

TC
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

**MANNİTOL VE C VİTAMİNİNİN SİYATİK SİNİR CRUSH
HASARI ÜZERİNE NÖROPROTEKTİF ETKİLERİ;
DENEYSEL RAT ÇALIŞMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Zeki YILMAZ

DANIŞMANI

Doç. Dr. Mehmet ŞENOĞLU

KAHRAMANMARAŞ-2011

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince her türlü bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tezimin her aşamasında desteğini ve fikirlerini aldığım saygıdeğer hocam Doç. Dr. Mehmet ŞENOĞLU'na,

Eđitimim sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen, gerek tıp fakóltesi öğrenciliği aşamasında ve gerekse asistanlık eğitimim aşamasında her türlü bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Beyin Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı saygıdeğer hocam Doç. Dr. Kasım Zafer YÜKSEL'e, çalışma arkadaşlarıma ve tüm Beyin Cerrahisi Kliniđi alışanlarına,

Tez çalışmamda çok değerli katkıları olan Doç. Dr. Ergöl Belge Kurutaş hocam başta olmak üzere, değerli hocalarım Doç. Dr. Davut ÖZBAĞ ve Doç. Dr. Harun IRALIK'a

Her zaman yanımda varlıklarını hissettiğim Saygıdeğer Anne ve Babama ve Sevgili Eşime en içten teőekkürü bir borç bilirim.

Dr. Zeki YILMAZ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET	V
ABSTRACT	VII

1.GİRİŞ

.....

. 1

2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. PERİFERİK SİNİR.....	3
2.1.1. Periferik Sinir Anatomisi.....	3
2.1.1.1. İnsan siyatik sinir anatomisi.....	6
2.1.1.2. Rat siyatik sinir anatomisi.....	7
2.1.2. Periferik Sinir Histolojisi	7
2.1.3. Periferik Sinir Fizyolojisi.....	9
2.2. PERİFERİK SİNİR YARALANMALARI	11
2.2.1. Periferik Sinir Yaralanmaları Tarihçesi.....	11
2.2.2. Periferik Sinir Yaralanmalarının Oluşumu.....	12
2.2.3. Sinir Yaralanmalarının Sınıflandırılması	13
2.2.4.Yaralanma Sonucu Sinirde Meydana Gelen Değişiklikler	14
2.2.4.1. Sinir Proksimali ve Hücre Gövdesinde Meydana Gelen Değişiklikler.....	15
2.2.4.2 Yaralanma Sonucu Sinir Distalinde Meydana Gelen Değişiklikler.	16
2.3. LİPİD PEROKSİDASYONU.....	17
2.4.SERBEST RADİKALLER.....	18
2.4.1. Süperoksit Radikali	18
2.4.2. Hidrojen Peroksit	19
2.4.3. Hidroksil Radikali	20
2.4.4. Serbest Radikal Kaynakları.....	20
2.4.4.1. Endojen Kaynaklar.....	20
2.4.4.2. Eksojen Kaynakları.....	20
2.4.5. Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkisi.....	21
2.4.6. Serbest Radikallerin Proteinlere ve DNA'ya Etkileri.....	21

2.5. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ.....	22
2.5.1. Antioksidan etki tipleri.....	22
2.5.1.1. Doğal Antioksidanlar (Endojen)	22
2.5.1.2. Eksojen Antioksidanlar	22
2.5.1.3. Gıda Antioksidanlar	23
2.5.2. Superoksit Dismutaz (SOD)	23
2.5.3. Katalaz (CAT).....	24
2.6. PERİFERİK SİNİR YARALANMALARI VE C VİTAMİNİ.....	25
2.7. PERİFERİK SİNİR YARALANMALARI VE MANNİTOL.....	25
3. MATERYAL VE METOD.....	27
3.1. DENEY HAYVANLARININ ELDE EDİLMESİ	27
3.2. GRUPLAR.....	27
3.3. KULLANILAN İLAÇLAR.....	28
3.4. SİYATİK SİNİR HASARI MODELİ VE DOKU ÖRNEKLERİN ALINMASI..	29
3.5. SUPEROKSİT DİSMUTAZ ENZİM AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	31
3.6. KATALAZ ENZİM AKTİVİTESİNİN TAYİNİ.....	31
3.7. MALONDİALDEHİT DÜZEYİNİN TAYİNİ.....	31
3.8. IŞIK MİKROSKOBİSİ YÖNTEMLERİ.....	31
3.9. İSTATİSTİK.....	32
4.BULGULAR	33
4.1. SOD AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ.....	33
4.2. CAT AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ	34
4.3. MDA DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ.....	36
4.4. GRUPLARDAKİ ORTALAM DEĞERLER.....	37
4.4. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME BULGULARI.....	38
5.TARTIŞMA	41
6.SONUÇLAR	47
7.KAYNAKLAR.....	48
8.ŞEKİLLER VE TABLOLAR.....	54
9.SİMGELER VE KISALTMALAR	55

ÖZET

Periferik sinir hasarı günümüzde sık karşılaşılan önemli sağlık sorunlarından bir tanesidir. Sinir dokusunun özellikle rejenerasyon yeteneğinin zayıf olması fonksiyon kaybının geri kazanımını daha da zorlaştıran bir durumdur. Bu deneysel çalışmada siyatik sinir crush hasarı modelinde, mannitol ve C vitamininin erken ve geç dönemde nöroprotektif etkinliği araştırıldı.

Bu çalışmada 250-300 gr ağırlığında 60 adet yetişkin Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan rat(sıçan) kullanıldı. Denekler; Sham grubu (grup 1) Kontrol grubu (grup 2), Mannitol 1. saat grubu (grup 3), C vitamini 1. saat grubu (grup 4), Mannitol 24. saat grubu (grup 5) ve C vitamini 24. saat grubu (grup 6) olmak üzere 6 gruba ayrıldı.

Grup 1 deney hayvanlarına siyatik sinir hasarı oluşturulmadan sadece doku örneği alındı. Grup 2’de ise siyatik sinir crush hasarı oluşturulmakla beraber herhangi bir medikal tedavi uygulanmadan siyatik sinir doku örnekleri alındı. Grup 3 ve Grup 5 deney hayvanlarına preoperatif dönemde ve Crush tipi siyatik sinir hasarı oluşturulurken mannitol (0.5 gr/kg) verildikten sonra 1. ve 24. saatlerde doku örnekleri alınmasıyla, mannitol’un sinir dokusu rejenerasyonu üzerindeki erken ve geç nöroprotektif etkilerine bakılmak istendi. Aynı şekilde Grup 4 ve Grup 6 deney hayvanlarına da preoperatif dönemde ve Crush tipi siyatik sinir hasarı oluşturulması esnasında intraperitoneal C vitamini (100mg/kg) verildikten sonra 1. ve 24. saatlerde doku örnekleri alınmasıyla, C vitamininin sinir dokusu rejenerasyonu üzerindeki erken ve geç dönem nöroprotektif etkilerine bakıldı.

Biyokimyasal çalışmalar ve histopatolojik inceleme için siyatik sinir doku örnekleri alındı. Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Katalaz (CAT) enzim aktiviteleri ve lipid peroksit ürünü olan Malondialdehit (MDA) düzeyi ölçüldü. Aynı zamanda doku örnekleri kesitleri hazırlanarak histopatolojik olarak incelendi.

Sham grubuyla kıyaslandığında kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde SOD ve CAT enzim aktivitesi düzeylerinin azaldığı, MDA düzeyinin yükseldiği görülmektedir. Bu durum siyatik sinirdeki crush hasarı göstermektedir ($p<0.05$). Mannitol tedavisi verilen gruplar (grup 3, grup 5) kontrol (grup 2) grubuyla

karşılaştırıldığında SOD ve CAT enzim aktivitelerinin erken (grup 3, $p<0.05$) ve geç (grup 5, $p<0.05$) dönemde anlamlı olarak arttığı ve MDA düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığı görülmektedir. Yine C vitamini tedavisi verilen gruplar (grup 4, grup 6) kontrol (grup 2) grubuyla karşılaştırıldığında CAT enzim aktivitelerinin erken (grup 4, $p<0.05$) ve geç (grup 6, $p<0.05$) dönemde anlamlı olarak arttığı ve MDA düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığı görülmektedir. SOD enzim aktivitesi düzeyin ise kontrol grubuyla kıyaslandığında erken (grup 4, $p<0.05$) dönemde anlamlı şekilde arttığı görülmektedir. Yine Mannitolün erken (grup 3) ve geç (grup 5) dönem etkileri kıyaslandığında geç dönemde SOD aktivite düzeyinin anlamlı olarak daha fazla olduğu görüldü ($p<0.05$).

Sonuç olarak C vitamini veya mannitol kullanımının periferik sinirlerde hasar sonrası oluşan oksidatif stresi önlemede erken ve geç dönemde yararlı olduğu, mannitolün geç dönem nöroprotektif etkisinin daha fazla olabileceği tesbit edildi. Fakat geniş kapsamlı, daha farklı doz ve sürelerde çalışılmasının daha verimli olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: rat, siyatik sinir, C vitamini, mannitol.

ABSTRACT

Peripheral nerve injury is one of the important health problems nowadays. Especially, poor regeneration ability of the nerve tissue is a situation making the reestablishment of nerve function difficult. In this experimental sciatic nerve crush injury model study, early and late neuroprotective efficacy of mannitol and vitamin C.

