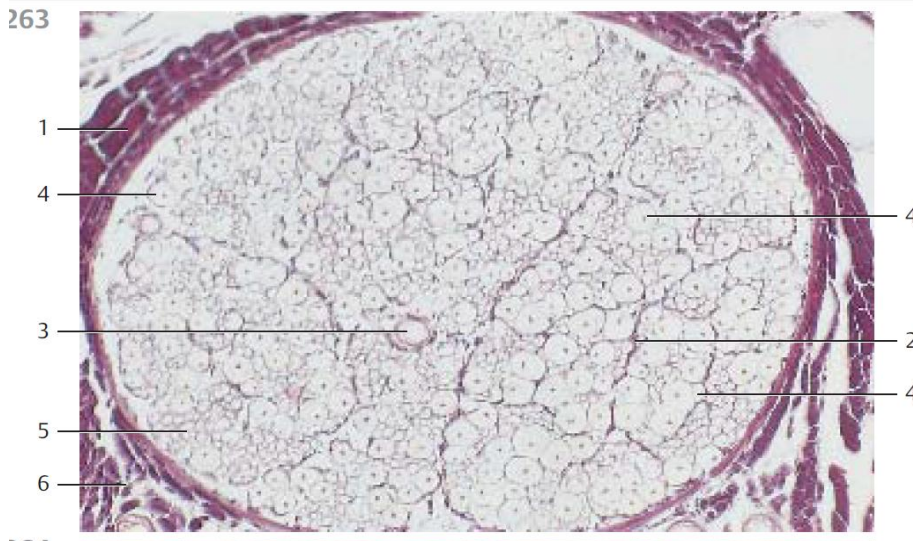
Sinir lifi birçok sinir hücresinin aksonlarının, nöronlarının, kan damarlarının ve bağ dokusunun biraraya gelmesi ile oluşur (11,12,14,**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**,18). Sinirin en dış tarafında bulunan bağ dokusu kılıfa epinöryum, onun daha iç tarafında bulunan birçok sinir lifinin içine doğru septalar oluşturan yapıya perinöryum ve sinirin içinde sinir liflerinin arasında retiküler yapı oluşturan bağ doku yapıya endonöryum denir. Epinöryum, fasikülleri ve fasikül gruplarını saran zardır ve eksternal ve internal olarak iki tabakaya ayrılır. Eksternal epinöryum tüm siniri saran bağ dokudur ve siniri çevre dokulardan ayırır. İnternal epinöryum fasikül ve fasikül gruplarını ayırır. Epinöryum kalınlığı sinirin lokalizasyonuna göre değişir (19,20). Perinöryum, fasiküllerin etrafını saran kılıftır ve epinöryumdan daha ince kollajen lifler içerir. Fibroblast kaynaklı farklı özellikler gösteren lamellerden oluşur. Yüzeysel lameller geçirgen özellikler taşırken derin lameller kan-sinir bariyeri

içeren vasküler yapılara ve özelliklere sahiptir. Bu vasküler yapılar, kan-beyin bariyerinde olduğu gibi kan-sinir bariyeri oluşturmaktadır. Sinirin gerilmelere karşı direncinin önemli bir bölümü perinöryum ile sağlanır. Gerilme ile perinöryum kopmadan önce sinir liflerinin kopması olasılığı yok denilebilecek kadar azdır. Endonöryum, fibroblast, kollajen matriks, mast hücreleri, kapiller ağ ve geniş ekstrasellüler aralıktan oluşur. Aksonlar ve çevrelerindeki myelin kılıfı saran endonöryum, sıkı bağlantılar (tight junction) yapan kapiller yapılara sahiptir (21). Sinir lifi demetleri ve perinöryum periferik sinirleri oluşturur (17,**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**).



Resim- 4 Bir Periferik Sinirin Şematik Görünümü

Not: Dr. Bülent KİŞİN' in N-Asetil Sisteinin Siyatik Sinir İyilemesi Üzerine Olan Etkisi (Ratların Siyatik Sinirleri Üzerinde Deneysel Çalışma) adlı Tez yayınından alınmıştır.



Resim- 5 Myelinli Bir Sinirin Çapraz Kesiti

1 Perinöryum, 2 Endonöryum, 3 Kan damarı, 4 Myelinli sinir lifi, 5 Az myelin kılıflı ince sinir lifi, 6 Epinöryum

Boya: picro-blue black; Büyütme: × 200

Not: Wolfgang Kuehnel' in Color Atlas of Cytology, Histology and Microscopic Anatomy adlı kitabından alınmıştır

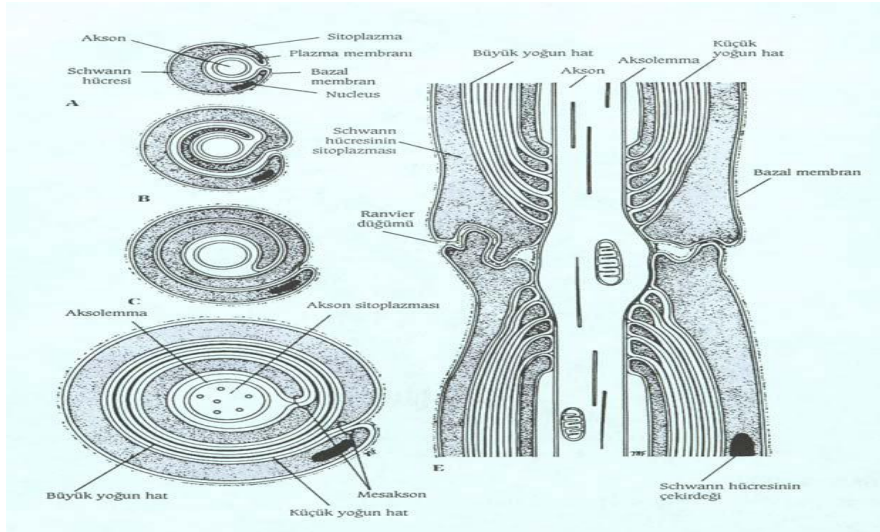
Fonksiyonlarına göre duysal (afferent) ve motor (efferent) olabilirler. I. (N.Olfactorius), II. (N.Opticus) ve VIII. (N.Statoacusticus) kranyal sinirler saf duysal sinirlerdir. Periferik sinirlerin çoğu hem duysal hem de motor nöronları içerir. Motor sinirler de uyarıyı taşıdıkları yere göre somatik sinirler ve otonomik sinirler olarak ikiye ayrılırlar. Otonomik sinirler de kendi içlerinde sempatik ve parasempatik sinirler olarak ikiye ayrılırlar (11,12,14).

Periferik sinirler anatomik lokalizasyonlarına göre de kranyal (beyin sapından veya beynin diğer yapılarından çıkan) ve spinal (medulla spinalis' ten çıkan) sinirler olarak 2 gruba ayrılırlar. İnsanda 12 çift kranyal ve 31 çift spinal olmak üzere toplam 43 çift periferik sinir bulunur (11,12,14,**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**).

2.1.3. Periferik Sinir Histolojisi

Periferik sinirler bir yada daha fazla akson bunların etrafındaki destekleyici bağ dokudan oluşmaktadırlar. Periferik sinirler histolojik olarak incelendiğinde, dıştan epinöryum olarak bilinen kalın fibröz bir bağ dokusu ile sarılmışlardır. Epinöryumun altında sinir fasiküllerini çevreleyen ve perinöryum olarak adlandırılan

fibröz bağ dokusu yer almaktadır. Her bir akson, endonöryum adında, fibroblast ve kollajen liflerden oluşan daha ince septalar şeklinde düzenlenen bir bağ dokusu korunmuştur. Endonöryumun altında Schwann hücreleri tarafından oluşturulan nörolemma denilen kılıf yer alır. Myelinli sinir liflerinde, Schwann hücre sitoplazması içerisine gömülü olarak yer alan akson etrafında, konsantrik lamellar tarzda düzenlenen lipid yapılı myelin kılıf bulunmaktadır. Periferik sinirlerde her bir Schwann hücresi sadece bir sinir lifiyle ilişkidir. Myelinli ve myelinsiz olmak üzere, iki tip sinir lifi vardır. Küçük çaplı aksonlar (çevrelerinde Schwann hücresi bulunmasına rağmen myelin kılıf incedir), genelde myelinsiz lifleri oluştururlar (11,12,17 ,22, 23).



Resim- 6 Myelin Kılıfının Oluşum Basamakları ve Ranvier düğümü

Schwann hücreleri periferik sinir sisteminin destekleyici hücreleridir ve temel fonksiyonları hem myelinli hem de myelinsiz sinir liflerini desteklemektir (11,17, 23). Myelin kılıf, aksonu endonöryumun ekstrasellüler kompartmanından ayırmakta ve sinir impulslarının hızlı bir şekilde iletilmesini sağlamaktadır. Schwann hücreleri myelinsiz sinir liflerini de sarmaktadır. Bu hücreler ayrıca, periferik sinir sistemindeki yıkıntıları temizler ve yaralanma veya kesilme sonrası aksonların yeniden büyümesine rehberlik ederler (24,25,26). Myelinizasyonda, myelin kılıfın kalınlığı Schwann hücreleri tarafından değil, akson çapı tarafından belirlenmektedir. Dolayısıyla, myelin oluşumu, akson ve Schwann hücresi arasındaki fonksiyonel ilişki sonucunda gerçekleşmektedir. Myelin kılıf akson boyunca birbiri ardına dizilen birçok Schwann hücresi tarafından yapıldığı için segmental bir görünümdedir.

Komşu Schwann hücrelerinin karşılaştığı bölgeler, myelin kılıftan yoksundur. Bu alanlara Ranvier düğümü adı verilir. İki Ranvier nodu arasındaki myelin kılıfla kaplı bölgeye de internodal segment denilmektedir. Periferik sinir sisteminde Schwann hücreleri myelinsiz sinir liflerini de çevreler. Schwann hücreleri aksonun uzun eksenine boyunca paralel olarak uzanır ve aksonlar hücre membranı (nörolemma) içinde gömülü halde bulunur (27,28).

2.1.4. Lenfatikler

Epinöryumda arterlerle birlikte seyreden lenfatik kapillerler bulunur. Endonöryumda ve fasiküller içinde lenfatik kapillerler yoktur. Fakat sinir lifleri arasında sıvı dolu endonöral boşluklar vardır. Bu endonöral boşluklarla lenfatikler arasında, perinöryum etkin bir bariyer oluşturur. Bu sebeple travma sonrası kan-sinir bariyerinin bozulmasıyla oluşan endonöral ödem dışarıya çıkamaz; fibroblast invazyonu ve endonöral skar gelişir (**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**,26).

2.1.5. İnervasyon

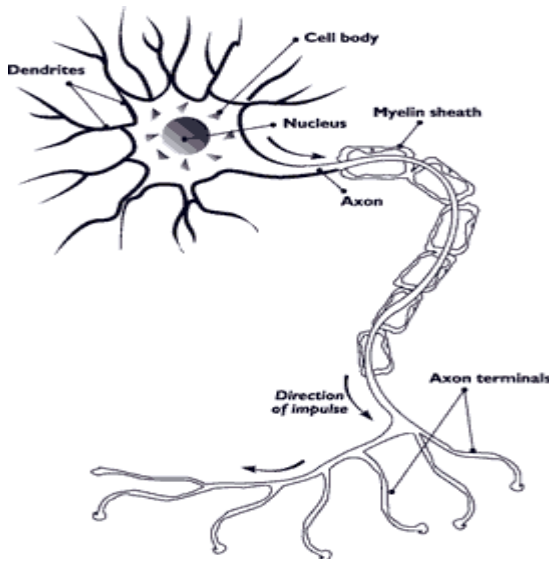
Periferik sinirlerin nervi nervorum denilen özel sinirleri, perivasküler pleksus yoluyla vazomotor innervasyon sağlayan sempatik sinir lifleri ile sinirin ağrı duyusunu sağlayan serbest sinir uçları vardır. Bunlar epinöryum, perinöryum ve endonöryumun her birinde bulunup duyu ve sempatik lifler içerirler (**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**,26).

2.1.6. Sinirin Vasküler Yapısı

Periferik sinirlerde birbiriyle yaygın anastomozları olan iki ayrı vasküler sistem vardır. Bunlar, bölgesel besleyici arter, arteriol ve venüllerin oluşturduğu longitudinal epinöral damarlar (ekstrinsik sistem) ve fasiküler endonöryum ve perinöryumda bulunan oblik biçimli mikrodamarlardır (intrinsik sistem). Ekstrinsik sistem damarları majör vasküler trunkuslardan, kollaterallerden veya muskuler damarlarından gelir. İntrinsik sistemden gelen dönüş akımı ise epinöryumda bulunan venüllere drene olur. Vasküler yapıdaki bir bozulmada sinir fonksiyonel ve yapısal değişikliğe uğrar. Bu iki damar sistemi arasında bir baskınlık yoktur. Epinöral ve perinöral damarların birbirleri arasında çok sıkı anastomotik bağlantılar vardır (17,22,25, 25,29).

2.1.7. Periferik Sinir Fizyolojisi

Nöronlar (sinir hücreleri) ister duyu ister motor ister küçük isterse büyük olsunlar, hepsi benzer elektriksel ve kimyasal aktivitelere sahiptir. Aksonların gönderdiği kimyasal sinyaller dendritlerce alınıp elektriksel sinyallere dönüştürülür ve sinyalin gideceği yere iletilip ileilmeyeceğine karar vermek üzere tüm diğer sinapslardan gelen elektriksel sinyallere eklenir veya onlardan çıkarılır. Daha sonra elektriksel potansiyeller, akson boyunca komşu nöronun dendritleri üzerinde bulunan sinapslara doğru iletilirler (30,31).

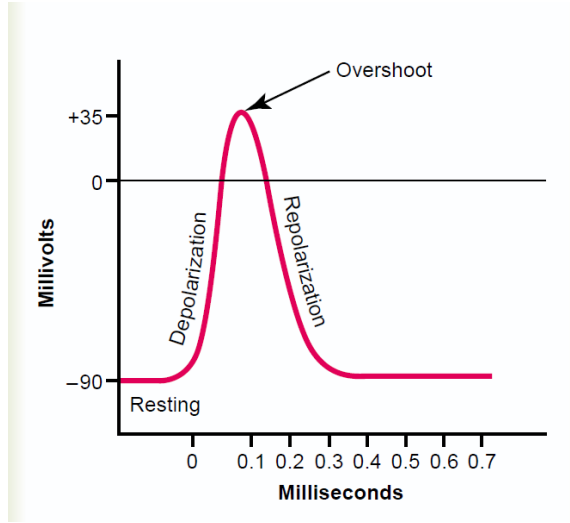


Resim- 7 Periferik Sinirde Elektriki Uyarının İletim Şekli

Aksiyon potansiyelinin oluşmasında hücre membranı anahtar rol oynar. Sinir hücresi membranının dış yüzeyi pozitif, iç yüzeyi negatif elektrik yük taşır. Bu nedenle hücre duvarını her iki tarafında bir elektriksel gerilim farkı mevcuttur. Hücrenin dinlenimi esnasında oluşan bu gerilim farkı istirahat potansiyeli olarak tanımlanır ve sinir lifi membranında -50 ile -70 civarındadır. Bu potansiyel hücre membranını geçebilen Sodyum (Na^+) ve Potasyum (K^+) gibi belirli iyonların konsantrasyon farkına dayanır. Na^+ hücre dışında yoğun konsantrasyonda bulunurken K^+ hücre içinde yüksek miktarda bulunur. Hücre içi hücre dışı çevreye göre negatiftir (11,29,30,31).