In this study, weighing 250-300 g 60 Sprague-Dawley genus grown up male rats were used. The subjects were divided into 6 groups as Sham group (Group 1), Control group (Group 2), 1. hour mannitol group (Group 3), 1. hour vitamin C group (Group 4), 24. hour mannitol group (Group 5) and 24. hour vitamin C group (Group 6).

Group I (Sham group) Normal adult male rats (Noncrush): Non-crush group, no intervention was made, simply sciatic nerve samples were taken. Group II (Control group) Sciatic crush was performed and then sciatic nerve samples were taken. Group III and Group V (Crush-Mannitol group) : 0,5 g/kg intraperitoneal mannitol injection was done 24 and 1 hour before crush injury. Sciatic nerve samples were taken at the 1st and 24th hour for looking early and late neuroprotective efficacy of mannitol. Group III and Group V (Crush-Mannitol group) : 0,5 g/kg intraperitoneal mannitol injection was done 24 and 1 hour before crush injury. Sciatic nerve samples were taken at the 1st and 24th hour for looking early and late neuroprotective efficacy of mannitol. At the same time Group IV and Group VI (Crush-vitamin C group) : 100 mg/kg intraperitoneal vitamin C injection was done 24 and 1 hour before crush injury. Sciatic nerve samples were taken at the 1st and 24th hour for looking early and late neuroprotective efficacy C vitamin.

At the end of the experimental period, tissue samples were taken for histopathological and biochemical studies. Lipid peroxide product malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and catalaz (CAT) enzyme activity were measured. At the same time, sciatic nerve tissue samples were taken for histopathological examined.

At the end of the biochemical analysis, compared with sham group (Group I), tissue SOD and CAT activities decreased and MDA level elevated significantly in the

control group (Group II), which indicated crush injury ($p < 0.05$). After mannitol treatment tissue SOD and CAT activities increased and MDA level decreased significantly, at the early period (group III, $p < 0.05$) and on the late period (group IV, $p < 0.05$) than control (group 2) group. And after mannitol treatment tissue CAT activities increased and MDA level decreased significantly, at the early period (group IV, $p < 0.05$) and on the late period (Group VI, $p < 0.05$) than control (group 2) group. However, SOD activities increased in early period (group IV, $p < 0.05$). Therewithal, there were significant differences between mannitol treatment groups (Groups III and V, $p > 0.05$).

As a result, it was found that application of vitamin c and mannitol intraperitoneally, may be useful on preventing oxidative stress and also mannitol has more neuroprotective efficacy at late period than early period. However, it was concluded that different dose and duration of working in other comprehensive studies might be more beneficial.

Key words: Rats, sciatic nevre, vitamin C, mannitol

1.GİRİŞ

Periferik sinir hasarı günümüzde sık karşılaşılan önemli sağlık sorunlarından bir tanesidir. Trafik kazaları, bireye bağlı düşmeler, inşaat kazaları, tabii afetler ve bunun gibi daha birçok olay klinik olarak periferik sinir hasarına sebep olmaktadır.

Periferik sinirlerdeki yaralanmalar sinirde gerilme, ezilme ve kesilme nedeniyle meydana gelmekte ve yaralanmayla beraber sinirin distal ve proksimal uçlarında önemli histopatolojik değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Bazı sinir yaralanmalarında yaralı bölgenin distalinde, akson ve miyelin kılıfın fiziksel fragmantasyonu ve aksonal yapının tamamen bozulması ile karakterize olan Wallerian dejenerasyonu meydana gelmekte ve buna bağlı olarak sinir yaralanmasından sonraki ilk 48-96 saat içinde akson devamlılığı kaybolarak impuls iletimi bozulmaktadır (1,2).

Periferik sinirin ezilme tarzındaki hasarlanmalarında klinik tablo, sinirin lokalize olduğu bölgeye, ezilme oluşturan basınca, basıncın oluşturduğu şiddet etkisine ve ezilme oluşturan basıncın etki süresine bağlıdır. Sinirlerdeki ezilmeye bağlı olarak sinir üzerinde mekanik iletim bloğu ve mikrovaskülerizasyon üzerinde blok oluşmaktadır. Daha sonra sinir doku üzerinde basının azalmasıyla oluşan reperfüzyon, ortama fazla miktarda oksijen ve besin maddelerinin yüksek basınçla geri göllenmesine yol açmakta ve yüksek miktarda serbest radikal oluşmasına sebep olmaktadır. Oluşan bu serbest radikaller dokudaki lipidlere saldırarak lipid peroksidasyonuna sebep olmakta ve böylece doku üzerinde yıkıcı etkiler oluşturmaktadır (3,4).

Günümüzde, mikrocerrahi uygulamalarının yaygınlaşması, periferik sinir yaralanmalarında, sinir onarımının başarısını büyük oranda arttırmıştır (5). Periferik sinir yaralanmalarının tedavisinde bugüne kadar, anastomoz, sinir greftleri, nonnöral doku greftleri, kombine greftler, sinir konduitleri ve sentetik tüpler gibi pek çok yöntem uygulanmış ve bunların sinir iyileşmesine olan muhtemel etkileri geniş olarak rapor edilmiştir (6,7). Sinir rejenerasyonunun arttırılmasında, başlıca nörotropik faktörler (8). steroidler, hormonlar, çeşitli kimyasal maddeler ve düşük frekanslı manyetik alan uygulamalarının etkinliği yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (9,10).

Periferik sinirlerdeki yaralanma sonrası doku destrüksiyonundan dolayı serbest oksijen radikalleri artarak doku hasarına neden olduğu bilinmektedir. Birçok yeni ajan da yapılan çalışmalarda antioksidan etkileri tespit edilmesi sebebiyle periferik sinir rejenerasyonu tedavisinde kullanılmakta veya test edilmektedir.

Mannitol, kafa travmalarında yaygın olarak kullanılan antiödem etkisinin yanında antioksidan etkileri de vardır. Ayrıca mannitol serbest radikalleri temizler. İskemi sırasında nötrofillerin kapiller damarlarda oluşturdukları tıkaçları çözer ve kan akımını düzenler (11).

C vitamini suda çözünebilen bir serbest radikal toplayıcısıdır. Dihidroaskorbata dönüşerek serbest radikalleri indirger. Kollajen yapısında yer alan prolin ve hidroksi prolinin hidroksilasyonunda ve öteki hidroksilasyon reaksiyonlarında rol oynadığı bilinmektedir (12).

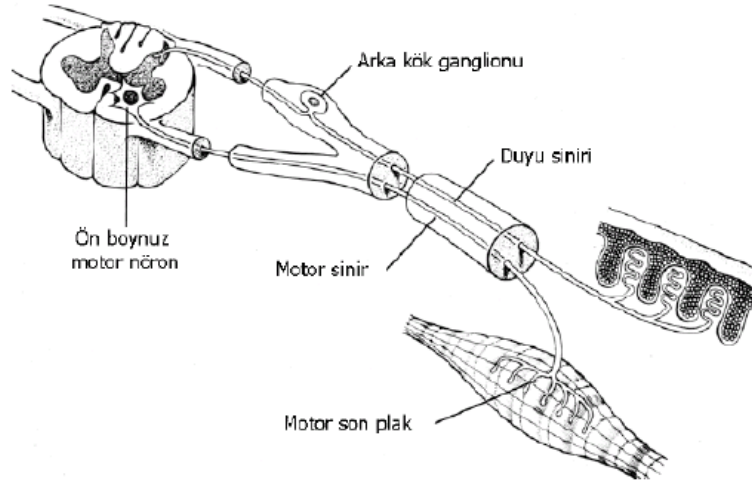
Bu çalışmada, ratlarda oluşturulan deneysel crush tipi siyatik sinir yaralanması modelinde, mannitol ve C vitamininin nöroprotektif etkilerinin, ışık mikroskopisi ve biyokimyasal yöntemlerle araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PERİFERİK SİNİR

2.1.1. Periferik Sinir Anatomisi

Periferik sinirler, dorsal kök ganglionlarındaki sensorial, omurilikteki motor ve postganglionik otonomik nöronların periferik uzantılarının oluşturduğu yapılardır. Duysal, motor ve otonomik sinir lifleri içerirler. Periferik motor sinir lifleri, omirilik ön boynuzunda yerleşmiş alt (ikinci) motor nöronların aksonlarının ön kökten omiriliği terk etmesi sonucu oluşurlar. Periferik duysal liflerin hücre gövdeleri ise omiriliğin dışında, intervertebral foramende yerleşimli arka kök ganglionu içindedir. Burada bulunan bipolar duysal nöronların periferik uzantıları periferik sinir içinde yer alırken santral uzantıları arka kök yoluyla omiriliğe girerek santrale doğru yükselirler (13,14).



Şekil 1; Periferik sinirin oluşumu (13)

İntumesensia servikalis denilen ve omuriliğin genişlediği C4-T1 seviyesinden üst ekstremitelerin innervasyonunu sağlayan brakial pleksusun kökleri çıkarken intumesensia lumbalis denilen L2-S3 seviyesindeki genişlemeden alt ekstremitelerin innervasyonunu sağlayan lumbasakral pleksusun kökleri çıkmaktadır (14).

Spinal sinirler ön (anterior rami) ve arka dalları (posterior rami) vardır. Spinal sinirler içinde bulunan arka dallar, omurga üzerindeki cildin duyusunu ve paraspinal kasların innervasyonunu sağlar. Ön dallar ise göğüste interkostal sinirleri oluştururken, boyunda ve ekstremitelerde servikal, brakiyal ve lumbosakral pleksusları oluşturur (14, 15).

Sinir lifleri ve bağ dokudan oluşan periferik sinirler, bağımsız anatomik, fonksiyonel ve kompleks morfolojik karakteri olan yüzlerce nöronun çevre konnektif dokuyla bir araya gelmesiyle oluşmaktadır. Bu nöronların çoğu üç yapıdan oluşur, Bunlar: perikaryon, dentrit ve aksondur. Perikaryon denilen hücre kısmı, hücrenin trofik merkezini temsil eder. Nükleus ve çevre sitoplazmasından oluşur (15,16).

Dendrit çevreden, duyu epitelinden veya diğer nöronlardan stimulusları alan birçok dalı olan uzantılardır. Akson ise kas, sinir veya glandlara impuls yollanmasını sağlayan hücrenin uzantısıdır. Aksonların çapı ve boyu sinirden sinire değişir. Aksonun distal uçları dallanır ve her biri başka hücrelerle sinapslar aracılığıyla ilişki kurarlar (15,16).

Nöronlar fonksiyonel rollerine göre motor nöronlar, duyu nöronları ve inter nöronlar olmak üzere 3'e ayrılabilir. Motor nöronlar kas lifleri, ekzokrin ve endokrin glandları kontrol eden efektör nöronlardır. Motor nöronların perikaryonları medulla spinalisin ön boynuzunda bulunur (17). Ön boynuz nöronları tek aksona ancak hücre gövdesinin her kutusundan çıkan çok sayıda dendrite sahiptirler. Bu şekildeki nöronlara multipolar nöron adı verilmektedir. Gangliondaki nöron ise tek aksonla birlikte aynı kutuptan çıkan tek dendrite sahip olup bu tip nöronlara unipolar nöron denir (14,15).

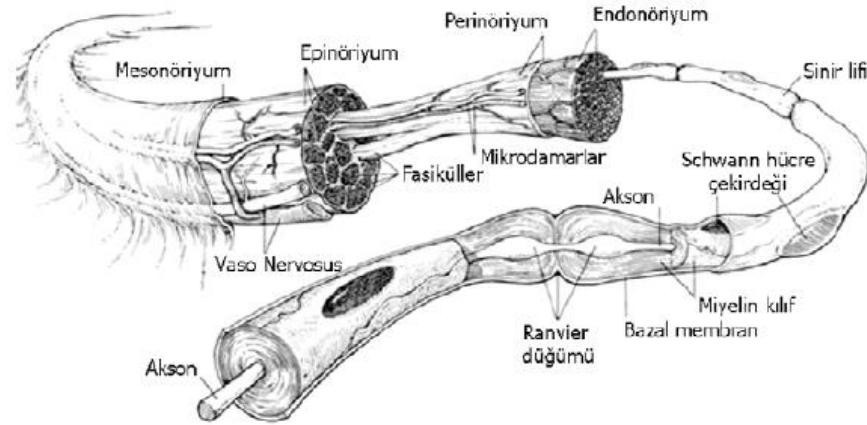
Sinir lifleri, özel kılıflarla sarılmış aksonlardan oluşur. Bu kılıf periferik sinirlerde Schwann hücreleri, merkezi sinir sisteminde ise oligodendrositler tarafından yapılır. Lif grupları beyin ve omuriliğin traktuslarını ve periferik sinirleri oluşturur. Miyelinli ve miyelinsiz olmak üzere, iki tip sinir lifi vardır. Küçük çaplı aksonlar, genelde miyelinsiz lifleri oluştururlar. Miyelinli bir akson, aynı boyuttaki miyelinsiz bir aksona nazaran daha hızlı sinir akımı iletir (18,19).

Periferik siniri saran zarlar bağ dokusu kaynaklıdır. Bu kılıflar epinörium, perinörium, ve endonörium şeklinde dışarıdan içeriye doğru sıralanır (20).

Epinörium, fasikülleri ve fasikül gruplarını saran zardır ve eksternal ve internal olarak iki tabakaya ayrılır. Eksternal epinörium tüm siniri saran bağ dokudur ve siniri çevre dokulardan ayırır. İnternal epinörium fasikül ve fasikül gruplarını ayırır. Epinörium kalınlığı sinirin lokalizasyonuna göre değişir (16,17). Fasikül kalınlığı arttıkça ve eklem bölgelerinden geçerken kalınlaşan epinörium, periferik sinirin proksimalinde dura materin yapısına karışarak sonlanır. İçerdiği yağ hücreleri travmaya karşı bir yastık gibi görev yaparken, diabet mellitus gibi bazı sistemik hastalıklarda yağ dokusu miktarında azalma olması sebebiyle tuzak nöropatiler olduğu düşünülür (20).

Perinörium, fasiküllerin etrafını saran kılıftır ve epinöriumdan 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 aynı kan-beyin bariyerinde olduğu gibi kan-sinir bariyeri oluşturmaktadır (20). Sunderland, perinöriumun iç tabakasını yassı hücrelerin oluşturduğunu, dış tabakasını da fibröz bağ dokunun oluşturduğunu öne sürmüştür (21). Sinirin gerilmelere karşı direncinin önemli bir bölümü perinörium ile sağlanır. Gerilme ile perinörium kopmadan önce sinir liflerinin kopması olasılığı yok denilebilecek kadar azdır (20).

Endonörium, fibroblast, kollajen matriks, mast hücreleri, kapiller ağ ve geniş ekstrasellüler aralıktan oluşur. Aksonlar ve çevrelerindeki miyelin kılıfı saran endonörium, sıkı bağlantılar (tight junction) yapan kapiller yapılara sahiptir (20).



Şekil 2 ; Periferik sinir anatomisi (22)

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 endonörium ve perinöriumda bulunan oblik konfigürasyonlu mikrodamarlardır (intrinsik sistem). Ekstrinsik sistem damarları majör vasküler trunkuslardan, kollaterallerden veya musküler damarlarından gelir. İntrinsik sistemden gelen dönüş akımı ise epinöriumda 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 (16, 17, 20, 22).

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 epinörium, perinörium ve endonöriumun her birinde bulunup duyu ve sempatik lifler içerirler (23).

2.1.1.1. Siyatik sinir anatomisi

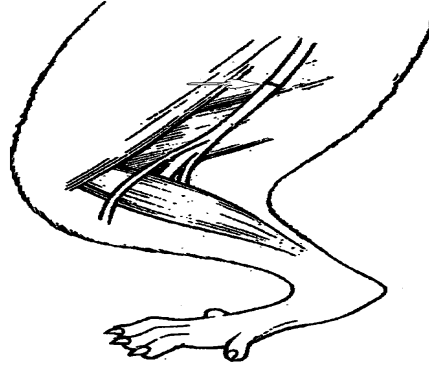
İnsanın en kalın ve en sağlam siniri olan siyatik sinir L4, L5, S1, S2, S3 sinir köklerinden gelen liflerden teşekkül etmekte ve pleksus sakralisin tepesinden başlamaktadır (14).

Siyatik sinir, N. gluteus inferior, arteria-vena glutea inferior, N. cutaneus femoris posterior, arteria-vena pudendalis interna ve nervus pudendus eşliğinde pelvisten foramen infrapiriformis yolu ile gluteal bölgeye çıkar. M. gluteus maximus' un önünden ve M. quadratus Femoris'in arkasından dikey olarak uyluğun ortasından aşağıya doğru iner. Siyatik sinir fossa poplitea'nın tepesinde bu fossaya girer girmez ana dallarına ayrılır. Siyatik sinir aslında bir kılıf içinde seyreden iki sinirden oluşmuştur. Uyluğun alt 1/3 kısımlarında beraber seyreden N. fibularis communis ve N. tibialis iki dala ayrılır. Siyatik sinirin popliteal fossa içinde verdiği r. communicans fibularis dalı N. cutaneus surae medialis ile birleşerek N. suralis'i oluştururlar. N. fibularis communis fibula boynunun arka kısmında yüzeyelleşir. Böylece bu noktada kolayca palpe edilebilmektedir (14, 24, 25).

2.1.1.1. Rat siyatik sinir anatomisi

Ratlarda siyatik sinir, spinal segmentin L4-L6 köklerinin birleşmesiyle oluşur. Spinal segmentten unifasiküler olarak çıkan siyatik sinir trokanter mayus kasının 5-7 mm distalinde önce 2 dala daha sonra 4 dala ayrılır. Siyatik sinirin tibial dalı, tibial ve sural sinirleri oluştururken peroneal dalı, peroneal siniri ve hamstring kaslarını delerek lateral baldır kaslarını innerve eden peroneal kutanöz dallarını oluşturur (26).