Aksiyon potansiyeli hücre gövdesinde başladığında ilk önce açılan kanallar Na^+ kanallarıdır. Sodyum iyonları aniden hücre içine girmeye başlar ve

milisaniyeler içinde yeni bir denge kurulur. Hücre zarının iki tarafı arasındaki potansiyel farkı bir anda 100 mV' a kadar değişir. Zar potansiyeli, hücre içinde negatif (yaklaşık -70 mV) olduğu değerden pozitif (yaklaşık + 30 mV) olan bir değere değişir. Bu durum mebran içi yüzünün pozitif dış yüzünün ise negatifleşmesiyle sonuçlanır, yani membran depolarize olur. Bu değişim K⁺ kanallarını açar, neredeyse Na⁺ iyonlarının hücre içine akışındaki yakını hızla potasyum iyonlarının hücre içinden dışına akımını tetikleyerek içerdeki zar potansiyelinin tekrar başlangıçtaki negatif değerine dönmesine neden olur. Sonuç olarak bir noktadan başlayan uyarı bir aksiyon potansiyelinin oluşmasına neden olur (29,30,31).



Resim- 8 Bir sinir hücresinde Aksiyon Potansiyeli oluşumu

Not: Guyton& Hall' ın Textbook of Medikal Physiology. 11 th edition 2006 adlı kitabından alınmıştır.

Aksiyon potansiyeli sinir lifinin özelliğine göre farklı şekillerde yayılım gösterir. Myelinli liflerde depolarizasyon Ranvier boğumları adını alan myelinsiz noktalarda gerçekleşir. Uyarılma sonucu aktif olan Ranvier boğumundan inaktif olan Ranvier boğumuna ileti sıçrama (saltatory) tarzında olur ve bu yüzden daha hızlı gerçekleşir. Myelinsiz sinir liflerinde ise ileti lokal devre uzaması şeklindedir. Aksiyon potansiyelinin başlangıç noktasında Na⁺ un hücre içine girişi ve K⁺ un hücre dışına çıkışı ile hücre membranının iç yüzü pozitif, dış yüzü negatif olur. Komşu nokta ise membranın içi yüzeyi negatif dış yüzeyi pozitifdir. Her iki bölge arasında bir potansiyel fark olması sebebiyle depolarize olan bölgeden inaktif

polarize olan bölgeye hücre içi sıvı akışı ile yakın membran segmentinn elektriksel yükü değişir ve depolarize olur. Fakat myelinli liflerdeki gibi Ranvier boğumları olmadığı ve sıçrama şeklinde akım olmadığı için iletim hızı daha yavaştır (11,30,31).

Periferik sinirlerin temelini oluşturan sinir lifleri iletim hızlarına ve kalınlıklarına göre değişik gruplara sınıflandırılmaktadır.

Tablo- 1 Sinir Liflerinin Kalınlık ve Hızlarına Göre Sınıflaması

Sınıflama	Sinir Lifi Tipi	Örnek	Rölatif Çap	Rölatif İletim	Myelinasyon
Duysal ve Motor	A alfa (A α)	A Motornöronlar	Büyük	Hızlı	Var
	A beta (A β)	Dokunma, basınç	Orta	Orta	Var
	A gamma	Γ Kas içciklerine (intrafusul) giden	Orta	Orta	Var
	A delta (A δ)	Dokunma, basınç, Isı, ağrı	Küçük	Orta	Var
	C	Slow ağrı; postgangliyonik otonomik	Küçük	Yavaş	Yok
Sadece Duysal	Ia	Kas içciği aferentleri	Büyük	Hızlı	Var
	Ib	Golgi tendon organ afferentleri	Büyük	Hızlı	Var
	II	Kas içciğinin ikincil aferentleri; Dokunma,	Orta	Orta	Var
	III	Dokunma, basınç, hızlı ağrı, Isı	Küçük	Orta	Var
	IV	Ağrı, Isı; koku	Küçük	Yavaş	Yok

Not: Costanzo L. S.' Nin Physiology 3 th edition adlı kitabından değiştirilerek alınmıştır.

2.1.8. Periferik Sinir Bloğu Uygulamaları

Bazı durumlarda rejyonel anestezi genel anesteziye belirgin avantajlar sağlar; örneğin solunum sistemi sıkıntılı olan bir hastada el cerrahisi için aksiller blok kullanılması gibi. Bilinç durumunun açık olması rejyonel anestezinin bir avantajı

olarak görülür. Diğer bir faydası, cerrahi sonrası analjezi kalitesidir. Diğer bir özelliği uygulanırlığının nisbeten kolay oluşu ve stres yanıtın azaltılmasıdır (15,23).

Lokal anestezi solusyonlarının periferik sinirlere ayrı ayrı veya sinir pleksuslarına uygulanması ile hastada duyuşal ve bazen de motor blok geliştirilme işlemidir. Duyusal ve motor blok enjeksiyon bölgesinin birkaç cm distalinden başlar. Üst ekstremitte ve omuz cerrahisi için brakiyal pleksus bloğu, karın ön duvarı anestezi için interkostal bloklar, boyundaki cerrahi işlemler için servikal pleksus blokları dizin altındaki cerrahi işlemler için siyatik sinir bloğu, el bileğinde mediyen veya ulnar sinir blokajı, duyuşal kranyal sinir blokları uygulanmaktadır (15,23).

Bir sinirin yakınına lokal anestezi uygulandıktan sonra duyuşal anestezi gelişmesinin 4 ana etkeni vardır; sinire enjeksiyon yakınlığı, uygulanan ilacın konsantrasyonu ve hacmi, ilacın iyonizasyon derecesi ve zaman. Ayrıca uygulanan yerdeki dokunun yapısı da önemlidir (23).

Lokal anestezi hiçbir zaman istenerek sinir içine uygulanmamalıdır. Uygulanması hem ağrıdır ve hem de sinir hasarına neden olabilir. Bunun yerine lokal anestezi olabildiğince sinire yakın uygulanmalıdır. Bununla birlikte lokal anesteziğin uygulama yerinden sinir içine difüze olması gereklidir (15,23).

Sinir bloğunun süresi lokal anesteziğin fiziksel karakteristiklerine ve vazokonstriktör uygulanıp uygulanmamış olmasına bağlıdır (15,23).

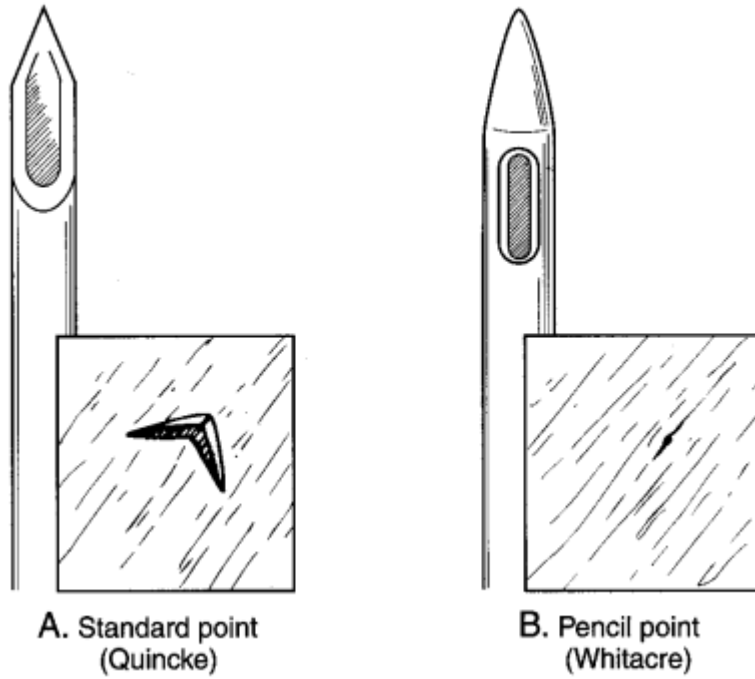
Periferik sinir bloğu uygulamalarında, anatomik belirteçlerden yararlanarak yapılan tariflerin yanında sinir stimulatörü, ultrason ve radyolojik metodlar kullanarak daha az komplikasyonlu periferik sinir bloğu uygulamaları yapılmaya çalışılmış olmasına rağmen periferik sinir bloklarında komplikasyon riski tamamen ortadan kalkmamıştır.

Periferik sinir bloğu uygulaması yapılan genellikle anatomik belirteçler kullanılarak, oluşan paresteziyi değerlendirerek veya sinir stimulatörü kullanılarak sinirin lokalizasyonu sağlandıktan sonra yapılmaktadır.

Bu yöntem kullanılırken cilt geçildikten sonra sinir stimulatörü 1 Hz frekansında ve 3 mA' e ayarlanır. Motor bir sinire dokunulduğunda kas hareketi görülür. Bu işlem sinir içine girilmemişse ağrılı değildir. Akım yavaş yavaş azaltılır. 1mA' den düşük bir akımda halen kas hareketi elde ediliyorsa buraya 2 ml local anestezi uygulanır. Hareketin hemen sonlanması gerekir. Eğer hareket

sonlanmıyorsa kılıfsız bir iğne kullanılıyorsa iğne sinirden ileride demektir ve tekrar iğnenin uygun lokalizasyonu sağlanıp işleme devam edilir. Enjeksiyon sırasında şiddetli ağrı intranöral enjeksiyonu düşündürür ve iğneye yeniden pozisyon verilmelidir. Doğru pozisyon bulunduğu anda anestezi ilacın kalanı yavaş ve tekrarlayan aspirasyonlarla verilmelidir (32).

Periferik sinir bloklarında kullanılan iğnelerin uç tipleri ve dokuya girişlerinde oluşturdukları kesi şekilleri;



Resim- 9 İğne Ucu Tipleri

Solda Keskin Uçlu bir iğnenin kesi şekli, sağda künt uçlu bir iğnenin kesi şekli görülmektedir.

Not: P. Raj' in *Textbook_of_Regional_Anesthesia* 2002 adlı kitabından alınmıştır.

Uygulanan bloğa özel komplikasyonlar (hemotoraks, pnömotoraks, arter ponsiyonu ve hematom gelişimi, total spinal blok gibi) yanında lokal anesteziğin intravenöz veya intraarteryel uygulanması, lokal anestezi toksisitesi, hipotansiyon, lokal anesteziğe karşı anafilaktik yanıt, nörit, uygulama yerinde enfeksiyon gibi tüm periferik sinir bloklarında görülebilecek komplikasyonlar görülebilmektedir (15,23).

2.1.9. Periferik Sinir Bloklarıyla İlişkili Periferik Sinir Hasarı

Periferik sinir bloklarıyla ilişkili olarak gelişebilecek sinir hasarları aşağıdaki mekanizmalardan biri veya birkaçının birlikte oluşması ile gerçekleşmektedir;

1. İğnenin keskin kenarıyla sinirde gelişen direkt hasar (33).
2. Sinir kılıfı içine lokal anesteziğin yüksek basınçla enjeksiyonunun neden olduğu direkt sinir hasarı veya sinirin iskemisi (34).
3. Uygulanan lokal anesteziğin veya içerisinde koruyucu olarak bulunan madde veya maddelerin sinire olan toksik etkileri (15).

2.1.10. Periferik Sinir Zedelenmelerinin Sınıflandırılması

Sinir lezyonları mekanik (kompresyon, germe, ezilme, kesilme), termal, iskemik veya kimyasal nedenlerle olabilir. Lezyonların sınıflandırılmaları, sinir liflerinde ve trunkuslarda olan yapısal veya fonksiyonel değişikliklere göre ayrılabilir.

Meydana gelen sinir hasarı hasarlanan sinirin fiziki ve fonksiyonel durumları dikkate alınarak Sudden ve Sunderland tarafından yapılan sınıflama;

Tablo- 2 Periferik Sinir Yaralanmasının Klinik Sınıflaması

Seddon	Sunderland	Fonksiyonel ve Yapısal Durum
Neurapraxia	1	Myelin hasarı var, iletim yavaşlamış, bloke olmuş
Aksonotmezis	2	Aksonal bütünlük kaybolmuş, endonöryum sağlam, iletim yok
	3	Aksonal ve endonöral bütünlük bozulmuş, perinöryum sağlam, iletim yok
	4	Aksonal, endonöral ve perinöral bütünlük bozulmuş, iletim yok
Neurotmezis	5	Sinir gövdesi tamamıyla ayrılmış, iletim yok

Springer, Complications of Regional Anesthesia 2nd edition 2007 adlı kitabından alınmıştır.

Bu sınıflamada Seddon, nörapraksi, aksonotmezis ve nörotmezis terimlerini kullanmış; Sunderland ise daha sonra 5 dereceli bir sınıflama önermiştir.

Nörapraksi sinire küt bir travmadan sonra birkaç saatten 6 aya kadar süren sinir disfonksiyonunu ifade eder. Nörapraksiste sinir aksonu ve bağ dokusu yapıları sağlamdır. Sinir disfonksiyonu muhtemelen birçok faktörden kaynaklanır; fokal demyelinizasyon en önemli anormalliktir. Sinir içi kanama, vaza vervozadaki değişiklikler, kan-sinir bariyerinin ve akson zarlarının yırtılması, ve elektrolit bozuklukları sinir fonksiyonunun bozulmasına katkıda bulunurlar. Sinir disfonksiyonu nadiren tam oldundan klinik bozukluklar kısmidir ve geriye dönüş birkaç haftada oluşur, bununla birlikte bazı nörapraksi lezyonlarının (hafif veya hiç aksonal dejenerasyon olmayanlar) toparlanması ayları bulabilir.

Aksonotmezis, aksonun tam kopması ancak sağlam Schwann hücresi kanalı ile birlikte sağlam bağ dokusu yapılarının (endonöryum, perinöryum ve epinöryum) olması durumunu içerir. Sunderland bu grubu bu bağ dokunun hasarın içinde olup olmamasına göre alt gruplara ayırmıştır. Aksonotmezisde, rejenerasyon olacak sinir

liflerinin distal segmente doğru yolunu bulacağı sinir kılıfı sağlam kalır. Sonuçta etkin bir aksonal rejenerasyon oluşabilir.

Nörotmezis tüm sinirin aksonları ve bağ dokusu yapılarını içerecek şekilde tamamen kopması demektir. Klinik olarak sinirin tam disfonksiyonu mevcuttur. Hem aksonotmezis hem de nörotmezisle, aksonal kopma geri dönüşün yavaş bir şekilde aksonal rejenerasyonla oluşan Wallerian dejenerasyonuna gider. Bununla birlikte nörotmezisle iki sinir ucu tamamen ayrılmış olup rejenere olan sinir lifler distal uçalarını bulamayabilirler. Bu nedenle, efektif bir geri dönüş oluşamayabilir. Birçok akut sinir hasarı mikst tipte oluşmaktadır. Nörapraksik hasarda geriye dönüş hızlıdır (23).

2.1.11. Periferik Sinirde Yaralanma Sonucu Gelişen Değişiklikler

Aksonal hasar lezyon bölgesinde, hasarın proksimalinde, distalinde ve hücre gövdesi çevresinde akut inflamatuvar değişikliklere neden olur. Periferik sinirlerde bu değişiklikler hücre etrafında fonksiyone olmayan myelin kalıntıları temizleyen Schwann hücrelerini destekleyen lökosit artışı ile karakterizedir (24).

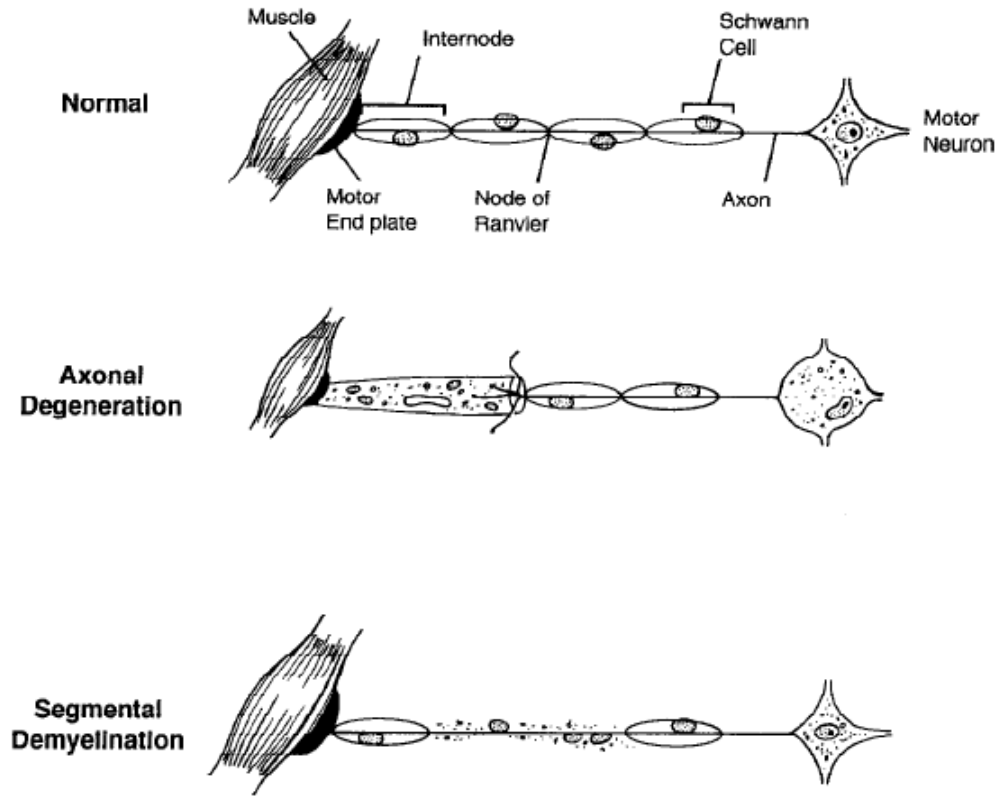
Dejenerasyon sonucu gözlenen başlıca yapısal değişiklikler, nöronda nörotübül ve nörofilamanların düzensiz hale gelmesi, akson ve myelin kılıfın birbirlerinden ayrılmaları, aksonda varikoz şişkinliklerin oluşmasıdır. Myelin kılıf dejenerasyonu özellikle 36-48 saat içinde belirgin hale gelir (35). Yaralanmadan sonra 48-96 saatte genellikle akson devamlılığı kaybolur ve impuls iletimi bozulur. Birinci derece yaralanmalarda, patolojik değişiklikler ya hiç yoktur ya da çok hafiftir. İkinci derece yaralanmalarda, yaralanma bölgesinde veya bu bölgenin proksimalinde hafif histolojik değişiklikler oluşmaktadır. Yaralanma bölgesinin distalinde ise Wallerian dejenerasyonu meydana gelmektedir (6,25,26,30,35). Wallerian dejenerasyonunda primer histolojik değişiklik, akson ve myelin kılıfta oluşan yapısal bozukluklardır. Wallerian dejenerasyonunda Schwann hücrelerinin anahtar rol oynadıkları kabul edilmektedir (6,7,**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**,30).

Schwann hücreleri yaralanmadan sonra 24 saat içinde aktif hale geçer, çekirdek ve sitoplazmik büyüme gösteren hücreler, hızla bölünerek tamir yoluna yardım edecek birçok molekülü açığa çıkarırlar. Schwann hücreleri dejenerasyon sonrası, akson ve myelin artıklarını ortadan kaldırır. Periferik kandan göç eden makrofajlar ile Schwann hücreleri, fagositoz yaparak, yaralanma bölgesini 1 haftadan

bir kaç aya ulaşan bir sürede temizler (25,35,36). Endonöryumda bulunan mast hücrelerinin de önemli rollere sahip oldukları bilinmektedir. Bu hücreler yaralanmadan sonra ilk 2 hafta içinde çoğalırlar, makrofaj göçünü kolaylaştıran ve kapiller permeabiliteyi arttıran histamin ve serotonin salgırlar. Başlangıç evresinde, travmaya cevap olarak endonöral tüp şişer, ilk iki haftadan sonra çapı oldukça azalır. 5-8 haftada dejenere olan sinir artıkları genellikle ortadan kaldırılmıştır (25,35). 3. derece yaralanmalarda travma-aracılı lokal bir reaksiyon meydana gelir. İntrafasiküler yaralanmalarda sinir lifi distal kısımları elastik endonöryumlarından dolayı retraksiyona uğrar. Lokal vasküler travma, etkin enflamatuvar cevapla sonuçlanan hemoraji ve ödeme yol açar. Fibroblastlar proliferer olur ve oluşan fibröz bağ dokusu, yaralı segmentte şişkinliğe neden olur. İntrafasiküler skar dokusu sinir gövdesinde de gelişir ve genellikle perinöral skar dokusu ile kaynaşır (25,26,35).

2.1.12. Sinir Proksimalinde Meydana Gelen Değişiklikler

Yaralanmayı takiben proksimal segmentte, akson çaplarının azalmasıyla beraber sinir iletim hızı da düşmektedir. Rejenerasyon sürecinde, akson çapları artmakla beraber, yaralanmadan önceki normal boyutlarını kazanamamaktadır. Fonksiyonel periferel bağlantılar yeniden kurulmadan, hücre perikaryonunda tam bir iyileşme meydana gelmez. Akson çapındaki artış, hücre perikaryonundaki iyileşme ile doğru orantılıdır. Yaralanmayla beraber nöronun çekirdeği 6 saat içinde periferer göç eder, Nissl cisimcikleri bozulur ve nöroplazmaya dağılır. Bunun dışında, nöronun sinaptik bağlantıları da genellikle bozulur (6,30,35). Yaralanmadan sonra, periferik sinir mikroçevresinde, Schwann hücrelerinin destekleyici rolleri yanında, salınan pek çok tropik molekül etkili olmaktadır (6,7,24,36).



Resim- 10 Normal Motor Periferik Sinir Anatomisi ve Hasara Yanıtı

Not: Quan D.' Nin Nerve Conduction Studies and Electromyografi in The Evaluation of Nerve Injuries adlı yayınından alınmıştır.

2.1.13. Büyüme konisi

Hasara uğrayıp rejenere olmaya başlayan aksonun en distali büyüme ucudur ve koniktir. Büyüme konisinin çevreyi algılama ve bilgiyi işleyerek aksonu en uygun ortama yönlendirme yeteneği vardır (6,10). Filopodiumlar parmaklı çıkıntılardır ve aktif olarak genişlerler. Lamellipodlar membranın daha büyük genişlemeleridir. Bu çıkıntılar büyüme konisinin tabanında mikrotübüllerce desteklenen aktin filamanlar üzerinde uzanırlar (37).

Büyüme konisi 4 grup faktöre cevap verir. Bunlar;

- Nörotrofik faktörler
- Nöron geliştirici faktörler
- Matriks oluşturan prekürsörler
- Metabolik ve diğer faktörler

Hasara uğrayan aksonların onarımı için nöroftrofik faktörler denen maddeler Schwann hücrelerinden salgılanır. Bu faktörler nöron gelişimi ve maturasyonunda yardımcı görevler üstlenir. En iyi bilinen nörotrofik faktör Nöron Geliştirici Faktör (NGF)' dir. Bunun yanında silier nörotrofik faktör ve motor sinir gelişim faktörü de diğer önemli nörotrofik faktörlerdir (35,36,24,37).

2.1.14. Hasar alanı

Wallerian dejenerasyonundan önce şiddetli ve hızlı bir şekilde travmatik dejenerasyon görülür. Bu sırada masif bir protein ve de potasyum kaybı, sodyum ve kalsiyum artışı görülür (**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**,24).

2.1.15. Sinir Distalinde Meydana Gelen Değişiklikler

Bir akson kesildiğinde ve bütünlüğünü kaybettiğinde distal parça Wallerian dejenerasyonu ile karakterizedir. Wallerian dejenerasyonunun geç dönemlerinde Schwann hücre yığınları ile karakterize kollabe endonöral tüpler mikroskopta da ayırt edilmektedir. Schwann hücre sütunlarından oluşan aksonun rehber yolları, Büngner bandları olarak adlandırılır (10). Dolayısıyla bu bandlar, sinir yaralanmasından sonra, akson büyümesi için Schwann hücrelerinin nöronları destekleyici etkilerinin önemli bir göstergesidir. 4. ve 5. derece yaralanmalarda endonöral tüpler tamamen bozulur, Schwann hücreleri ve aksonlar tanımlanamaz hale gelirler. Bu tip yaralanmalarda epinöryumda önemli yapısal değişiklikler oluşur. 24 saat içerisinde dejenere olmuş sinir uçlarında reaktif epinöral fibroblastlar ortaya çıkar. Bütün bunlar, Schwann hücreleri, perinöral ve endonöral fibroblastların proliferasyonu ile birlikte (38,39). Etkin hücresel çoğalma bir hafta içinde en yüksek düzeye ulaşır ve uzun süre devam eder. Hafif yaralanmalarda olduğu gibi, kapiller permeabilite artmaktadır, bu artış, mast hücre proliferasyonu, ödem ve takip eden makrofaj infiltrasyonu sonucu oluşmaktadır. Hücresel cevapların büyüklüğü, sinir ve onu saran dokulardaki travmanın şiddetiyle paralel bir korelasyon göstermektedir. 4. ve 5. derece yaralanmalarda sinirin son kısımları, şişkinleşmiş ve dejenerasyona uğramış Schwann hücreleri, fibroblastlar, makrofajlar ve kollajen lif demetleri ile karakterizedir. Sinir rejenerasyonu, yaralanmanın şiddeti, skar oluşumunun büyüklüğü ve aksonun yaralı bölgeye ulaşmasından önce geçen süre gibi, pek çok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir (38,39).

2.1.16. Sinir Rejenerasyonu

Aksonal tomurcuklanmayı başlatarak rejenerasyonu sağlayan mekanizmalar hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Rejenerasyonun başlaması, yeni gen ekspresyonu ve proteinlerle ilgilidir. Büyüme konileri (growth cone), aksotomi sonrası proksimal aksonun en uç kısmındaki aksonal genişlemedir. Büyüme konileri, granülsüz endoplazmik retikulum, nörofilaman, mikrotübül, mitokondri, lizozom ve diğer veziküller bakımından oldukça zengindir. Buradan aksonal tomurcuklanma ile rejenerasyon başlar. Rejenerasyon işleminde aksonlar, nöronal olmayan hücreler ve ekstraselüler elemanlar rol oynar. Diğer taraftan yaralanma bölgesindeki nörotrofik faktörlerin rejenerasyondaki etkileri çalışmalarla gösterilmiştir. Rejenerasyon sırasında genellikle tübülün yapımı ve taşınması artmıştır (6,10,**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**,25,39). Fonksiyonel bir sinir rejenerasyonu için aksonal kesi sonrası nöron gövdesinin sağlam olması gereklidir. Rejenere olan aksonlar proksimal uçtan çıkıp kendilerine ait hedef organlarla birleşmelidir. Dejenere sinir kılıflarından ve denerve dokulardan salınan trofik faktörlerin, akson rejenerasyonunu uyardığı düşünülmektedir. Rejenere aksonlar, distal uçtaki endonöral tüpler içine doğru ilerler. İlerlemenin hızı, canlı türlerine göre değişmekte olup insanlarda ortalama günde 1-3 mm' dir. Rejenere aksonun çevresini kuşatan Schwann hücreleri, hem akson büyümesi için uyarıcıdır hem de proksimalden distale myelinizasyonu başlatır. Promyelinli lifler, doğru hedef organa ulaştıktan sonra proksimalden distale doğru akson çapı artar. Ancak kesi öncesi myelin kalınlığı ve akson çapına erişemezler (6,10,**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**,25,26,39).

2.2. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonunda, lipid hidroperoksitlerini oluşturmak için hücre membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asidi (PAYA - PUFA) ile oksijen radikali reaksiyona girer. Lipidlerin doymamışlık derecesi ile orantılı olarak peroksidasyon şiddeti artar. PAYA (PUFA)' ların oksitlenmesi ile yağ asidi radikali oluşur. Buna oksijenin eklenmesi ile lipid peroksi radikali oluşur. Peroksi radikali zincir reaksiyonunun taşıyıcısıdır (40).

Lipid peroksil radikali, lipid radikalinin moleküler oksijen ile etkileşmesi sonucu meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine dönüşürlerken, membran yapısındaki diğer

poliansature yağ asidlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarlar. Lipid peroksitlerinin yıkımından oluşan ürünlerden biri malondialdehittir (MDA). Lipid peroksidasyonu membran yapısına direkt olarak ve reaktif aldehydler üreterek diğer hücre bileşenlerine indirek olarak zarar verir. Mikroviskositesi ve membran permeabilitesi ciddi şekilde etkilenir. Membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna peroksidasyonla oluşan MDA sebep olur. Bu da iyon transportu, enzim aktivitesi, deformasyon ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerini değiştirir (27, 30,40).

Membran hasarı ile ortaya çıkan serbest radikallerin plazma ve organel membranları üzerinde başlattıkları lipid peroksidasyonu mevcut hasarı şiddetlendirir. Lipid peroksidasyonu yeni serbest radikallerin oluşumuna neden olur. Ortamda doymamış yağ asidleri, oksijen ve metal katalizörler bulunduğu sürece logaritmik olarak lipid peroksidasyonu artar. Lipid radikalleri veya MDA gibi peroksidasyon ürünleri aracılığı ile lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda yaygın hale geldiği zaman hücresel yapı ve fonksiyon hasarları ortaya çıkmaktadır. Yapısal hasarın derecesine göre, plazma membranında akışkanlığın azalması, membran geçirgenliğinin değişmesi, membran potansiyeli azalması, membrana bağlı enzimlerin aktivitesinde azalma gözlenir. Lizozomal ve mitokondrial membranları ilgilendiren ileri derecede lipid peroksidasyonu ile organel içeriğinin hücre içine salınması sonucunda proteoliz hızlanır ve doku hasarının derecesi artar. Membran geçirgenliğinin bozulması ile protein sentezi için çok önemli olan potasyum ve magnezyum iyonlarının konsantrasyonları değişir ve buna bağlı olarak protein sentezinde inhibisyon gerçekleşir (40).

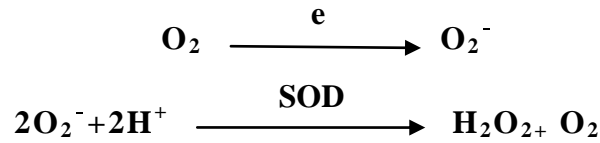
2.3. Serbest Radikaller

Serbest radikal, eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküldür. Elektronlar atom veya molekülde genelde eşlenmiş olarak bulunmaları nedeniyle molekül stabildir ve reaktif değildir. Fakat, moleküle bir elektron ilavesi ya da bir elektron kaybı onu reaktif hale getirir. Organizmada serbest radikal atakları sürekli olarak olmaktadır. Fizyolojik şartlarda ve dış etkenlere karşı organizmanın savunmasında da belirli oranda oluşan serbest radikallerin, içsel mekanizmalarla organizmaya olabilecek zararlı etkileri önlenir. Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikallerin endojen kaynakları oksijen, uyarılmış nötrofil, mitokondriyal elektron

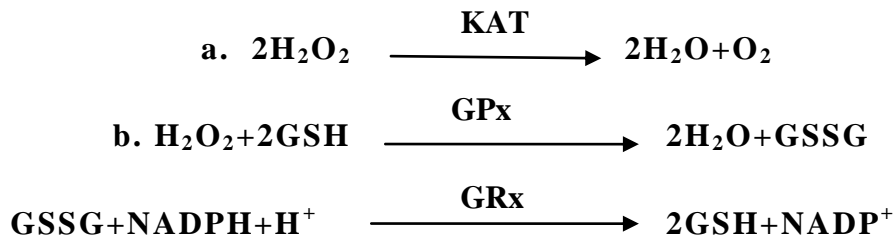
transport sistemi, peroksizom, NO, endoplazmik retikulum ve plazma membranı olarak sayılabilir. (41,42,43)

Oksijen molekülüne bir elektron ilavesi ile oluşan O_2^- , oksidan hasar oluşumu ile birlikte artan ve serbest radikal hasarına karşı koruyucu antioksidan bir enzim olan SOD aracılığı ile H_2O_2 ' e indirgenir. H_2O_2 eşlenmemiş elektron içermediğinden tek başına radikal değildir.