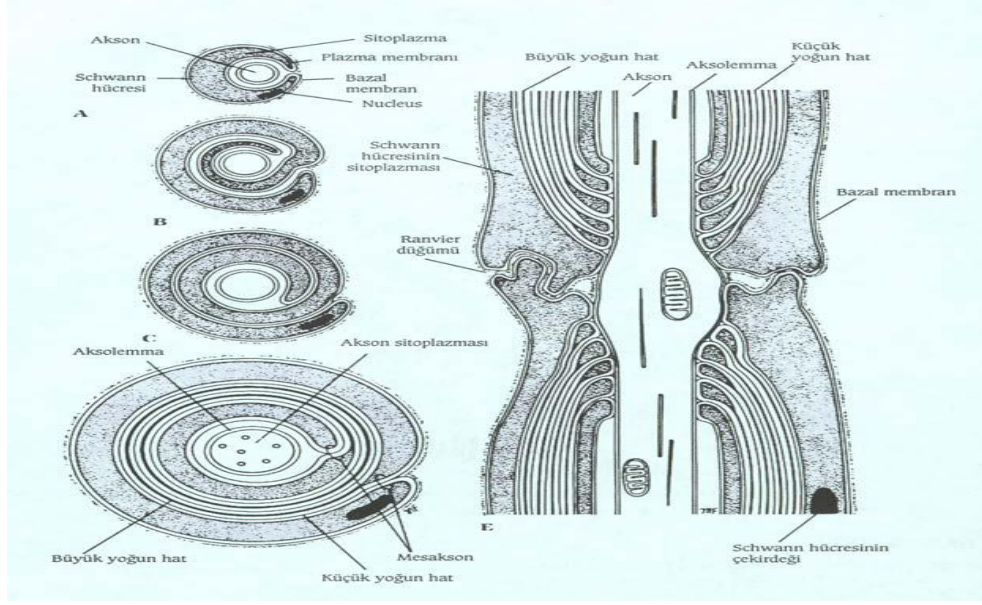
Periferik sinir hasarına yönelik deneysel çalışmalar için, rat siyatik sinir kışhasarı modeli uygun bir çalışma metotudur. Çünkü deney çalışmalarında fokal crush hasarı oluşturulmasıyla aksonal iletim kesintiye uğrarken sinir lifi tamamiyle kopmadığı için sinir rejenerasyonu genellikle başarılı bir şekilde gerçekleşebilmektedir (27)



Şekil 3 ; Rat siyatik sinir anatomisi ve crush hasarın yapıldığı nokta (28)

2.1.2. Periferik Sinir Histolojisi

Periferik sinirler bir ya da daha fazla aksonlar demetinden oluşmaktadır. 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 bir bağ dokusu ile örtülmüştür. Endonöryumun altında Schwann hücreleri tarafından oluşturulan nörolemma kılıfı yer alır. Miyelinli sinir liflerinde, Schwann hücre sitoplazması içerisine gömülü olarak yer alan akson etrafında, konsantrik lamellar tarzında düzenlenen miyelin kılıf bulunmaktadır (29,30), Şekil 4.

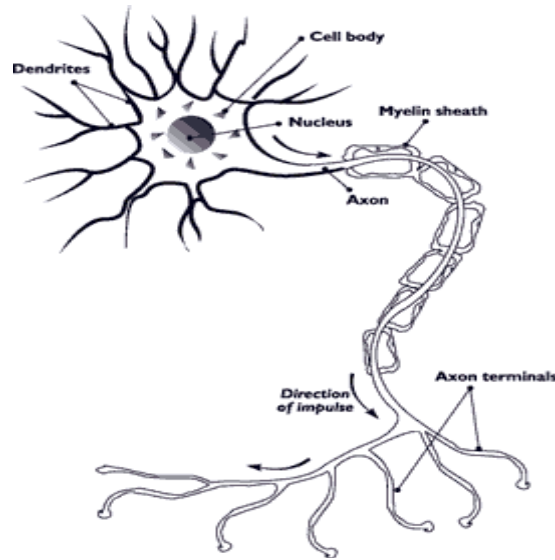


Şekil 4; Miyelin kılıf ve oluşum basamakları ve ranvier boğumu (30)

Schwann hücreleri periferik sinir sisteminin destekleyici hücreleridir ve temel fonksiyonları hem miyelinli hem de miyelinsiz sinir liflerini desteklemektir (31). Miyelin kılıf, aksonu endonöryumun ekstrasellüler kompartmanından ayırmakta ve sinir impulslarının hızlı bir şekilde iletilmesini sağlamaktadır. Schwann hücreleri miyelinsiz sinir liflerini de sarmaktadır. Bu hücreler ayrıca, periferik sinir sistemindeki yıkıntıları temizler ve yaralanma veya kesilme sonrası aksonların yeniden büyümesine rehberlik ederler (2,5,32). Miyelinizasyonda, miyelin kılıfın kalınlığı Schwann hücreleri tarafından değil, akson çapı tarafından belirlenmektedir. Dolayısıyla, miyelin oluşumu, akson ve Schwann hücresi arasındaki fonksiyonel ilişki sonucunda gerçekleşmektedir. Miyelin kılıf akson boyunca birbiri ardına dizilen birçok Schwann hücresi tarafından yapıldığı için segmental bir görünümdedir. Komşu Schwann hücrelerinin karşılaştığı bölgeler, miyelin kılıftan yoksundur. Bu alanlara Ranvier düğümü adı verilir. İki Ranvier nodu arasındaki miyelin kılıfla kaplı bölgeye de internodal segment denilmektedir. Periferik sinir sisteminde Schwann hücreleri miyelinsiz sinir liflerini de çevreler. Schwann hücreleri aksonun uzun eksenini boyunca paralel olarak uzanır ve aksonlar hücre sitoplazmasına gömülü halde bulunur. Miyelinsiz sinir liflerinde, her bir Schwann hücresi, bir ya da daha fazla aksonu aynı anda sarmaktadır (29,30).

2.1.3 Periferik Sinir Fizyolojisi

Nöronlar (sinir hücreleri) ister duyu veya motor isterse küçük veya 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 ve bu süreç aynen tekrarlanır (33,34).

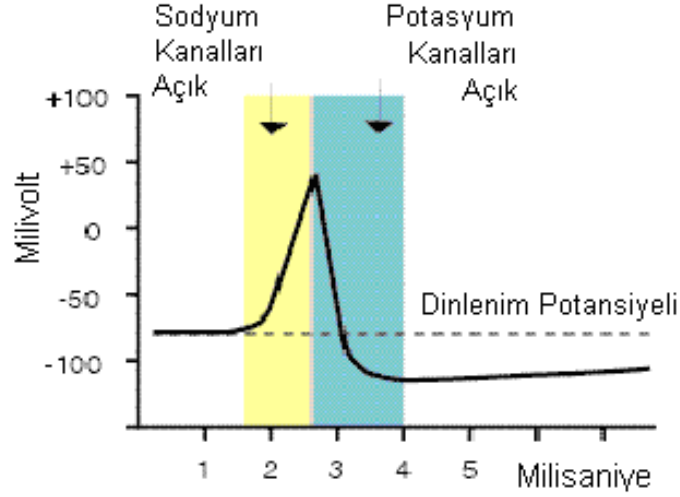


Şekil 5; Sinir hücresinde impulsun iletim şekli (33)

Aksiyon potansiyelinin oluşmasında hücre membranı anahtar rol oynar. Sinir hücresi membranının dış yüzeyi pozitif, iç yüzeyi negatif elektrik yük taşır. Bu nedenle hücre duvarının 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 (B9,10,11). Bu potansiyel hücre membranını geçen 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 (33,34).

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 membran içi yüzünün pozitif dış yüzünün ise negatifleşmesiyle sonuçlanır, yani membran depolarize olur. Bu değişim K^+ kanallarını açar, neredeyse Na^+ iyonlarının hücre içine akışındakine yakın bir 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 (33,34).

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 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 segmentinin elektriksel yükü değişir ve depolarize olur. Fakat myelinli liflerdeki gibi Ranvier boğumları olmadığı ve sıçrama şeklinde akım olmadığı için iletim hızı daha yavaştır (33,34).



Şekil 6; Aksiyon potansiyeli (33)

2.2. PERİFERİK SİNİR YARALANMALARI

2.2.1. Periferik Sinir Yaralanmaları Tarihçesi

Basit olarak Santral Sinir Sistemi'ne (SSS) bilgi ulaştırın ve SSS'nin motor emirlerini yapan Periferik Sinir Sistemi (PSS) ve onun cerrahisi maalesef o kadar kolay ve basit değildir. Olayın ne kadar karmaşık olduğunu anlamak için tariheye kısa bir göz atmak yeterlidir. MÖ. 3. yy' da Herophilus sinirleri medulla spinalise kadar takip edip, motor-duyu ayırımı yapmış olmasına rağmen sinir-tendon karışıklığı 16.yy'a kadar sürmüştür (35).

MS.130'da Galen gerçekleştirdiği birçok hayvan deneyi ile PSS'nin detaylı anatomisini tariflemiştir. Hayvan deneylerinde larinks sinirinin kesilmesinin sesin gitmesine, boyundaki sinirlerin kesilmesinin omuz hareketlerinin kaybolmasına yol açtığını buldu. Ancak 'sinirler bir kere kesildi mi tamir edilemez' sözü birçok cerrah tarafından 20.yy'a kadar kabul gördü (35).