H_2O_2 ' in hücre içinde metabolizması birkaç şekilde olabilir.

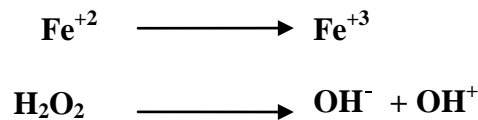


1- H_2O_2 , katalaz (KAT) veya GPx tarafından toksik olmayan ürünlere dönüştürülür.



2- H_2O_2 geçiş metallere varlığında toksik OH^- radikaline dönüşür. (41)

Oldukça reaktif ve toksik bir radikal olan OH^- radikali, ilk karşılaştığı molekül ile reaksiyona girer. DNA, protein, karbonhidrat ve lipitler gibi



makromoleküllerle reaksiyona girerek bu yapılarda oksidatif hasara neden olan OH^- radikali, bu etkiyi büyük molekül yapısı ve elektronegativitesi nedeni ile yapar. Makromoleküller hücrelerde kısıtlı miktarlarda bulduklarından bu yapılarda oluşan hasar oldukça önemlidir (11,30,41,43).

2.3.1. Serbest Radikallerin Biyolojik Hedefleri

- Serbest radikaller hücre ve dokularda birçok zarara yol açmaktadır;
- Nükleotid yapılı koenzimlerin yıkımı,
- DNA' nın tahrip olması,
- Steroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi,
- Lipid peroksidasyonu zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi,
- Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler,
- Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,
- Protein ve lipitlerle kovalan bağlantılar yapması,
- Mukopolisakkaritlerin yıkımı,
- Proteinlerin tahrip olması ve protein döngüsünün artması,
- Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değişmesi,
- Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşmasıdır.

2.3.1.1. Membran Lipidlerine Etkileri (Lipid Peroksidasyonu)

Lipid peroksidasyonunda, lipit hidroperoksitlerini oluşturmak için hücre membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asidi (PAYA) ile oksijen radikali reaksiyona girer. Lipidlerin doymamışlık derecesi ile orantılı olarak peroksidasyon şiddeti artar. PAYA' ların oksitlenmesi ile yağ asidi radikali oluşur. Buna oksijenin eklenmesi ile lipid peroksi radikali oluşur. Peroksi radikali zincir reaksiyonunun taşıyıcısıdır. E vitamini ve/veya erdostein gibi bir antioksidan tarafından önlenmezse komşu PAYA moleküllerini okside eder (42,43).

Lipid peroksil radikali, lipid radikalinin moleküler oksijen ile etkileşmesi sonucu meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine dönüştürürken, membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarlar. Lipid peroksitlerinin yıkımından oluşan ürünlerden biri malondialdehidtir (MDA). Lipid peroksidasyonu membran yapısına direkt olarak ve reaktif aldehydler üreterek diğer hücre bileşenlerine indirek olarak zarar verir. Mikroviskositesi ve membran permeabilitesi ciddi şekilde etkilenir (42,43).

Lipid peroksidasyonu yeni serbest radikallerin oluşumuna neden olur. Ortamda doymamış yağ asitleri, oksijen ve metal katalizörler bulunduğu sürece lipid peroksidasyonu logaritmik olarak artar. Lipid radikalleri veya MDA gibi peroksidasyon ürünleri aracılığı ile lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda yaygın hale geldiği zaman hücresel yapı ve fonksiyon hasarları ortaya çıkmaktadır. Yapısal hasarın derecesine göre, plazma membranında akışkanlığın azalması, membran geçirgenliğinin değişmesi, membran potansiyeli azalması, membrana bağlı enzimlerin aktivitesinde azalma gözlenir. Lizozomal ve mitokondrial membranları ilgilendiren ileri derecede lipid peroksidasyonu ile organel içeriğinin hücre içine salınması sonucunda proteoliz hızlanır ve doku hasarının derecesi artar. Membran geçirgenliğinin bozulması ile protein sentezi için çok önemli olan potasyum ve magnezyum iyonlarının konsantrasyonları değişir ve buna bağlı olarak protein sentezinde inhibisyon gerçekleşir (42).

2.4. Antioksidan Savunma Mekanizmaları

SOR'un oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere organizmayı koruyan "Antioksidan savunma sistemi" dört yolla etki göstermektedir:

- 1- Süpürücü etki; SOR'u etkileyerek onları tutma, yok edilmesidir. Antioksidan enzimler, ve küçük moleküller bu yolla etki gösterirler.
- 2- İnaktif şekle dönüştürücü etki; SOR ile etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltılmasıdır. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptir.
- 3- Zincir kırıcı etki; serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve minerallerin etkileri bu yollardır.
- 4- Onarıcı etki; serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklindedir.

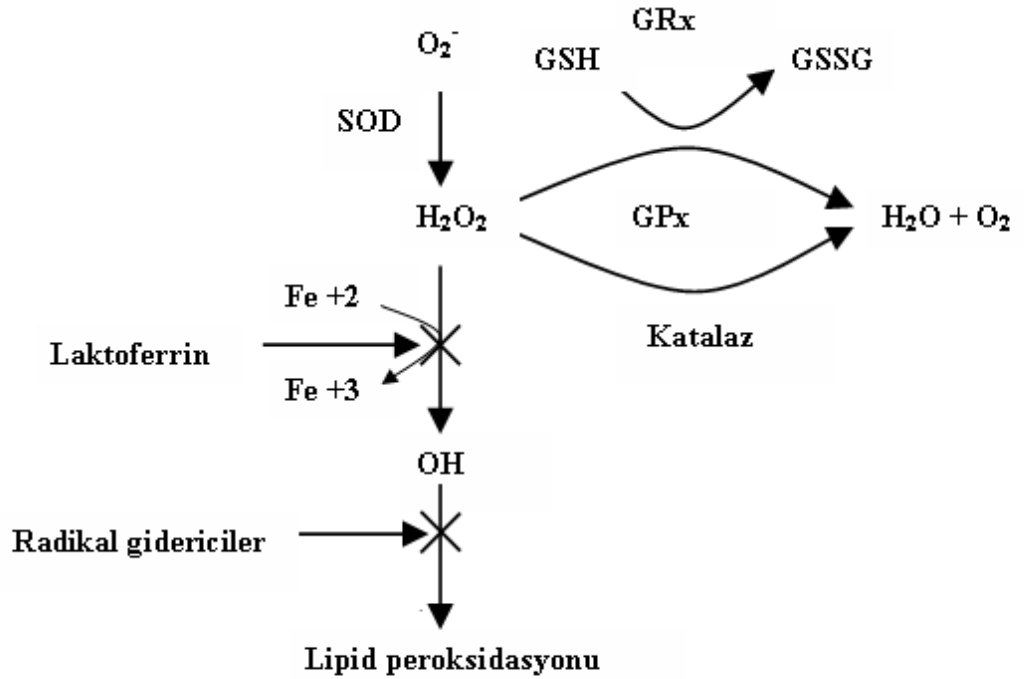
Bu etkileri geliştirebilen endojen ve eksojen antioksidanlar mevcuttur.

2.4.1. Endojen Antioksidanlar

2.4.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dizmutaz (SOD)' lar O_2^- 'yi H_2O_2 'ye çeviren dismutasyon reaksiyonunda etkili metalloprotein yapısında enzimlerdir. SOD, mantarlar, bitkiler ve hayvanları da içeren bütün ökaryotik hücrelerde bulunur. İnsanlarda 3 tip SOD saflaştırıldı; Cu/Zn-SOD, Mn-SOD ve ekstrasellüler SOD (EC-SOD). Cu/Zn-SOD sitozolde bol miktarda bulunur ve nükleusta da bulunduğu gösterilmiştir. Mn-SOD mitokondriyal matrikste bulunur. Her subunitin 4 subünitesi bulunur. EC-SOD plazmada bulunur ve düşük aktiviteli olduğu ileri sürülmüştür. SOD, bu dismutasyon reaksiyonunda hem redüktan hem de oksidan olarak hareket eder. SOD, oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı katalaz ve glutasyon enzim sistemleriyle birlikte çalışan bir savunma mekanizmasıdır. Bu şekilde oluşan H_2O_2 , GPx ya da katalaz enzimleri tarafından su ve oksijene indirgenmektedir. Peroksit radikalinin dismutasyonu ile meydana gelen H_2O_2 doku için biyolojik avantaj sağlar (40,41,42,43).



Şekil- 1 Antioksidan Savunma Mekanizması

Genel olarak SOD enzim sistemi, serbest radikal hasarına karşı koruyucu bir sistemdir. Bu enzim, hücrede değişik kompartmanlarda yer almaktadır. Sitozolik enzim, her biri içinde bir ekivalan çinko ve bakır taşıyan birbirine benzer iki alt üniteden meydana gelir. Fakat mitokondriyal enzim, sadece manganez (Mn^{+2}) içerir. Bütün temel aerobik dokularda dismutaz bulunmaktadır (42,43).

2. Katalaz

Katalaz; H_2O_2 'yi suya indirgeyen, demir içeren "Hem" proteinidir. Pek çok hücrede bulunur. Ancak, nöronlarda ve miyokard hücresi çok az miktarda bulunur. Katalaz enziminin inhibisyonu endotel hücreleri üzerindeki H_2O_2 toksisitesini etkilemez, bu yüzden bu enzimin antioksidan rolü tam olarak aydınlatılamamıştır (40,41,42,43).



3. Nitrik oksit (NO)

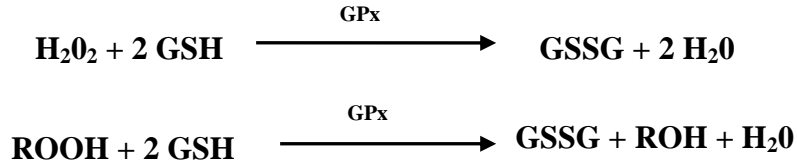
Nitrik oksitin vazodilatör, platelet adhezyonu ve agregasyonu, sınırlı nötrofil aktivasyonu etkileri vardır. Süperoksidin düşük hücre düzeylerinde etkilidir. Endotelial yüzey ile lökositler arasındaki adezyonu azaltır. NO' nun hem proapoptotik hem de antiapoptotik olduğu bildirilmiştir. Yüksek konsantrasyonunda cGMP'den bağımsız mekanizma ile indüklenebilir, düşük konsantrasyonunda ise NO' dan cGMP bağımlı mekanizma ile sitoprotektif endotelial NO sentaz (eNOS), indüklenebilir NO sentaz (iNOS), nöronal NO sentaz (nNOS) meydana gelir. Güçlü bir oksidan ajan olan peroksinitrit ($OONO^-$), NO' nun O_2^- ile reaksiyona girmesi ile oluşur. $OONO^-$, nötrofil gibi insan inflamatuvar hücrelerinde apoptozise yol açar. NO molekülü inflamatuvar bozukluklarda ve nörodejeneratif durumlarda artar. NO, fizyolojik ve patolojik süreçlerin önemli bir biyolojik habercisidir. L-argininden NO sentaz yardımıyla NADPH ve O_2 ' ye bağlı süreçlerde meydana gelir (44,45).

4. Glutasyon peroksidaz (GPx) ve glutasyon redüktaz (GRx)

Glutasyon peroksidaz eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. Gerek LOOH'ları gerekse H_2O_2 ' yi metabolize etmektedir. Selenyum bağımlı ve selenyum bağımsız iki farklı tipi vardır. Selenyum bağımsız tipi sadece LOOH'ları metabolize ederken, selenyum bağımlı tipi ise H_2O_2 ve LOOH'ları

metabolize eder. Bu reaksiyonlar esnasında GSH hidrojen verici olarak görev yaptığından H_2O_2 ve LOOH indirgenirken GSH ise okside şekline (GSSG) dönüşür. GSSG ise NADPH bağımlı GRx tarafından tekrar GSH' a indirgenir (44).

GPx aşağıda belirtilen reaksiyon basamaklarında rol almaktadır:



Okside glutatyon hücreyi antioksidanlara karşı koruyamaz. Okside glutatyon, tiol içeren proteinlerin konformasyonu ve aktivitesi üzerine zararlı etkili prooksidan bir madde olduğu için bu okside formun ileride kullanılmak üzere tekrar, deposu sınırlı olan GSH' a dönüştürülmesi gerekmektedir. Hücre, elektron kaynağı olarak NADPH kullanan glutatyon redüktazın katalizlediği bir reaksiyon ile indirgenmiş glutatyonu tekrar oluşturur. NADPH, hidrojen peroksidin indirgenmesinde indirekt olarak elektronları sağlar. Oluşan $NADP^+$ ise Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD)

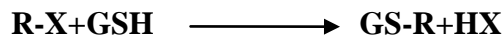


enzimi yardımıyla NADPH' a dönüştürülür (42,44).

5. Glutatyon S-Transferaz (GST)

Sitozolda bulunan GST dimerik yapıdadır. Yabancı maddelerin biyotransformasyonunda rolleri olup, çeşitli eksojen ve endojen bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu katalize eder (44).

6. Mitokondriyal sitokrom oksidaz

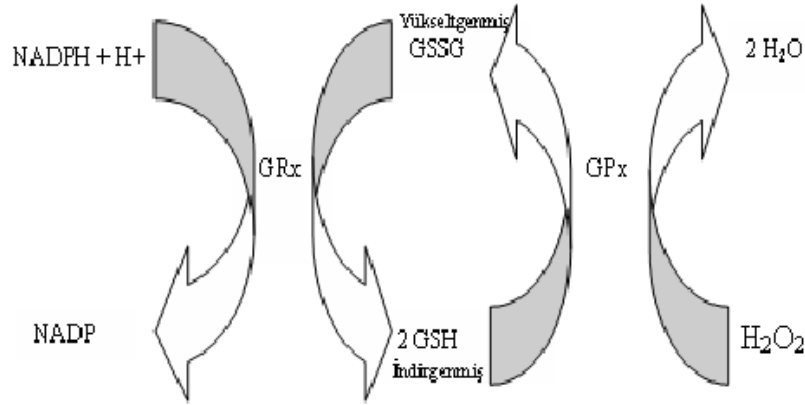


Serbest oksijen radikalini detoksifiye eden mitokondriyal sitokrom oksidaz, solunum zincirinin son enzimidir. Fizyolojik şartlarda bu reaksiyon sürekli olan normal bir reaksiyondur, bu şekilde yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi (ATP) sağlanır. Fakat çoğu zaman O_2^- radikal üretimi mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve bu yüzden diğer antioksidan enzimler devreye girerek zararlı etkilerine engel olurlar (41,44).

2.4.1.2. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar

1. Glutatyon

Glutatyon, GPx ve GRx gibi ksenubiyotiklerin, karsinojenlerin, serbest radikallerin ve lipopolisakkaridler gibi endojen ve eksojen zararlı bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli rol oynayan çok önemli bir antioksidan olarak bilinmektedir. GSH'ın ROO^- ve disülfitlerle GPx enzimi varlığında reaksiyonu sonucu GSSG oluşmaktadır. GSSG konsantrasyonunda artış, oksidatif stresin bir göstergesi olmaktadır. GSSG, tiol içeren proteinlerin konformasyonu ve aktivitesi üzerine zararlı etkileri olan prooksidan bir madde olduğu için hızla redüklenmesi gerekmektedir. GRx enzimi NADPH varlığında GSSG'yi GSH'a redüklemektedir (44).



Şekil- 2 GSH Redoks döngüsü

Membrana bağlı transpeptidaza aktarılarak, hücre içi glutatyon taşıyıcı. γ -glutamil sistein taşıyıcısı hücrenin korunmasında oldukça önemlidir. GSH'ın membrana bağlı olan aminoasitlerin oluşumuna, γ -glutamil transpeptidaza taşınması yol açmaktadır. Hücrenin GSH taşıyıcısı, tiol gruplarını ve α -tokoferol gibi diğer membran bileşiklerini koruyarak hücre membranının oksidatif hasara karşı korunmasını sağlamaktadır. Bununla birlikte serbest radikallerle direkt reaksiyonla, GPx'e ve GST'ye substrat olmasıyla bir antioksidan olarak davranmaktadır (12).

2. C Vitamini

Askorbat suda eriyen bir vitamindir ve zincir kıran bir antioksidandır. C vitamini, E vitamininden daha yavaş olarak ROO^- radikallerini ortadan kaldırabilir. Askorbik asit ve askorbat ile özellikle O_2^- ve OH^- radikali reaksiyona girer.

Askorbat hem antioksidan hem de preoksidan işlevi olan bir yapı olarak bilinir. Sonuçta; antioksidan işlev, askorbattan radikale elektron veya hidrojen taşınması ile gerçekleşir. Diğer taraftan özellikle H_2O_2 ve Fe^{+2} varlığında redoks reaksiyonlarına katılan askorbat, mikrozomal lipid peroksidasyonunda preoksidan rol oynayabilir (44).

E ve C vitaminleri gibi enzimatik olmayan antioksidanlar SOR bulunan yüksek enerjili elektronları yapılarına alarak SOR'un meydana getireceği oksidatif hasarın azaltılmasına katkıda bulunurlar. Organizmada O_2^- radikalleri enzimatik dismutasyonla temizlenirken, antioksidan olarak bilinen bileşikler de oksijen radikallerinin yok edilmesini sağlarlar. Bu kimyasal bileşikler arasında E, C vitaminleri ve selenyum (Se) önemli bir rol oynamaktadırlar (40,44).

3. E Vitamini (α -tokoferol)

E vitamini zincir kırıcı bir antioksidan olup, her bir E vitamini molekülü iki oksidasyon zincirini durdurabilir. Singlet oksijenin kuvvetli bir tutucusu olan E vitamini ayrıca OH^- radikali, ROO^- radikali ve O_2^- radikali ile direkt olarak reaksiyona girebilirler. Lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu serbest radikal temizleyicilerindendir. Okside olan E vitamini, parçalanmadan önce askorbik asit ve GSH tarafından α -tokoferole geri çevrilebilir (40,44,46).

4. Karoten

Serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek ve ortamdaki radikalleri toplayarak β -karoten ve retinol antioksidan aktivitesini gerçekleştirmektedir (44,46).

5. Melatonin

Melatonin oksijen radikallerinden O_2 , OH^- radikali, ROO^- radikali ve O_2^- radikali üzerine etkilidir. Oksidatif hasardan nükleus DNA' sını, membran lipidlerini ve sitozolik proteinleri korur. Bununla beraber, NOS üzerine inhibitör etki yapar, antioksidan sisteme ait olan SOD, GPx, GRx ve G6PD'ı destekler (37,44).

6. Ürat, Bilirubin, Albümin

Normal plazma konsantrasyonunda ürat, OH^- radikali, ROO^- radikalleri, O_2^- radikalini temizler. Fakat, lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. Bilirubin, OH^- radikali, ROO^- radikalleri ve O_2^- radikali toplayıcısı olduğu gibi, lipid peroksidasyonunun zincir devam ettirici radikalini de etkisiz hale getirir. Albümin ise LOOH ve HOCl toplayıcısıdır (37,44,46).

2.4.2. Eksojen Antioksidanlar

- a- Enzim inhibitörleri: Pterin aldehit, oksipürinol, folik asit, allopürinol, tungsten, NADPH oksidaz inhibitörleri (kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, adenzin, lokal anestetikler).
- b- Nötrofil adhezyon inhibitörleri
- c- Non-enzimatik serbest radikal toplayıcıları: dimetilsülfoksit, mannitol.
- d- Demir-redoks döngüsü inhibitörleri: desferroksamin.
- e- Gıda antioksidanları: Butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole, sodyum benzoat, propylgalate, ethoxyquin.

Lökosit (Nötrofil, lenfosit, monosit) Aktivasyonu;

Doku hasarı ve onarımında dokularda lökosit toplanması temeldir. Lökosit yüzeyindeki adhezyon molekülleri kan akımından göçü yönlendirerek sonunda yüksek derecede koordinasyonlu sıralı şekilde işlemi başlatırlar. Monositler, nötrofiller, eozinofiller, lenfositler ve diğer predominant lenfositler inflamasyon oluşumunda büyük rol oynarlar (11,12,24,30).

3. MATERYAL METOD

3.1. DeneY Hayvanları

Bu alışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı tarafından deneY hayvanları ve araştırma merkezinde gerçekleştirildi. Çalışma için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan 01.03.2011 tarihiyle 2011/3-1 nolu sayı izin alındı. (Ekler 1) Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi DeneY hayvanları barınağından temin edilen ratlar $24 \pm 2^\circ\text{C}$ oda sıcaklığında ve %50-60 nem ortamında saklandı. Hayvanlar Standard laboratuvar yemi ve su ile beslendiler. Ağırlıkları 200-250 gram arasında olan 30 adet dişi Sprague Dowley rat kullanıldı.

3.2. Hasar Modeli

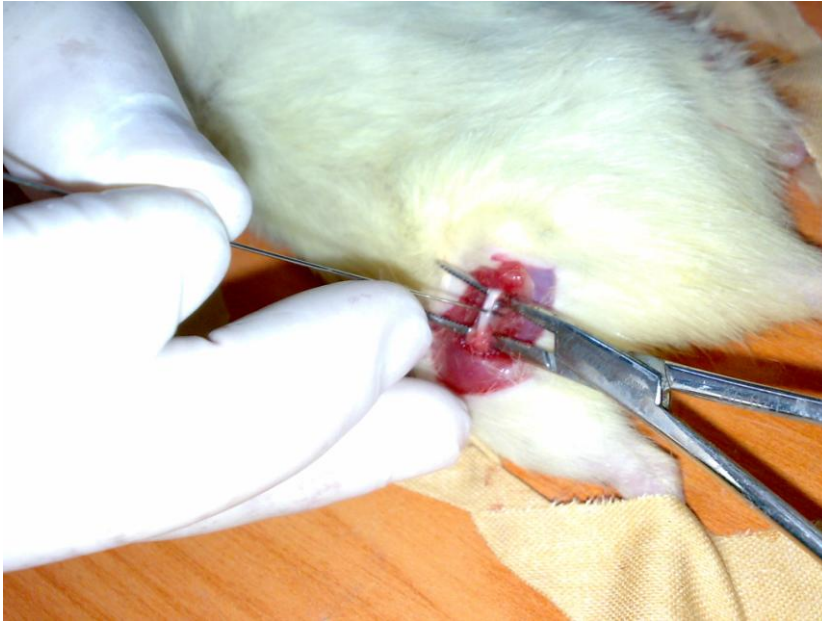
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma laboratuvarından temin edilen 200-250 gram ağırlıkta 30 adet Sprague Dowley cinsi rat 5 gruba ayrılmıştır. Denekler; kontrol grubu (Grup 1), 25 G Keskin Uçlu İğne (Grup 2), 25 G Künt Uçlu İğne (Grup 3), 27 G Keskin Uçlu İğne (Grup 4), 27 G Künt Uçlu İğne (Grup 5) olmak üzere 5 gruba ayrıldı.



Resim- 11 Rat' ta Siyatik Sinirin Eksplorasyonu



Resim- 12 Rat' ın Siyatik Sinirine İğne İle Ponksiyon



Resim- 13 Rat' ın Siyatik Sinirine İğne İle Ponksiyon Edilmiş Hali

3.3. Deney Grupları

Rastgele olarak eşit sayıda (n=6) 5 deney grubuna ayrılan ratların anestezisi İP (İntraperitoneal) yol ile Urethane %99 ile 1g .kg⁻¹ ile gerçekleştirildi.

Grup 1: Kontrol: Cerrahi eksplorasyon uygulanıp siyatik sinir ponksiyonu yapılmayan cilt sütürasyonundan 48 saat sonra sinir dokusu örneği alınan grup.

Grup 2: 25 G Keskin uçlu iğne kullanılarak intranöral ponksiyon yapılan cilt sütürasyonu yapıldıktan 48 saat sonra sinir dokusu örneği alınan grup.

Grup 3: 25 G Kunt uçlu iğne kullanılarak intranöral ponksiyon yapılan ve cilt sütürasyonundan 48 saat sonra sinir dokusu örneği alınan grup.

Grup 4: 27 G Keskin uçlu iğne kullanılarak intranöral ponksiyon yapılan cilt sütürasyonundan 48 saat sonra sinir dokusu örneği alınan grup.

Grup 5: 27 G Kunt uçlu iğne kullanılarak intranöral ponksiyon yapılan cilt sütürasyonundan 48 saat sonra sinir dokusu örneği alınan grup.

3.4. Biyopsi Örneklerinin Alınması

Tespit edilecek operasyon sahası; Povidone İodine scrub (MEDICA brush; %4 chlorhexidine scrub, MEDICA BV, Hollanda) ile 10 dakika fırçalandı ve %10 povidone iodine solusyonu (POVİOD; Saba Türkiye) ile dezenfekte edildi. Ratlara operasyondan 30 dakika önce, profilaktik antibiyotik olarak tek doz 50 mg/kg seftriakson intraperitoneal olarak verildi. Anestezi için ise intraperitoneal (İP) yoldan Urethan % 99 1 gr.kg⁻¹ [Ethyl carbamate: Sigma- Aldrich; 94300-50] verilerek anestezi sağlandı. Sağ siyatik sinir cerrahi olarak eksplore edildikten sonra kanamalar bipolar koter yardımıyla kontrol altına alınarak iyi bir hemostaz sağlandı. Siyatik sinir ve kas dokusu izole edildi. Değişik ebatlarda ve keskinlikte iğneler kullanılarak siyatik sinir ponksiyonu uygulandıktan sonra dokular katlarına uygun şekilde kapatıldı. 48 saat sonra siyatik sinir yeniden ortaya konarak histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için eşit iki parçaya ayrılarak saklandı.

Histopatolojik değerlendirme Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalında, diğer biyokimyasal değerlendirmeler ise Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalında yapıldı.

Doku örnekleri, biyokimyasal değerlendirme yapılana kadar serum fizyolojik içeren epandorflar içinde -20 °C de çalışma zamanına kadar bekletildi ve işleme başlamadan hemen önce +4 °C' de erimeye bırakıldı. Eriyen doku örnekleri teker teker soğuklukları muhafaza edilerek tartıldı ve cam tüplere konuldu. Dokulara 1 gr doku 3 hacim (hacim/ağırlık) soğuk %1.15 M KCI eklendi. Dokular 16.000 devir/dakika hızda 3 dakika süreyle homojenize edildi. Enzim aktivite kaybı olmaması için örnekler buz dolu küvete yerleştirildi. Daha sonra homojenatlar 14.000 x rpm'de +4 °C 45 dakika soğuk santrifüj edilerek süpernatantlar epandorf tüplere ayrıldı. Bu ayrılan süpernatantlardan MDA, SOD ve KAT enzim aktivite

ölçümleri yapıldı.

3.5. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini

Süperoksit dismutaz, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin H₂O₂ ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Bu yöntem, ksantin ve XO kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin, 2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenol]-5- feniltetrazolium klorid (p-iyodonitrotetrazolium viyole: INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazan boyasının 505 nm dalga boyunda verdiği OD (optik dağılım) okunması esasına dayanmaktadır. Örnekte bulunan SOD, süperoksit radikallerini ortamdan uzaklaştırarak 2 numaralı formazan reaksiyonunu inhibe eder. Sonuçta oluşan kırmızı rengin OD' si SOD yokluğunda oluşan renge göre azalır. Bu aradaki farkın belirlenmesiyle SOD aktivitesi ölçülür

3.5.1. Ayıraçlar

1. CAPS (3-(3-kloroheksilamino)-1-propan sülfonik asit) Tamponu (pH 10.2)

50.00 mM CAPS

0.94 mM EDTA

Doymuş NaOH

2. Substrat karışımı

0.05 mM Ksantin

0.025 mM INT

3. 80 Ü/L Ksantin oksidaz

4. 0.01 M Fosfat tamponu (pH 7.0)

K₂P₀₄

NaH₂P₀₄

5. Standard (S6): 5,6 Ü/ml SOD içeren Ransod kitinin Standardıdır.

3.5.2. Standard Eğrinin Çizimi

Liyofilize olarak hazırlanmış SOD standardı 10 ml bidistile su ile sulandırılır. Standard eğri çiziminde kullanılacak olan diğer SOD derişimleri fosfat tamponuyla Tablo-3' deki gibi hazırlanır. 2-8 °C'de saklandığında 2 hafta süreyle dayanıklıdır.

Tablo- 3 SOD Standard eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı

Kullanılacak Standartlar	Standard Solüsyonun Hacmi	0.01 M Fosfat Tamponunun Hacmi	SOD Derişimi (Ü/ml)
S5	6 ml S6	5 ml	2.8
S4	5 ml S5	5 ml	1.4
S3	5 ml S4	5 ml	0.7
S2	3 ml S3	6 ml	0.23

Süperoksit dismutaz aktivite tayini için, Siyatik sinir ve inerve ettiği kas dokularından hazırlanan süpernatant %30 ile %60 arasında % inhibisyon aralığı olacak şekilde 0.01 M fosfat tamponu ile 1: 65 oranında sulandırılır ve aktivite tayini yapılır.

Tablo- 4 SOD Standard eğri çizimi için kuvars küvetlerin hazırlanışı

	Kör (µl)	Standard (µl)
Standard	-	25
0.01 M Fosfat Tamponu	25	-
Substrat Karışımı	850	850
Küvetler iyice karıştırılır		
Ksantin oksidaz	125	125

Tekrar karıştırıldıktan 30 saniye sonra çalışma körünün ve standardın 37°C' de, 505 nm dalga boyunda havaya karşı başlangıç absorbansları (A₁) okunur. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dakika sonra son absorbansları (A₂) tekrar okunur.