1400'lü yıllarda Lanfranco kesilen sinirleri dikerek, sinire iğne sokmayla oluşan ağrıdan çekinmemek gerektiğini çünkü bu ağrının yağlarla geçeceğini ifade

etmişti. Fakat 18. yy ortalarına kadar, kesik sinir uçlarının dikilmesinin kötü sonuçlar oluşturduğu şeklinde bir inanış vardı. Çünkü sinir tamirinden hemen sonra beklenen iyileşme gözlenemiyordu. Cruikshank ve Haighton'un yaptıkları çalışmalarda, sinirin tekrar fonksiyon kazanabilmesi için anatomik devamlılığının sağlanması gerektiğini göstermeleri tüm yanlış görüş ve düşünceleri değiştirmiştir (35).

Sinirin mikroskopik anatomisinin 19. yüzyılda ortaya konması da, sinir iyileşmesini daha iyi anlamamıza yardım etti. Sinirin tübüler yapısını Du Trochet, sinir kılıfının hücresel komponentlerini Schwann, ince yapıyı Von Gerlach, Nissl, Waldeyer; aksonları Golgi, myelini Weigert tarifledi. Waller, sinir laserasyonundan sonra, hücre gövdesine tutunan proksimal aksonun kaldığını fakat ana hücreden kopan distal akson dejenerasyona uğradığını göstermiştir. Sonuç olarak fonksiyonun geriye dönüşünün distal aksonun restorasyonuna bağlı olduğunu gösterdi (35).

2.2.2. Periferik Sinir Yaralanmaları Oluşumu

Periferik sinirler mekanik travmadan etkilenebilecekleri gibi termal iskemik ve kimyasal etkenler gibi birçok değişik etkenden dolayı da yaralanabilirler (23). Sinir yaralanmalarının en yaygın görülen tipi gerilme tipi yaralanmalardır (2). Periferik sinire uygulanan çekme, sinirin gerilme kapasitesinin üzerine çıkarsa, yaralanma meydana gelebilir ve devamlılık tamamen kaybolabilir. Bununla beraber, çoğu yaralanmalarda devamlılığın genellikle korunduğu rapor edilmiştir. Bu tip yaralanmalar genellikle, periferik sinir izolasyonunda veya ekstremitte kırıklarında, sinirle kemiğin yakın olduğu noktalarda görülür. Ciddi yaralanmaların % 30'unu oluşturan ve sinirde kesilme ile karakterize yırtılma tipi yaralanmalar, diğer yaygın tip yaralanmalardır. Yırtılma tipi yaralanmalar, kolay bir şekilde oluşturulabildiğinden, araştırmalarda yaygın olarak kullanılan bir modeldir (1,2).

Ezilme (kompresyon) tipi yaralanmalar yaygın olarak görülen diğer yaralanma türüdür. Bu yaralanmada sinirsel elemanların ayrılması veya kopması söz konusu değildir. Ezilme tipi yaralanmalarda, motor ve duyu fonksiyonlarının total kaybı meydana gelebilmektedir. Ezilme tipi yaralanmalarda, mekanik ezilme ve iskemi olmak üzere iki mekanizmanın, primer etken olabileceği kabul edilmektedir. Bununla birlikte sinir hasarının oluşumunda, hangi mekanizmanın daha önemli olduğu tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Yapılan çalışmalar, kısa süreli ezilme tipi yaralanmalarda,

iskeminin fizyolojik iletim bloğuna neden olduğunu göstermiştir. Kısa süreli iskeminin, sinir iletim bloğunu nasıl oluşturduğu açık değildir. Bununla birlikte, büyük çaplı miyelinli liflerin, küçük çaplılara oranla daha fazla iskemik etkiye uğradığı gösterilmiştir. Kısa süreli iskemide, histolojik değişiklikler genellikle geri dönüşümlüdür. Şiddetli iskemik hasara uğramış sinirde, genellikle fonksiyonun kaybolabileceği ve tam bir iyileşmenin oluşmayabileceği kabul edilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, ezilme tipi yaralanmalarda mekanik deformasyonun etkilerinin daha ön planda olduğu görüşü ön plana çıkmıştır (1,2,36).

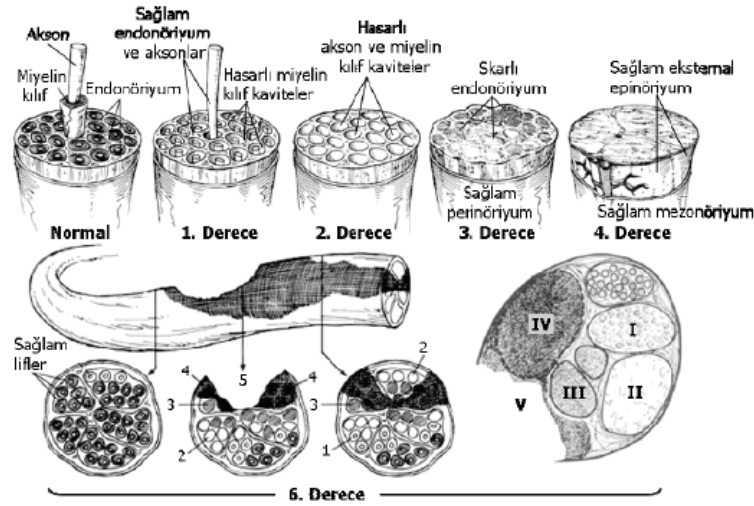
Periferik sinir yaralanmaları hayati tehlike arz etmemelerine rağmen sonuçta kişinin fonksiyonlarını ileri derecede sınırlaması, sosyoekonomik ve psikolojik durumunu etkilemesi açısından dikkate değerdir. Periferik sinir yaralanmalarından sonra istenilen amaç sinir iyileşmesinin (fonksiyonun geri dönüşü) en kısa sürede sağlanmasıdır (2,21,37).

2.2.3. Sinir Yaralanmalarının Sınıflandırılması

Sinir lezyonları mekanik (kompresyon, germe, ezilme) veya termal; iskemik ve kimyasal nedenlerle olabilir. Lezyonların sınıflandırılmaları, sinir liflerinde ve trunkuslarda olan yapısal veya fonksiyonel değişikliklere göre ayrılabilir (38). Periferik sinir onarım yolunun başarısı ve süresi, sinir yaralanmasının derecesine bağlıdır (2). Sinir yaralanmasından sonra meydana gelen mikroskobik değişikliklerin korelasyonuna izin veren ve klinikte kullanışlı olan yaralanma türleri geliştirilmiştir. Seddon ile Sunderland tarafından geliştirilen sınıflandırma günümüzde yaygın olarak kabul edilmektedir (39). Seddon yaralanmaları şiddetine göre; nöropraksi, aksonotimes ve nörotimes olmak üzere 3 sınıfa ayrılmaktadır. Sinir devamlılığının kaybolmadığı ancak geçici bir fonksiyonel kaybın olduğu nöropraksi, bu yaralanmaların en hafif tipidir. Nöropraksi'de, miyelin yapısında bazı değişiklikler meydana gelmesine rağmen, oluşan geçici fonksiyon kayıplarının yaralanma bölgesindeki lokal bir iyon-aracılı iletim bloğundan dolayı olduğu düşünülmektedir. Akson ve miyelin kılıfın tamamen kesilmesiyle aksonotimes oluşmaktadır. Aksonotimeste, epinöryum ve perinöryum genellikle korunmuştur. Yaralanmanın distal bölgesinde, akson ve miyelin dejenerasyonu sonucu tam bir denervasyon meydana gelmektedir. Nörotimes, sinirin bağlantılarının kesildiği ve tam bir fonksiyonel kaybın olduğu yaralanma tipidir. Bu tip

yaralanmada aksonda yeniden büyümei yönlendirecek yapılar kaybolur ve skar oluşur. Cerrahi girişim yapılmadan genellikle iyileşme meydana gelmemektedir (39).

Sunderland sinir yaralanmalarını 5 grupta değerlendirmiştir; 1.derece yaralanma, Seddon'un nöropraksi tipi yaralanmasına, 2.derece yaralanma ise aksonotimes'e eşdeğer olarak kabul edilmiştir. 3.derece yaralanmalar aksonda kesilme ile meydana gelen, Seddon'un nöropraksi ve axonotimes tipleri arasında bir yaralanma tipine eşdeğerdir. Bu tip yaralanmalarda endonöryum da kısmen hasar görmektedir. Endonöryumdaki hasarın derecesine bağlı olarak iyileşme oluşabilir. Sunderland, Seddon'un nörotimes tipi yaralanmasını, 4. ve 5.derece yaralanmalar olarak sınıflandırmıştır. 4.derece yaralanmada, epinöryum haricinde sinirin bütün kısımları bozulmakta, 5.derece yaralanmada ise sinir tamamen kesintiye uğramaktadır. Her iki yaralanmada da iyileşme ancak cerrahi girişim ile sağlanabilmektedir (1,2,40) (Şekil 7).