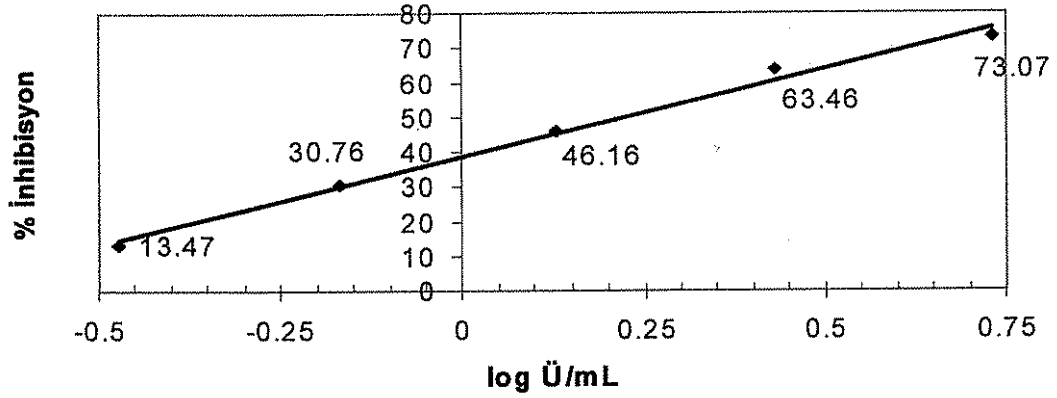
3.5.3. Hesaplama

Çalışma körü SOD içermediği için inhibisyona uğramamış reaksiyon olarak kabul edilir ve değeri %100 olarak alınır. Tüm Standardlar için % inhibisyon değeri bunlara ait çalışma körüyle oranlanarak 100'den çıkarılması ile hesaplanır.

AA/dak. Standard = $A_2 - A_1$ / 3 dakika % inhibisyon Standard = 100 - AA/dak Standard x 100 A çalışma körü

Hesaplama yapıldıktan sonra x yatay eksenine SOD derişimlerinin (Ü/ml) logaritmik dönüşüm değerleri, Y (dikey) eksenine Standardlara ait % inhisyon değeri

yazdırılarak Standard eğri elde edilir (Şekil 7).



Şekil- 3 SOD Standard Eğrisi Çalışması

Hesaplama:

AA/dak örnek = $A_2 - A_1 / 3$ dakika % inhibisyon örnek = $100 - AA/dak$ örnek / 100 A çalışma körü

Örneğe ait hesaplanan yüzde inhibisyon değerine karşılık gelen SOD değeri Standard eğri kullanarak bulunur. Ü/ml biriminden ölçülen SOD spesifik aktivitesi Ü/mg protein birimlerinden verilmiştir.

SOD Spesifik Aktivitesi (Ü/mg protein) - SOD Değeri (Ü/ml) Protein (mg/ml)

3.6. Malondialdehit Düzeyinin Tayini

Aerobik şartlarda pH 3.4' de tiyobarbitürik asit (TBA) ile örneğin 90-95°C' de inkübasyonu sonucu oluşan lipit peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA' nın TBA ile pembe renkli kompleks oluşturma esasına dayanır. Oluşan renk şiddeti ortamdaki MDA konsantrasyonu ile doğru orantılıdır; 532 nm' de spektrofotometrik olarak değerlendirilir.

3.6.1. Ayıraçlar

1. SDS % 8,1'lik
Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)
2. Asetik Asit % 20' lik
3. TBA % 0,8' lik
Tiyobarbiturik Asit
4. N-Butanol/Piridin Çözeltisi (14/1)(v/v)

5. Stok Standard

tetramethoksiopropan (yoğunluk= 0.99 g/ml)

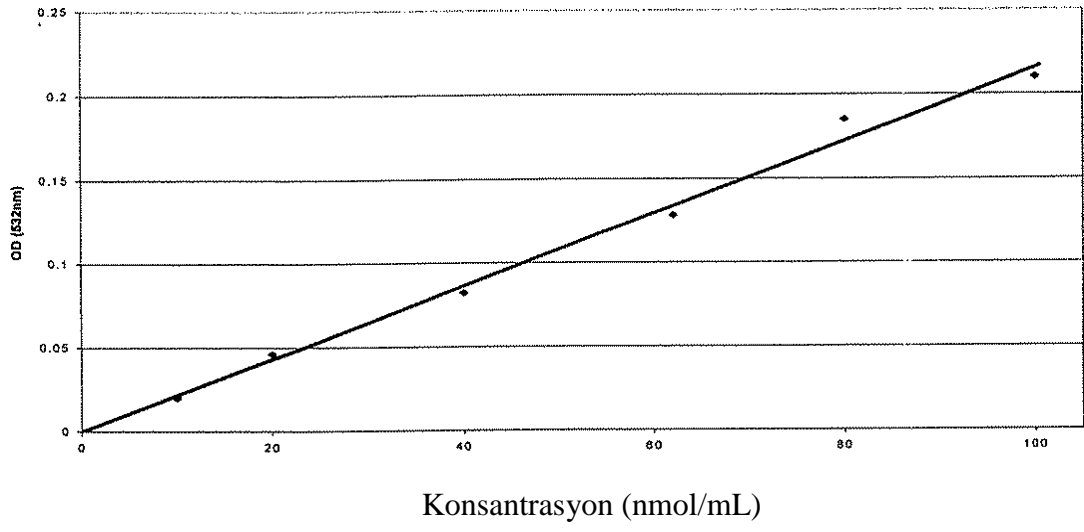
3.6.2. Standard Eğri Çizimi

Stok Standarddan 6,6 µl alınıp 100 ml' ye saf su ile tamamlanarak günlük Standard hazırlanır. 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 nmol/ml konsantrasyonunda çalışma Standardları hazırlanır. Ayıraçlar tüplere aşağıda belirtildiği şekilde ilave edilir.

Tablo- 5 MDA Standard eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı

Tüp No.	0 0	1	2 80	3 60	4	5 20	6 10
Konsantrasyon(nmol/ml)		100			40		
Standard (ml)	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
SDS (ml)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Asetik asit (ml)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1,5	1.5
TBA (ml)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Saf su (ml)	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
90 °C'de 45 dk. inkübe edilir.			Ve soğutulur.				
Saf su (ml)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
N-Butanol/Piridin (ml)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

Tüpler N-Butanol/Piridin ilavesinden sonra iyice karıştırılır. Daha sonra 4000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilir, üstteki organik kısım alınıp 532 nm' de absorbans okunur. Standard eğri grafiği çizilir (Şekil 8).



Şekil- 4 Malondialdehit Standard eğrisi çalışması

Örnek çalışması için yukarıda bahsedildiği gibi hazırlanan belirli hacimde doku örneği alınır ve MDA tayini yapılır.

Tablo- 6 Dokuda MDA düzeyinin tayini için tüplerin hazırlanışı

	Kör (ml)	Std (ml)	Örnek (ml)
Std (60 nmol/ml)	-	0.1	-
Örnek	-	-	0.1
SDS	0.2	0.2	0.2
Asetik Asit	1.5	1.5	1,5
TBA	1.5	1.5	1.5
Saf su	0.8	0.7	0.7
90 °C'de 45 dk. inkübe edilir		Ve soğutulur.	
Saf su	1.0	1.0	1.0
N- Butanol/Piridin	5.0	5.0	5.0

Daha sonra 4000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilir, üstteki organik kısım alınarak 532 nm' de absorbans okunur. Sonuç Standard eğrisinden değerlendirilir.

3.6.3. Hesaplama

nmol/ml olarak ölçülen MDA düzeyi nmol/mg protein olarak verilmiştir.

MDA Düzeyi (nmol/mg protein)-MDA Değeri (nmol/ml)/Protein (mg/ml)

3.7. Doku Katalaz (KAT) Analizi

Beutler metoduna göre spektrofotometrik olarak 230 nm dalga boyunda hidrojen peroksit yoğunluğunun azalması esasına dayanan bir yöntemdir. Ölçüm ortamında 1 M Tris HCl, 5 mM Na₂ EDTA tampon solüsyonu (pH 8.0), 1 M fosfat tampon solüsyonu (pH 7.0) ve 10 mM H₂O₂ solüsyonundan bulunmaktadır. Ölçülen KAT aktivitesi kanda U/ml, dokuda (homojenat 1/50 dilüe edilerek çalışıldı.) U/mg

protein olarak ifade edildi.

3.8. Histopatolojik Değerlendirme

Siyatik sinirden alınan örneklerin histopatolojik incelenmesi için, doku kesitleri % 10' luk formaldehit içinde fikse edildi. Rutin işlemlerin sonrasında doku kesitleri Haris hematoksilin-eosin boyası ile boyanarak ışık mikroskobu (X100 büyütme) ile değerlendirildi.

3.9. İstatiksel Analiz

Biyokimyasal tetkiklerin analizinde, non-parametrik tekniklerden olan, Kruskall Wallis ve Mann Whitney U testleri kullanılmıştır.

Bütün analizlerde,

Sign değeri 0,05'ten küçük ise gruplar arasında anlamlı farklılık vardır ($p < 0,05$) (sonuç önemli).

Sign değeri 0,05'ten büyük ise gruplar arasında anlamlı farklılık yoktur ($p > 0,05$) (sonuç önemsiz).

Histopatolojik verilerin analizinde ise;

Analizde, non-parametrik tekniklerden olan, Ki kare, Kruskall Wallis ve Mann Whitney U testleri kullanılmıştır.

Bütün analizlerde,

Sign değeri 0,05'ten küçük ise gruplar arasında anlamlı farklılık vardır ($p < 0,05$) (sonuç önemli).

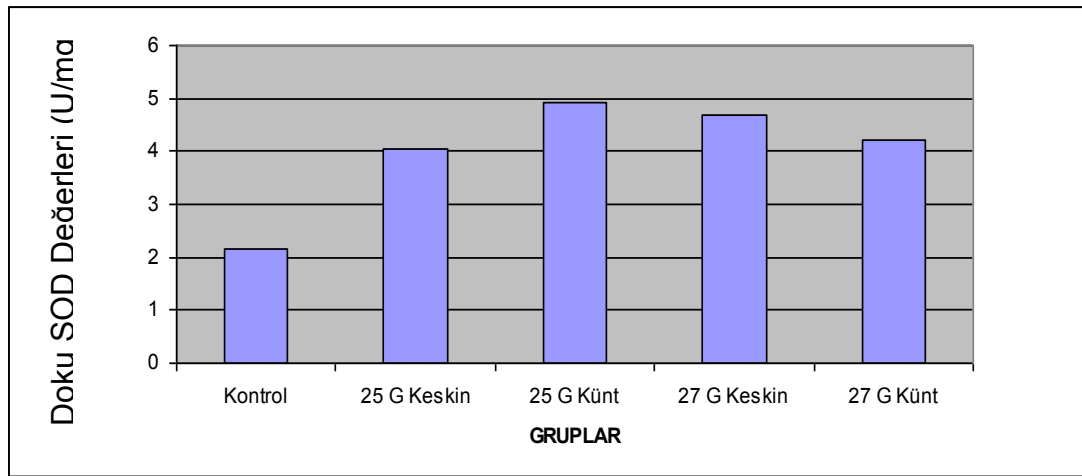
Sign değeri 0,05'ten büyük ise gruplar arasında anlamlı farklılık yoktur ($p > 0,05$) (sonuç önemsiz).

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

4.1.1. Doku SOD (Süperoksid dismutaz) Sonuçları

Bu çalışmada SOD ortalama değerleri hesaplandığında en düşük SOD değerinin Kontrol grubunda (2,1535 U/mg protein) ve en yüksek SOD değerinin 25 G Künt grubunda (4,9191 U/mg protein) olduğu tespit edilmiştir.



Şekil- 5 Grupların doku SOD değerleri (U/mg protein)

1. 25 G Keskin grubunun (4,0594 U/mg prot) Kontrol grubuyla (2,1535 U/mg prot) karşılaştırılmasında; 25 G Keskin grubunda tespit edilen yüksek SOD değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (p=0,004).

2. 25 G Künt grubu SOD değeri (4,9191 U/mg prot) Kontrol grubu SOD değeri (2,1535 U/mg prot) ile karşılaştırılmasında; 25 G Künt grubundaki SOD değeri yüksekliğinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (p=0,004).

3. 27 G Keskin grubunun (4,6874 U/mg prot) Kontrol grubuyla (2,1535 U/mg prot) karşılaştırılmasında; 27 G Keskin grubundaki SOD yüksekliğinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (p=0,006).

4. 27 G Künt grubu SOD değeri (4,215 U/mg prot) ile Kontrol grubu SOD değeri (2,1535 U/mg prot) karşılaştırılmasında; 27 G Künt grubundaki yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (p=0,004).

5. 25 G Keskin grubuyla (4,0594 U/mg prot) 25 G Künt grubunun

(4,9191 U/mg prot) SOD değeri yönünden karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p=0,252$).

6. 25 G Keskin grubuyla (4,0594 U/mg prot) 27 G Keskin grubunun (4,6874 U/mg prot) karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,144$).

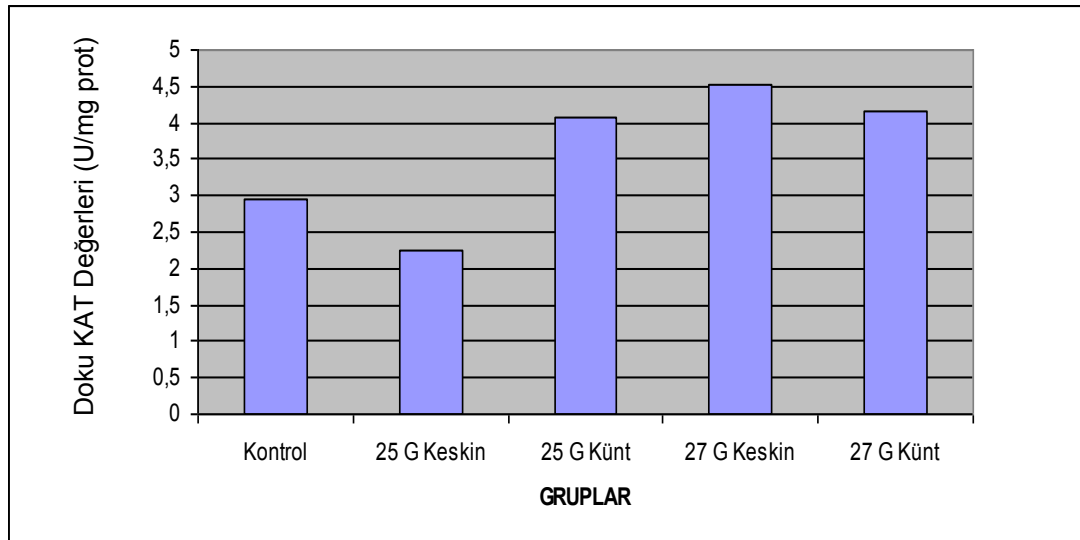
7. 25 G Künt grubuyla (4,9191 U/mg prot) 27 G Künt grubunun (4,215 U/mg prot) karşılaştırılmasında 25 G Künt grubunda tespit edilen yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p=0,631$).

8. 27 G Keskin grubuyla (4,6874 U/mg prot) 27 G Künt grubunun (4,215 U/mg prot) karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0,273$).

4.1.2. Doku KAT (Katalaz) Sonuçları

Doku KAT ortalama değerleri hesaplandığında en düşük doku KAT değeri 2,235 Ü/mg prot ile 25 G Keskin grubunda, en yüksek doku KAT değeri ise 4,523 Ü/mg prot ile 27 G Keskin grubunda tespit edilmiştir.

Doku KAT değerleri açısından değerlendirmede gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0,110$).

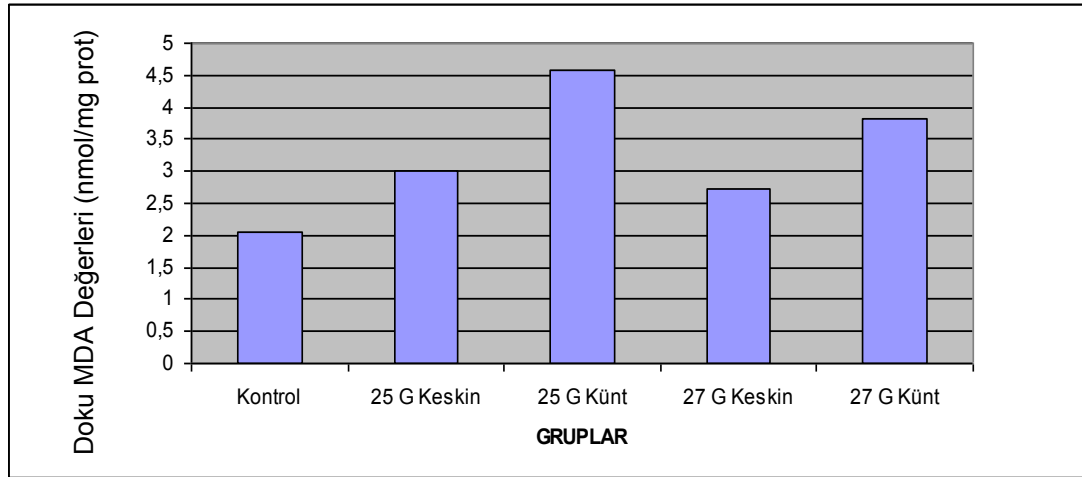


Şekil- 6 Doku KAT değerleri (U mg/prt)

4.1.3. Doku MDA (Malondialdehid) Sonuçları

Bu çalışmada MDA ortalama değerleri hesaplandığında en düşük MDA

değerinin Kontrol grubunda (2,993 nmol/mg protein) ve en yüksek MDA değeri 25 G Künt grubunda (4,59 nmol/mg protein) olduğu tespit edildi.



Şekil- 7 Gruplarda MDA değerleri nmol/mg protein

MDA değerleri yönünden gruplar kontrol grubuyla ve kendi aralarında karşılaştırıldı.

1. Kontrol grubuyla (2,0567 nmol/mg prot) 25 G Keskin (2,9933 nmol/mg prot) gruplarının karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,041$).

2. Kontrol grubu (2,0567 nmol/mg prot) ile 25 G Künt grubunun (4,59 nmol/mg prot) karşılaştırılmasında; 25 G Künt grubundaki bulunan yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p=0,04$).

3. Kontrol grubuyla (2,0567 nmol/mg prot) 27 G Keskin grubunun (2,7333 nmol/mg prot) karşılaştırılmasında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p=0,149$).

4. Kontrol grubu (2,0567 nmol/mg prot) ile 27 G Künt (3,8317 nmol/mg prot) grubunun karşılaştırılmasında; 27 G Künt grubunda bulunan yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p=0,04$).

5. 25 G Künt (4,59 nmol/mg prot) ile 25 G Keskin (2,9933 nmol/mg prot) grubunun karşılaştırılmasında; 25 G Künt grubunda bulunan yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p=0,006$).

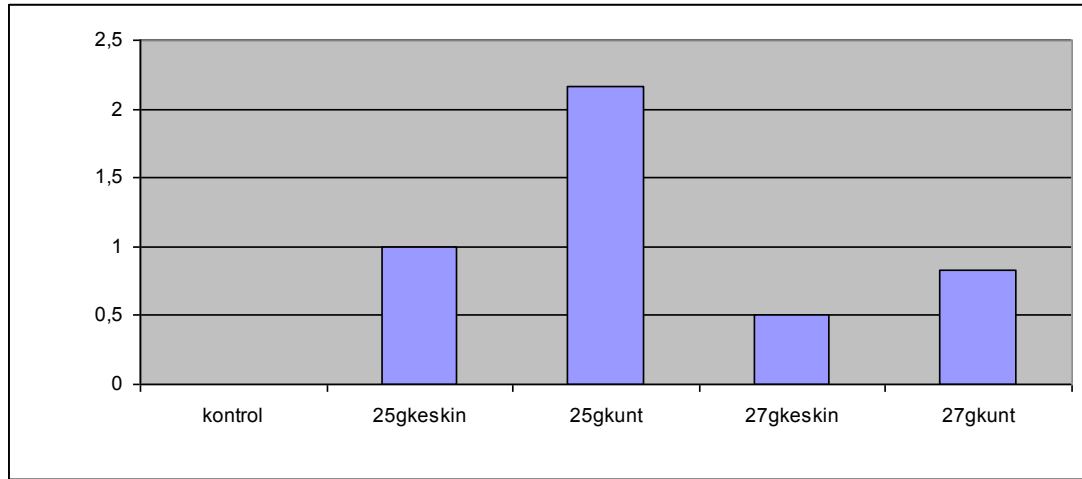
6. 25 G Künt (4,59 nmol/mg prot) ile 27 G Künt grubunun

(3,8317 nmol/mg prot) karşılaştırılmasında; 25 G Künt grubunda bulunan yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ($p=0,149$).

7. 25 G Keskin (2,9933 nmol/mg prot) ile 27 G Keskin (2,7333 nmol/mg prot) grubunun karşılaştırılmasında; istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edildi ($p=0,470$).

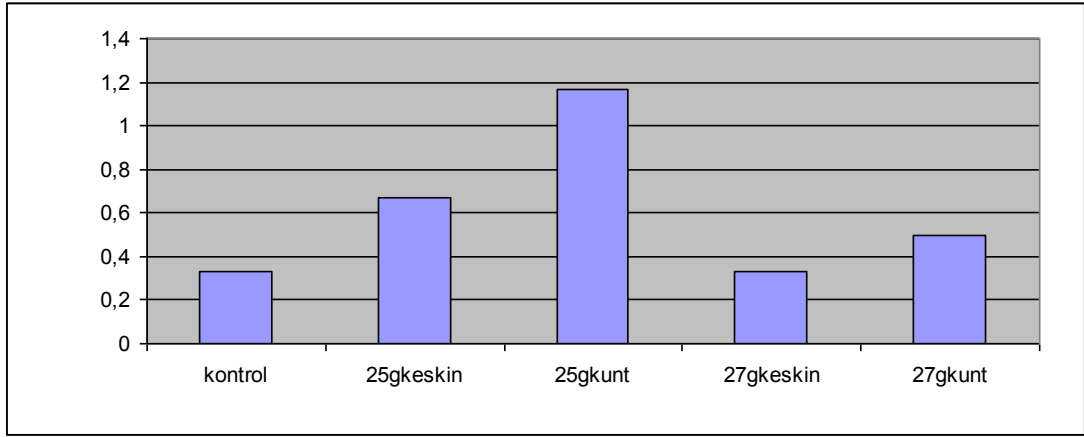
8. 27 G Keskin (2,7333 nmol/mg prot) ile 27 G Künt grubunun (3,8317 nmol/mg prot) karşılaştırılmasında; 27 G Künt grubunda bulunan yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p=0,026$).

4.2. Histolojik Bulgular



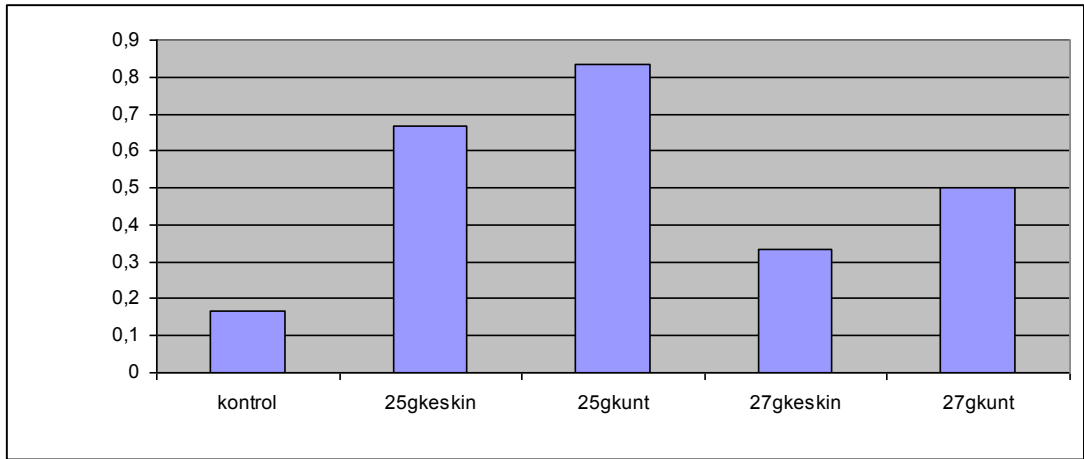
Şekil- 8 Sinir Hasarı Miktarı

En fazla sinir hasarı 25 G Künt grubunda, en az sinir hasarı ise 27 G Keskin grubunda tespit edilmiş olup kontrol grubu ile sadece 25 G Künt grubu arasında anlamlı fark tespit edildi ($p=0,000<0,05$). Grupların kendi içlerinde karşılaştırmalarında da sadece 25 G Künt grubunda istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edildi.



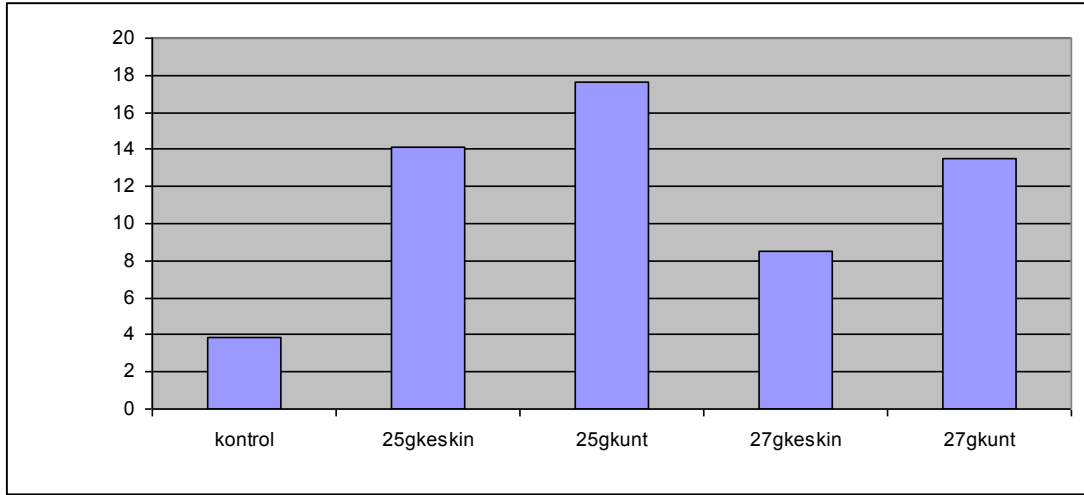
Şekil- 9 Konjesyon Miktarı

En fazla konjesyon 25 G Kunt ve en az konjesyon 27 G Keskin grubunda tespit edilmiş olup gruplar arasında konjesyon açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir.



Şekil- 10 Kanama Miktarı

Gruplar içinde en fazla kanama 25 G Kunt grubunda ve en az kanama 27 G Keskin grubunda tespit edilmiş olup p değeri $>0,05$ olduğundan Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında ve grupların kendi aralarında kanama açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir.



Şekil- 11 İnflamasyon Miktarı

Gruplar İnflamasyon hücresi açısından değerlendirildiğinde en az inflamasyon hücresi 27 G Keskin grubunda en fazla inflamasyon hücresi de 25 G Künt grubunda tespit edildi.

1. Kontrol grubuyla 25 G Keskin grubunun karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. (p=0,000)
2. Kontrol grubuyla 25 G Künt grubunun karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. (p=0,000)
3. Kontrol grubuyla 27 G Keskin grubunun karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. (p=0,144)
4. Kontrol grubuyla 27 G Künt grubunun karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. (p=0,000)
5. 25 G Keskin Grubu ile 27 G Keskin grubu arasında karşılaştırmada 25 G keskin grubundaki hasar fazlalığının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. (p=0,050)
6. 25 G Keskin grubundaki değerlerin 25 G Künt grubu ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir. (p=0,390)
7. 25 G Künt grubu ile 27 G Künt grubunun karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. (p=0,229)
8. 27 G Künt grubu ile 27 G Keskin grubunun karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. (p=0,103)

5. TARTIŞMA

Her geçen gün yaşlı ve komorbid hastalıkları olan ve cerrahi ihtiyacı gelişen hasta sayısı artmakta, bunun yanında hem maliyeti düşürmek hem de hastada gelişebilecek cerrahi sonrası komplikasyonları azaltmak amacıyla gününbirlik cerrahi uygulamalara ilgi artmaktadır. (47) Bunun bir sonucu olarak da özellikle ekstremite cerrahilerinde periferik sinir blokları uygulamaları daha sık uygulanır hale gelmektedir. Periferik sinir bloklarının uygulamalarının artması beraberinde görülebilen komplikasyonları ve dolayısıyla da memnuniyetsiz hasta sayısı ile birlikte açılan dava sayısını arttırmaktadır.

Genel olarak periferik sinir bloğuna bağlı komplikasyon oranı oldukça düşüktür. (48) Fransa’ da yapılan 21,278 periferik sinir bloğunu içeren geniş ölçekli bir çalışmada kardiyak arrest oranı % 0,01, ölüm % 0,005, konvülsiyon % 0,08 ve radikülopati oranları % 0,02 olarak bulunmuştur. (49) Geçici hissizlik, ağrı ve morarma gibi hafif komplikasyonlar daha sık olarak görülebilmekle birlikte, perioperatif sinir hasarı nadir olmasına rağmen rejyonel anestezinin potansiyel bir komplikasyonudur. (5,15,23,49) Sinir hasarın çoğu artık parestezi ve kalıcı parezi olarak ortaya çıkar. Uzun dönem hasarın tanımlama biçimine ve takip süresine bağlı olarak % 0,02 - % 0,4 arasında değişmektedir. (49) Nörolojik hasara ait kanıtlar blok sonrası ilk 24 saatte en fazladır. Zaman geçtikçe nörolojik hasara daha az rastlanır. (49)

Ciddi sinir hasarına yol açan enjeksiyon teknikleriyle ilişkili ana faktör birlikte bulunan sinir liflerinin arasına veya sinir lifine lokal anestetik solusyonun enjeksiyonudur. Bu fasiküllerin yapısında mekanik harabiyete yol açar ve muhtemelen sinir skarına yol açan inflamasyon, hücresel infiltrasyon aksonal harabiyet ve diğer olayları içeren patofizyolojik olayları başlatır. Sinir içine enjeksiyondan sonraki histolojik değişiklikler sinir hasarına özgül değildir ve basit mekanik hasardan myelin kılıfın parçalanmasına ve belirgin hücresel infiltrasyona kadar değişir. Periferik sinir hasarından sonra geniş bir hücresel değişiklik oluşur, ve değişik hayvan modelleri kullanarak belgelenmiştir. (23)

Perioperatif sinir hasarları rejyonel anestetik teknikle ilişkili ve ilişkili olmayan bir çok faktörden kaynaklanabilir. Rejyonel anestezile ilişkili olmayan

faktörler hastayla ve cerrahiyle ilişkili risk faktörlerini içerir. Anesteziyle ilişkili rejyonel anestezi faktörleri mekanik travmayı, iskemik hasarı ve kimyasal hasarı içerir. (5,6,7,15,23,25,32,49)

Travmatize dokuda lipid peroksidasyon ürünü olan doku MDA değerleri artmakta, travmaya sekonder gelişen oksijen radikallerinin etkilerini giderebilmek için kullanılan doku SOD ve KAT değerleri düşmektedir.

Çalışmamızda rat kullanılmasının ana sebepleri; bilimsel olarak taksonomide memeliler sınıfında olması ve insana genetik ve moleküler açıdan birçok protein benzerliğinin bulunması, vücut yapısının küçük olması nedeniyle kolay müdahale edilebilmesi, üretim ve bakım maliyetlerinin düşük olmasıdır.