Şekil 7; Periferik sinir zedelenmesinin sınıflandırılması (40)

2.2.4. Yaralanma Sonucu Sinirde Meydana Gelen Değişiklikler

Periferik sinirin iyileşmesinin başarısı, yaralanmanın başlangıçtaki şiddetine ve meydana gelen dejeneratif değişikliklere bağlıdır. İletim bloğunun olduğu 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 (2,40,41). Wallerian dejenerasyonunda primer histolojik değişiklik, akson ve miyelin kılıfta oluşan yapısal bozukluklardır. Dejenerasyon sonucu gözlenen başlıca yapısal değişiklikler, nöronda nörotübül ve nörofilamanların düzensiz hale gelmesi, akson ve miyelin kılıfın birbirlerinden ayrılmalarıdır. Miyelin kılıf dejenerasyonu özellikle 36-48 saat içinde belirgin hale gelir. Yaralanmadan sonra 48-96 saatte genellikle akson devamlılığı kaybolur ve impuls iletimi bozulur. Wallerian dejenerasyonunda Schwann hücrelerinin anahtar rol oynadıkları kabul edilmektedir (5,31,42). Bu hücreler yaralanmadan sonra 24 saat içinde aktif hale geçer, çekirdek ve sitoplazmik büyüme gösteren hücreler, hızla bölünerek, dejenerasyon ve tamir yoluna yardım edecek bir çok molekülü eksprese ederler. Schwann hücreleri dejenerasyon sonrası, akson ve miyelin artıklarını ortadan kaldırır. Periferik kandan göç eden makrofajlar ile Schwann hücreleri, fagositoz yaparak, yaralanma bölgesini 1 haftadan bir kaç aya ulaşan bir sürede temizler. Bu süreçte, endonöryumda bulunan mast hücrelerinin de önemli rollere sahip oldukları bilinmektedir. 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. 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 (2,5,8).

2.2.4.1. Sinir Proksimali ve Hücre Gövdesinde 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 periferik 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 perifere göç eder,

Nissl cisimcikleri bozular ve nöroplazmaya dağılır. Bunun dışında, nöronun sinaptik bağlantıları da genellikle bozular (43). Dorsal kök gangliyonunda apoptozla hücre ölüm insidansının %20-50'ye kadar arttığı rapor edilmiştir (37). Yaralanmadan sonra, periferik sinir mikroçevresinde, Schwann hücrelerinin destekleyici rolleri yanında, salınan pek çok tropik molekülün, hücre yaşamını etkilediğini bildiren çalışmalar yayınlanmıştır (43).

2.2.4.2. Yaralanmayla Beraber Sinir Distalinde Meydana Gelen Değişiklikler

Periferik sinirde hasarlı bölgenin distali Wallerian dejenerasyonu ile karakterize bir sürece girer. İntrafasiküler yaralanmaların akson rejenerasyonunu bozması ve bundan dolayı endonöral tüpün uzun süre denerve kalması önemli bir fark olarak ortaya çıkmaktadır. Yaralanmadan sonra endonöral tüp küçülmeye başlar. Schwann hücresi bazal laminasının dış yüzeyindeki kollajene ilaveten, endonöral kılıfta da kalınlaşma gözlenir. Endonöral tüp genellikle rejenere bir akson ile birleşir, akson ile bağlantı kurulamadığında, artan fibrozis ile birlikte ortadan kalkar. Wallerian dejenerasyonunun geç dönemlerinde Schwann hücre yığımları ile karakterize kollabe endonöral tüpler mikroskopta da ayırt edilmektedir. Schwann hücre sütunlarından oluşan aksonun rehber yolları, Büngner bandlarını oluşturur (2,36,44). Dolayısıyla bu bandlar, sinir yaralanmasından sonra, akson büyümesi için Schwann hücrelerinin nöronları destekleyici etkilerinin önemli bir göstergesidir. Dördüncü ve beşinci derece yaralanmalarda endonöral tüpler tamamen bozular, Schwann hücreleri ve aksonlar tanımlanamaz hale gelirler. 24 saat içerisinde dejenere olmuş sinir uçlarında reaktif epinöral fibroblastlar ortaya çıkar. 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. Dördüncü ve beşinci derece yaralanmalarda sinirin son kısımları, şişkinleşmiş ve dejenerasyona uğramış Schwann hücreleri, fibroblastlar, makrofajlar ve kollajen lif demetleri ile karakterizedir. Rejenere aksonlar, proksimal segmentin şişkin kısmına ulaşır ve burada çok ciddi engellerle karşılaşır. Çoğu akson skar dokusunda halka dizilimi oluşturur veya proksimal segment boyunca geri döner. Bazı rejenere aksonlar distal kısma ulaşır. Yaralanmanın şiddeti,

skar oluşumunun büyüklüğü ve aksonun yaralı bölgeye ulaşmasından önce geçen süre gibi, pek çok faktöre bağlı olarak sinir rejenerasyonu, değişiklik gösterir (1,2,40).

2.3. LİPİD PEROKSİDASYONU

Lipid peroksidasyonu kimyasal bir olaydır ve serbest radikaller tarafından başlatılarak membran yapısındaki poliansature yağ asitlerinin oksidasyonuna (PUFA) neden olur. Bu lipid peroksit radikalleri ($L-O_2^*$), membran yapısındaki diğer poliansature yağ asitlerini etkileyerek (45), yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksidlerine ($L-O_2H + L^*$) dönüşürler (45, 46). Lipid peroksidasyonunun, zarların lipid yapısındaki değişiklikler nedeniyle fonksiyonların bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenlerine etkisi, son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden oldukları düşünülmektedir. Lipid peroksidasyonu çok toksik bir zincir reaksiyonudur. Kendiliğinden ilerleyen zincir reaksiyonu olması nedeniyle önemlidir. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehitlere diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Dolayısıyla doku hasarına ve pekçok hastalığa sebep olur (3). Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması yüzünden reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerle meydana gelir, membran permeabilitesi ve mikroviskozitesi ciddi şekilde etkilenir. Lipid hidroperoksidleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşurlar. Bu bileşikler, hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki eski alanlarından difüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayabilirler. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu, malondialdehid (MDA) oluşturur (41), bu da tiyobarbitürik asitle ölçülebilir. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik veya kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesine bağlı bir ilişki gösterir (47). Peroksidasyonla oluşan MDA, membran bileşenlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar (3, 47).

2.4. SERBEST RADİKALLER

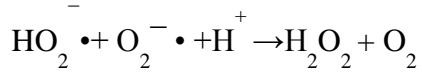
Serbest radikaller birçok fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar sırasında oluşabilen bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronu bulunan atom veya moleküllerdir. Serbest radikaller kimyasal sembollerinin üst tarafına konulan nokta ile gösterilirler. Örneğin; süperoksit radikali: (O_2^{\bullet}), hidroksil radikali: (OH^{\bullet}) (4,47). Genellikle radikal olmayan maddelere göre daha reaktif olduklarından eşleşmemiş elektronlarını paylaşmak için diğer moleküllerle hızla reaksiyona girerler. İki serbest radikalın birleşmesi sırasında eşleşmemiş elektronları da birleşerek bir çift oluşturur. Böylece her iki radikal ortadan kalkar. Ancak organizmada bulunan moleküllerin çoğu eşleşmemiş elektron içermediğinden serbest radikaller çoğu zaman radikal olmayan maddelerle tepkimeye girerek yeni serbest radikaller oluşturur. Bu olaylar zincir tepkimeler olarak sürme eğilimindedir (48,49).

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu oluşurlar. Serbest radikaller pozitif, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler (3).

2.4.1. Süperoksit Radikali

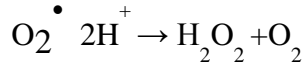
Doğal oksijen molekülünün çevresindeki herhangi bir molekülden bir elektron almış hali olan süperoksit (O_2^{\bullet}) molekülü başka moleküllerle kolayca elektron alışverişine girebilen bir özelliktedir (45, 47, 48). Mitokondride elektron transport zinciri sırasında O_2 'nin oksidasyonuyla oluşur. Süperoksit radikali, hem iyi bir redüktan hem de iyi bir oksidandır ve zincir reaksiyonları başlatabilir. Süperoksit bir serbest radikal olmakla birlikte, çok zararlı değildir. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (49).

Serbest oksijen radikal oluşumu, genellikle oksijenin univalan indirgenmesiyle süperoksit radikalının açığa çıkmasıyla başlar. Sitokrom c'yi indirgemesi süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından inhibe edilir. Bundan yararlanılarak SOD aktivitesi ve fagositler tarafından üretilen (O_2^{\bullet}) tayini yapılır (45,48,49). Süperoksit ile perhidroksil radikali (HO_2^{\bullet}) birbirleriyle reaksiyona girince, biri okside olur ve diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda oksijen ve hidrojen peroksit oluşur. SOD enzimi bu reaksiyonu katalize eder (49,50).

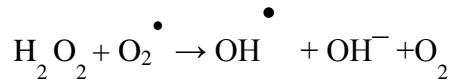


2.4.2. Hidrojen Peroksit

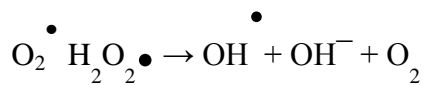
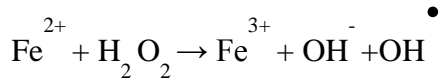
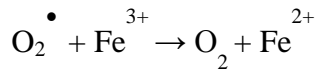
Doğal oksijen, çevresindeki moleküllerden 2 elektron alırsa, oluşan molekül peroksittir (3,4,41).



Bu dismutasyon ya kendiliğinden artar veya SOD tarafından katalizlenir. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini (OH^\bullet) oluşturmak için kolayca yıkılabilir (45, 49).



Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Katalizör varlığında veya katalizörsüz oluşabilir. Ancak katalizörsüz reaksiyon çok yavaş ilerler, demirle katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır. Bu reaksiyonuna da ‘‘Fenton Reaksiyonu’’ adı verilir (45,51).



2.4.3. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali (OH[•]), transisyon metallerinin varlığında hidrojen peroksitin indirgenmesiyle oluşur. Bundan başka, suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucu da hidroksil radikalleri oluşur. Bu serbest radikal yüksek reaktivitesinden dolayı derhal tüm hücrel komponentlerle reaksiyona girer, bu yüzden hücre için çok toksiktir. Son derece reaktif bir oksiradikaldir. Yarılanma ömrü çok kısadır ve oluştuğu yerde büyük hasara neden olur (45,48).

2.4.4. Serbest Radikal Kaynakları

Antioksidanları, doğal (endojen) ve eksojen kaynaklı olmak üzere iki grupta toplayabiliriz (4, 47).

2.4.4.1. Endojen Kaynaklar

Hücrelerde birçok endojen radikal üretim kaynağı vardır. Mitokondrial ve mikrozomal elektron transport zincirinde, aktive fagositlerde (polimorfonüveli lökositler ve makrofajlar), İskemi-reperfüzyon hasarı sonrasında ve ksantin oksidaz sisteminde endojen radikaller üretilirler.

Paradoks olarak iskemi sonrası reperfüzyon ve hipoksiden sonra reoksijenasyon doku hasarına yol açabilir. Eğer aerobik metabolizma için oksijen desteği yetersizse, yüksek enerjili fosfor bileşiklerinden Adenozin Trifosfat (ATP) oluşan doku enerji depoları boşaltılır ve hipoksantin oluşur. Reoksijenasyonda hipoksantin ATP onarımı için kullanılır. Ancak doku hipoksisi uzun sürerse, reoksijenasyonda ksantin oksidaz etkisi ile hipoksantin ksantine çevrilir. Bu reaksiyon süperoksit üreten bir süreçtir ve şu hastalıklarda görülebilir: Bütün hipoksik durumlar, cerrahi müdahale bölgesindeki damarların klemplenmesi, mikrovasküler sirkülasyon kaybı (diyabet), damar tıkanması tabloları (Serebral enfarkt), Organ transplantasyonları, travmatik kazalar (49).

2.4.4.2. Eksojen Radikal Kaynakları

Aşırı oksijen konsantrasyonu (hiperoksi), iyonize radyasyon, sigara içilmesi, Redoks sikling ksenobiyotikler (Bir insektisit olan paraquat ve sitotoksik bir ilaç olan

doksozobisin), kimyasal madde zehirlenmeleri, hava kirliliği, pestisit kullanımı Silikat tozları eksojen radikal kaynaklarıdır (45,47,49).

2.4.5. Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkisi

Serbest radikaller, biyomoleküllerin çoğunu etkiler, fakat lipidler en hassas olanlarıdır (4, 49). Biyolojik zarlar büyük miktarlarda yan bağlı çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) içerirler. Membran kolestrol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon oluştururlar. Lipid peroksidasyonu ile oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür (49,50). Lipid peroksidasyonu zarın yapısında ve barındırdığı enzimlerde birtakım hasarlar oluşturur. Zar geçirgenliği nedeniyle kalsiyum homeostazisi değişebilir ve ATP'azların kalsiyumu tutması azalabilir, Fosfolipaz A₂'yi uyarabilir, bu da reseptör fonksiyonlarını etkiler. İyon pompalarını ve reseptörlerin bağlanması etkileyebilir. PUFA'ların hasarından dolayı zarın akışkanlığını da azaltır ve dinamik membran yapısında bozulmalar oluşur. Membranının bütünlüğünün kaybıyla hücre ölümü ve doku nekrozu gerçekleşebilmektedir (45,46). Lipit peroksidasyonu, lipit peroksitlerinin malondialdehit (MDA) ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle sona erer (3,46).

2.4.6. Serbest Radikallerin Protein ve DNA'ya Etkileri

Serbest radikallerin proteinleri ne derece etkileyeceği aminoasit bileşenlerine bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenirler. Proteinler üzerinde olan serbest radikal hasarı birikmişse ya da belirgin proteinlerin spesifik bölgesi üzerinde yoğunlaşmışsa hücrenin canlılığı bakımından zararlı etki yapar (3, 48).

Serbest radikaller aynı zamanda DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksisite büyük oranda nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine ya da DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit, membranlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilirler (50).

2.5. ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Reaktif oksijen türlerine karşı koruma, oluşan radikallerin detoksifiye edilmesi, radikal zincir reaksiyonlarının ve radikal oluşumunun engellenmesi ile sağlanmaktadır (45,46). Antioksidanlar peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid preoksidasyonunu inhibe ederler (46).

2.5.1. Antioksidan etki tipleri

Antioksidan maddeler buldukları hücrel kompartmana ve fonksiyonel özelliğine göre antioksidan etkisi açısından şu şekillerde sınıflandırılabilir (45).

1. Toplayıcı (scavenging) etki: Serbest oksijen radikallerini tutma veya daha zayıf yeni bir moleküle çevirme etkisidir.

2. Bastırıcı (quancher) etki: Serbest radikallerle etkileşme sonrasında, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ya da inaktif şekle dönüştüren etki şeklindedir.

3. Zincir kırıcı (chain breaking) etki

4. Onarıcı (repair) etki

2.5.1.1. Doğal Antioksidanlar (Endojen)

Organizmada ya da hücrel kompartmanlarda bulunan enzimatik yada enzimatik özelliği olmayan moleküllerdir (45).

1-Enzim yapıda olanlar: Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi, Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz(GPx) ve Glutatyon transferaz (GST)

2-Enzim olmayanlar: Lipid fazda bulunanlar (Alfa-tokoferol ve beta-karoten), sıvı fazda bulunanlar (Askorbik asit, melatonin, urat, sistein, ferritin, albümin, bilirubin, serüloplazmin, transferrin, laktoferrin, miyogloblin, hemogloblin, glutatyon) (3,4).

2.5.1.2. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar; Ksantin oksidaz inhibitörleri (Allopürinol, oksipürinol, folik asit), soya fasülyesi inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri (Adenozin, lokal

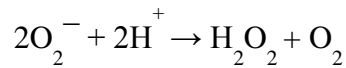
anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar) rekombinant superoksid dismutaz, demir redoks döngüsü inhibitörleri (Desferrioksamin), nötrofil adhezyon inhibitörleri ve **Mannitol** (45).

2.5.1.3. Gıda Antioksidanlar

Gıdalarla alınan antioksidanlar; Butylated hydroxytoluene (BHT), Butylated hydroxyanisole (BHA), Sodyum benzoat, Ethoxyquin, Propyl gallate, Demir-superoksid dismutaz şeklindedir.

2.5.2. Superoksit Dismutaz (SOD)

McCord ve Fridovich 1968'de sığır eritrositlerinden bir enzim izole ettiler ve süperoksit anyonunu hidrojen peroksit ve oksijene parçalayan bu enzime önceleri hemokuprein adını verdiler. Daha sonra mitokondri ve prokaryotik hücrelerde bulunan Mn taşıyan formu ile ökaryotik hücrelerin sitozolünde bulunan Cu-Zn taşıyan formları olduğu görülen bu enzime süperoksit dismutaz adı verildi (45,51,52). Superoksit dismutaz, süperoksidin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir (51,52).



Bu reaksiyon kendiliğinden olarak da oluşabilir. Ancak SOD ile katalizlendiğinde reaksiyon hızı 4000 kat artar. SOD'lar bir grup metalloenzimlerdir (46).

SOD-1: Cu-Zn SOD, sitoplazmada bulunur.

SOD-2: Mn SOD, mitokondride bulunur

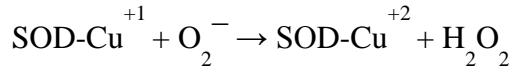
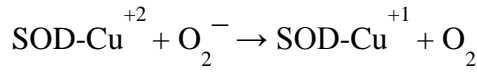
SOD-3: Fe-SOD, Bazı bakterilerde saptanmıştır.

SOD-4: Ni-SOD, Bazı bakterilerde bulunur. Aminoasit kompozisyonu diğer izoenzimlerden farklıdır.

Tüm izoenzimler aynı reaksiyonu katalizler. Enzimin fizyolojik fonksiyonu, oksijen metabolize eden hücreleri superoksit serbest radikallerinin (O_2^-) zararlı

etkilerine karşı korumaktır. Aynı zamanda lipid peroksidasyonunu da inhibe ederler. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. Normal metabolizma sırasında superoksit üretimi yüksek orandadır. SOD'ın ekstraselüler aktivitesi ise çok düşüktür (45,46,53).

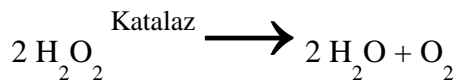
Süperoksit Dismutaz enziminin, süperoksit anyonuna olan etkisi şu şekildedir: Süperoksit anyonu, Cu^{+2} ve bir arginin rezidüsünün guanido grubuna bağlanınca, bir elektron Cu^{+2} 'ye bağlanır ve Cu^{+1} ve moleküler oksijen oluşur. İkinci bir reaksiyonda süperoksit Cu^{+1} 'den bir elektron alarak H_2O_2 ve Cu^{+2} oluşur.