Biz bu çalışmamızda oluşan hasarın kimyasal göstergesi olarak dokuda MDA, KAT ve SOD değerlerini çalıştık.

Selander ve ark. ratlarda yaptıkları bir çalışmada rat siyatik sinirini deneyden 2 (iki) saat sonra yaptıkları histopatolojik çalışma ile kısa uçlu (45° açılı) iğne kullanımı ile oluşan hasarın uzun uçlu (12-15 ° açılı) iğne kullanımı sırasında oluşan hasardan daha az olduğunu belirtmişlerdir. (5,7) Bizim yaptığımız çalışmada gerek biyokimyasal olarak gerekse histopatolojik olarak; iğne çapı kalınlaştığında daha fazla hasar oluştuğunu tespit ettik.

Bununla birlikte daha sonraları Rice ve McMahon' un yaptığı deneysel rat çalışmasında kısa uçlu iğneler (12-27° açılı) eğer sinir içine yerleşirse mikroskopik görüntüleme uzun uçlu iğnelere göre daha fazla hasar oluşturduğunu ve iyileşmesinin daha fazla skarla birlikte daha uzun zaman aldığını belirtmişlerdir. Uzun uçlu iğnelerle oluşan hasarda ise oluşan kesi kenarlarının daha düzgün olduğunu, iyileşmenin daha hızlı ve daha az skarla birlikte olduğunu belirtmişlerdir. (5,7) Bizim çalışmamızda da küt uçlu iğne ile aynı çaptaki keskin uçlu iğnelere göre daha fazla hasar oluştuğunu tespit ettik. Ancak iyileşme süreci çalışmamız tarafından değerlendirilmemiştir.

Macias ve arkadaşlarının yaptığı bir deneysel rat çalışmasında da yine kısa uçlu (45° açılı) iğnelere göre uzun uçlu (14° açılı) iğnelerle oluşan hasardan daha az hasar oluştuğunu tespit etmişlerdir. (7)

K.S. Macdonald and B.D. Sites' in elektron mikroskopisi ile yaptığı kısıtlı bir çalışmada keskin ve kısa uçlu iğnelerin, uzun uçlu iğnelere göre daha az hasar yaptığı histolojik olarak gösterilmiştir. (52)

Thorsten Steinfeldt ve arkadaşlarının pencil point ve tuohy iğnelerini domuz siniri üzerinde 48 saat sonraki etkilerini karşılaştıkları bir çalışmada, heriki iğnenin hasar oluşturduğunu fakat bu iki iğne arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi. (50) Bizim çalışmamızda künt uçlu iğnelerle daha fazla hasar oluştuğunu tespit ettik.

T. Steinfeldt ve arkadaşlarının domuz siniri üzerinde yaptığı diğer bir “does size matter?” adlı 19 G kalınlığındaki iğne ile 24 G kalınlığındaki iğneler kullanılarak ve 48 saat sonra sinir örnekleri alarak hematoksilin-eozin boyamasıyla ışık mikroskopu incelemesi yaptıkları çalışmada; 19 G iğne ile histolojik olarak çok daha fazla hasar oluştuğunu tespit etmişlerdir. (51) Bizim çalışmamızda iğne kalınlığı arttığında hasarın daha fazla olduğunu tespit ettik.

Son zamanlarda yapılan çalışmalara göre sinir içi enjeksiyon uygulamaları her zaman sinir hasarı ile sonuçlanmamaktadır. (48,52)

Yine X. Sala Blanch ve arkadaşlarının yaptığı popliteal sinirin blokajında intranöral enjeksiyonların nörolojik defisitlerle birlikte olmadığını belirtmişlerdir. (53)

İğne şekli ile ilişkili durumlar ve sinir hasarı riski dikkate alınmaksızın, izole direkt sinir hasarının gerçek klinik önemi açık değildir. Örneğin, sinirin yerinin belirlenmesi için hem parestezi hem de sinir stimülasyonu teknikleri tanımlanmamış sinir içi iğne yerleşimi ile birlikte olabilir, bununla birlikte sinir hasarı oldukça düşük kalmaktadır. Benzer şekilde, femoral arter kanülasyonu (arter hattı yerleştirimi) sırasında, iğnenin istem dışı femoral sinire girmesi mümkündür, bununla birlikte femoral sinir hasarı oldukça nadirdir ve oluştuğunda ise iğne hasarından çok hematoma oluşumuyla ilişkilendirilir. Sinir içine enjeksiyonun eşlik etmediği iğne ilişkili hasar oldukça nadirdir, kolayca iyileşir ve klinik olarak tespit edilemeyebilir. Bunun aksine, sinir lifi içine lokal anestezi enjeksiyonu ile birlikte oluşan iğne hasarı çok daha büyük hasar riskini taşır. (5)

SOD değerleri açısından değerlendirildiğinde gruptaki SOD değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu, ancak grupların kendi aralarında anlamlı fark bulunmadığını tespit ettik.

Doku KAT değerleri açısından kontrol grubu ile aralarında istatiksels olarak fark bulunmamıştır.

Doku MDA yönünden yapılan değerlendirmede 27 G Keskin grubunun kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmadığı, ancak diğer gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı fark olduğu tespit edildi.

Histopatolojik olarak en fazla hasarı 25 G Künt grubunda en az hasarı ise 27 G Keskin grubunda olduğunu tespit ettik.

Kanama ve konjesyon açısında gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Enflamasyon açısında yapılan değerlendirmede en fazla inflamasyonun 25 G Künt grubunda, en az inflamasyonun ise 27 G Keskin grubunda olduğunu tespit ettik. Ancak gruplar arasında istatiksels anlamlı fark bulamadık.

Bunun nedeni; normalde canlıda künt uçlu iğne kullanıldığında iğnenin dokuyu aralayarak sinir dokusunu ittirmesi veya sinir dokusunun üzerinden kayması beklenirken deney ortamında kullanıldığında iğnenin ilerletilebilmesi için daha fazla güç kullanma gereği olabilir.

Dolayısıyla bu konunun aydınlatılması için daha başka çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Ve yapılacak çalışmaların kullanılacak iğne çaplarından daha büyük sınırları olan hayvan modelleri üzerinde yapılması kanımızca daha uygun olacaktır.

6. SONUÇLAR

Biz bu çalışmamızda iğne çapının azalmasıyla sinir hasarında azalma olduğunu, ancak künt olmasının hasarı azaltmadığını tespit ettik. Periferik sinir hasarı oluşumunda diğer bazı araştırmacıların da belirttiği gibi iğne şekli ve çapından başka; hastada daha önceden mevcut sinir disfonksiyonu olup olmaması, kullanılan lokal anestezi konsantrasyonu-hacmi, uygulama yeri, hastada koagülasyon defekti mevcudiyeti olmaması, enjeksiyon sinir lifi içine yapılmış olup olmaması, cerrahi sırasında sinirin aşırı gerime uğrayıp uğramaması, turnike uygulanıp uygulanmaması gibi birçok faktör de önemli olmaktadır. Bu nedenle periferik sinir bloğu uygulamalarında mümkün olan en ince iğnelerin kullanımı yanında, hastalarda risk belirleyip sinir lokalizasyonu için ultrasonografi ve sinir stimulatörü kullanımı, enjeksiyona aşırı direnç halinde veya enjeksiyon sırasında anormal ağrı gelişimi durumunda enjeksiyonun durdurulması gibi diğer koruyucu önlemlerin alınması önemli gibi görünmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Berg A., Rosenquist R., Complications of peripheral nerve blocks. *Techniques in Regional Anesthesia and Pain Management* 2007; 11: 133-140
2. Bosenberg A., Benefits of regional anesthesia in children. *Pediatric Anesthesia* 2012; 20: 10-15
3. WOLF A.R., Effects of regional analgesia on stress responses to pediatric surgery, *Paediatric Anaesthesia and Intensive Care Unit*. 2012; 22: 19-23
4. Aitkenhead A. R., Injuries associated with anaesthesia. A global perspective. *British Journal of Anaesthesia* 2005; 95: 95-109
5. Hadzic A., *Complications of Peripheral Nerve Blocks*. NYSORA 2009
6. Quinn H. H., Pathophysiology of Peripheral Nerve Injury During Regional Anesthesia. *Reg Anesth Pain Med*. 2008 ; 33(5): 435-441
7. Rosenblatt J., Intraneural injections and regional anesthesia: the known and the unknown. *Minerva Anesthesiol*. 2011 Jan;77(1):54-8.
8. Steinfeldt T., Graf J., Schneider J., Nimphius W., Weihe E., Borgeat A., Wulf H., Wiesmann T, *Histological Consequences of Needle-Nerve Contact following Nerve Stimulation in a PigModel*. Hindawi Publishing Corporation *Anesthesiology Research and Practice* Volume 2011
9. Longnecker D.E., Brown D.L, Newman M.F., Zapol W.M., *Textbook of Anesthesiology* 2008; 1025-1048
10. Stoll G., Müller H.W., *Peripheral Neuropathies*. *Brain Pathology*. 1999;9: 313-325
11. Scanlon V.C., Sanders T., *Essentials of Anatomy and Physiology*. 2007 (Fifth edition); 81: 163-196
12. Kahle W., Frotscher M., *Color Atlas of Human Anatomy, Vol.3 Nervous System and Sensory Organs*. 2003: 18-44
13. Paker Ş., *Histoloji, II. Baskı*, 1993: 186-220
14. Henry G., *Anatomy of the Human Body* 2003: 473-480
15. Raj P. P., *Textbook of Regional Anesthesia*. 2003: 2-17
16. Brown T.C.K., *History of pediatric regional anesthesia, Pediatric Anesthesia*. 2012 (22): 3-9
17. Wolfgang K., *Color Atlas of Cytology, Histology, and Microscopic Anatomy* 4 th edition, 2003: 248-273
18. Quan D., Bird S., *Nerve Conduction Studies And Electromyogray In The Evaluation Of Peripheral Nerve Injuries*, *The University of Pennsylvania Orthopaedic Journal*. 1999: 12; 45-51
19. Junqueira L.C., *Temel Histoloji*: eight edition, 1998: 169-180
20. Fahri Dere, *Nöroanatomi, 3.baskı Nobel tip kitabevi*. 2000: 179-184

-
21. Türk Nöroşirürji dergisi, TND yayın organı. 2005: 3; 196-197
 22. Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology: Text and Atlas. 9th ed, New York, Lange Mc Graw- Hill. 2003: 152-179
 23. Springer , Complications of Regional Anesthesia 2 nd edition. 2007: 74-82
 24. Makwana M, Raivich G. Molecular mechanisms in successful peripheral regeneration. FEBS Journal. 2005: 272; 2628-2638
 25. Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. Neurosurg Focus. 2004: (5); 1-7
 26. Akbay A. Periferik Sinirin Mikroanatomi ve Sinir Kesilerinde Uygulanan Cerrahi Teknikler, Türk Nörosirürji Dergisi. 2005: Cilt: 15, Sayı: 3, 198-201
 27. Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology: Text and Atlas. 9th ed, New York, Lange Mc Graw- Hill. 2003: 152-179
 28. Karaöz E. Temel Histoloji 2. baskı sf; 124-128
 29. Lundborg G, Dahlin LB, Anatomy, function, and pathophysiology of peripheral nerves and nerve compression. Hand Clin. 1996: (2): 185-193
 30. Guyton & Hall; Textbook of Medikal Physiology. 11 th edition. 2006:
 31. Despopoulos A., Silbernagl S. Color Atlas of Physiology, 5 th edition. 2003: 42-57
 32. Aitkenhead A. R., Textbook of Anaesthesia fourth edition. 2001: 555-575
 33. Claude E., Safety in pediatric regional anesthesia, Service d'Anesthésie-Reanimation 2, Hopital Pontchaillou, Université Rennes 1, Rennes, France, Pediatric Anesthesia ISSN 1155-5645. 2012: (12); 25-30
 34. Derek Dillane & Ban C. H. Tsui, Is there still a place for the use of nerve stimulation?, Department of Anesthesiology and Pain Medicine, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada, Pediatric Anesthesia ISSN 1155-5645. 2012: (22); 102-108
 35. Kişin B., N-Asetil Sisteinin Sinir İyileşmesi Üzerine Olan Etkisi (Ratların Siyatik Sinirinde Deneysel Çalışma – Uzmanlık Tezi), Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi Ve Travmatoloji Anabilim Dalı. 2006
 36. Stoll G. and Werner H. M., Nerve Injury Axonal Degeneration and Neural Regeneration Basic Insights. 1999: (9); 313-325
 37. Apak Y., Siyatik Sinir Hasarına Karşı Epigallokateşin 3-Gallat (EGCG) ve Gingo Biloba'nın Etkilerinin İncelenmesi, (Yüksek Lisans Tezi), K.Maraş Sütçü İmam Üniversitesi Biyokimya Anabilim dalı. 2001:
 38. Frostick SP, Yin Q and Kemp GJ. Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. Microsurgery, 1998; 18: 397-405
 39. Mirajullah M, Xinya S. Schwann cells: Leader of nervenkitt. 2002; 30-33

-
40. Szymonik-Lesiuk S., Czechowska G., Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication, *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2003: (10): 309–315
 41. Murphy M. P., How mitochondria produce reactive oxygen species, *Biochem. J.* 2009: (417); 1–13
 42. Fang Y., Yang S., Guoyao W., Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition, Department of Animal Science, Texas A&M University, *Nutrition.* 2002: (18): 872–879
 43. Sies H., Oxidative Stress: Oxidants And Antioxidants, *Experimental Physiology* 1997:291-295
 44. Şener G., Yeğen Ç., İskemi Reperfüzyon Hasarı Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, *Klinik Gelişim Dergisi.* 2010: (7); 5-10
 45. Barocelli E., Ballabeni V., The selective inhibition of inducible nitric oxide synthase prevents intestinal ischemia–reperfusion injury in mice, *Nitric Oxide .* 2006: (14); 212–218
 46. Slater K., Cheeseman H., Free radical mechanisms in relation to tissue injury, Department of Biochemistry, Faculty of Science, Brunel University, Uxbridge, Middlesex UB8 3PH, *Proceedings of Nutrition Society.* 1984: (222); 1-15
 47. Suresh S., Voronov P., Head and neck blocks in infants, children, and adolescents, *Pediatric Anesthesia.* 2012: (22); 81–87
 48. Nizar M., Gerbrand J., Differences in Quantitative Architecture of Sciatic Nerve May Explain Differences in Potential Vulnerability to Nerve Injury. 2011: (23); 221-229
 49. Neal J.M., Hebl J.R., Gerancher J. C., Quinn H. H., Brachial Plexus Anesthesia, *Essentials Of Our Current Understanding. Regional Anesthesia and Pain Medicine.* 2002: (27); 402-428
 50. Steinfeldt T., Werner T., Nimphius W., Histological Analysis After Peripheral Nerve Puncture with Pencil-Point or Tuohy Needletip, *Regional Anesthesia.* 2011: (112); 465-70
 51. Steinfeldt T., Nimphius W., Nerve injury by needle nerve perforation in regional anaesthesia: does size matter?, *British Journal of Anaesthesia.* 2010: (104); 245–53
 52. Macdonald K. S., Sites B. D., The Department of Anesthesiology, Dartmouth-Hitchcock Medical Center, Lebanon, NH, Electron microscopy evaluation of block needle-related trauma to the tibial nerve, *ACTA Anesthesiologica Scandanavica.* 2010: (54); 426–429
 53. Blanch X. S., Intra-neural injection during nerve stimulator-guided sciatic nerve block at the popliteal fossa, *British Journal of Anaesthesia.* 2009: (6); 855–61