Süperoksit Dismutaz enzimi granülosit fonksiyonu için önemlidir. Çünkü fagosite edilmiş bakterilerin intraselüler olarak öldürülmesinde rol alır. Lenfositlerde daha fazla SOD enzimi bulunur (53,54).

2.5.3. Katalaz

Katalaz, aerobik hücrelerin çoğunda bulunur. Anaerobik organizmalarda bulunmamaktadır. 60 kDa ağırlığında 4 aynı yapıda tetrahedral subunitler içeren hem enzimdir. 240 kDa molekül ağırlığında her molekülde 4 adet ferriprotoporfirin içerir. Görevi hidrojen peroksidi oksijene ve suya parçalamaktır. Peroksizomlarda lokalizedir (45,49).



Katalazın indirgeyici aktivitesi, hidrojen peroksit ve metil etil hidroperoksitler gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerini ise etkilemez (45,49).

2.6. PERİFERİK SİNİR YARALANMALARI VE C VİTAMİNİ

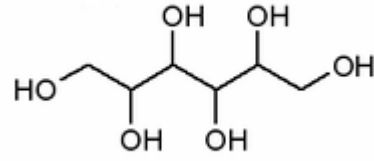
Suda kolaylıkla çözünebilen C vitamini; ketolakton formuna sahiptir. Bu madde; L-askorbikasid ve bunun okside formu L-dehidroaskorbik asid şeklinde bulunur. Her iki formu da yeşil renkli sebze ve turunçgillerde bulunur. İnsanda, L-gulonik asid askorbik aside dönüşemediğinden sentezi yapılmaz, ancak diyetle alınır. Ağız yolu ile alınan askorbik asid ince bağırsaklardan emilerek, doku ve plazmada askorbata dönüşür. Fazlası ise idrarla atılır (55).

Bu maddenin organizma için önemi; indirgeyici gücünün yüksek olmasındandır; dokularda, dehidroaskorbik aside dönüşerek, molekül başına iki hidrojen atomunu serbest bırakır. Bu ise organizmanın hidroksilasyon reaksiyonlarında, indirgeyici rol oynar. Örneğin kollajen sentezinde, prolinden hidroksi prolin sentezini sağlar. Kuvvetli antioksidan olduğundan, süperoksit, hidroksil radikalleri ve singlet oksijenle reaksiyona girerek, onları etkisiz kılar (56). Sulu fazda olmasına rağmen, lipid peroksidasyon başlatıcı radikalleri yok ederek membranları oksidan hasarına karşı korur. Bazı çalışmalar, radyasyon hasarında ortaya çıkan serbest radikalleri bağlayarak, koruyucu etki yaptığını göstermiştir(57).

Ayrıca, tokoferoksilin α -tokoferole dönüşümünü sağlayarak, endojen E vitamini rejenerasyonunda da rol oynar. Böylece E vitamini ile birlikte, düşük dansiteli lipoprotein (LDL)'i oksidasyon hasarına karşı korur (58). Askorbik asit, ferri-demiri (Fe_{+3}) ferro-demire (Fe_{+2}) indirgeyen, oksijen dışında, hücre içi tek molekül olup, Fenton Reaksiyonu'nda Fe_{+3} 'i Fe_{+2} 'e dönüştürerek H_2O_2 üzerinden $OH\cdot$ 'nin üretimine neden olur. Yüksek dozlarda prooksidan etkisinden dolayı hala antioksidan etkinliği ile ilgili çalışmalar güncelliğini korumaktadır (59).

2.7. PERİFERİK SİNİR YARALANMALARI VE MANNİTOL

Mannitol veya hekzan-1,2,3,4,5,6-hekzol ($C_6H_8(OH)_6$) bir sorbitol izomeridir.
(M1)



Şekil 8; Mannitol (60)

Kimyasal olarak, mannitol, bir alkol, şeker veya polioldür; ksilitol (xylitol) ve sorbitole benzerdir. Ama asidik sulu çözeltilerde bir hidrojen iyonunu kaybetme eğilimine sahiptir. Bu sebeple, pH'sını ayarlamak için sodyum bikarbonat gibi bir madde çözeltiliye eklenebilir (60). Bir şeker alkollü olan mannitol aynı zamanda aktif oksijen türlerinin savurucusu olarak da görev yapabilir. Lipit peroksidasyonu ve hücre hasarını önlerler. (61)

Beyin ödeminin azaltılmasında mannitol kullanımının yararı büyüktür. Mannitol vazojenik, sitotoksik ve intertisyel ödemden kaynaklanan ödem sıvısını azaltmada etkindir. Tek veya muhtelif dozda mannitol uygulamasının geç etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, mannitol infüzyonundan sonra beyin dokusunda mannitolün birikebildiğini ve bu birikimin travmatize ve ödemli beyinde daha fazla olabileceği gösterilmiştir. Dolayısı ile kafa içi basıncında rebound artış olabileceği, bu nedenle tekrarlanan doz uygulamasında dozun düşük tutulması ve bolus uygulamalarda da etkiyi oluşturabilecek en düşük doz önerilmektedir (62).

Mannitol diyabetli hastalar için tatlandırıcı olarak kullanılabilirdiği gibi, ısı düşürücü yeteneğe sahip olduğu için, şekerlemelerde de tatlandırıcı olarak kullanıldığı görülmektedir.

3. MATERYAL METOD

3.1. DENEY HAYVANLARININ ELDE EDİLMESİ

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin Cerrahisi Anabilim Dalı tarafından Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışma için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulundan 12.10.2010 tarihinde ve 2010/5/4 Sayılı izin alındı (Ekler 1). Deneylerde kullanılan sıçanlar Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Araştırma Laboratuvarından temin edildi. Çalışmada kullanılan tüm sıçanlar $20-22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ışık siklusunda ve %50-60 nem ortamında barındırıldı. Hayvanlar standart pelet sıçan yemi ve su ile beslendiler. Deney hayvanlarının ağırlıkları 250-300 gram arasındadır. Çalışmamızda toplam olarak 60 adet Sprague-Dawley (SD) cinsi erkek sıçan kullanıldı.

3.2. GRUPLAR

Bu çalışmada, her grupta 10 adet olacak şekilde 6 gruba ayrılan toplam 60 adet rastgele seçilmiş SD cinsi erkek sıçanlardan oluşturuldu.

Grup 1 (Sham grubu=S): Siyatik sinir hasarı oluşturulmayan, hayvan anestezi altındayken İntraperitoneal (i.p.) Serum fizyolojik verilen daha sonra siyatik sinir eksplore edilip sonra kapatılan ve deney sonunda siyatik sinir doku örnekleri alınan gruptur.

Grup 2 (Kontrol grubu=K): Hayvan anestezi altındayken i.p. Serum fizyolojik verilen daha sonra siyatik sinirin olduğu bölge açılarak Kuyumcu forsepsi (Jeweler's forceps) ile 90 saniye Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulan ve hasardan 1 saat sonra Siyatik sinir doku örnekleri alınan gruptur.

Grup 3 (Mannitol 1. saat=M1): Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulmadan 24 saat önce ve Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulması esnasında İntraperitoneal Mannitol (0.5 gr/kg) verilen, deney esnasında Siyatik sinir ortaya konularak Kuyumcu

forsepsi (Jeweler's forceps) ile 90 saniye Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulan ve hasardan 1 saat sonra Siyatik sinir doku örnekleri alınan gruptur.

Grup 4 (C vitamini 1. saat=C1): Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulmadan 24 saat önce ve Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulması esnasında İntraperitoneal C vitamini (100mg/kg) verilen, deney esnasında Siyatik sinir ortaya konularak Kuyumcu forsepsi (Jeweler's forceps) ile 90 saniye Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulan ve hasardan 1 saat sonra siyatik Sinir doku örnekleri alınan gruptur.

Grup 5 (Mannitol 24. saat=M2): Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulmadan 24 saat önce ve Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulması esnasında İntraperitoneal Mannitol (0.5 gr/kg) verilen, deney esnasında Siyatik sinir ortaya konularak Kuyumcu forsepsi (Jeweler's forceps) ile 90 saniye Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulan ve hasardan 24 saat sonra Siyatik sinir doku örnekleri alınan gruptur.

Grup 6 (C vitamini 24. saat=C2): Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulmadan 24 saat önce ve Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulması esnasında İntraperitoneal C vitamini (100mg/kg) verilen, deney esnasında Siyatik sinir ortaya konularak Kuyumcu forsepsi (Jeweler's forceps) ile 90 saniye Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulan ve hasardan 24 saat sonra Siyatik sinir doku örnekleri alınan gruptur.

3.3. KULLANILAN İLAÇLAR

Bu çalışmada kullanılan ilaçlar: Deney Grubu İlaçları; Redoksan İV Ampul (Vitamin C “Askorbik Asit” Ampul Roche, İsviçre), Mannitol %20’lik Medifleks (Her 100 mL’lik solüsyonda, Mannitol 20 gr + Enjeksiyonluk su izotonik= %0,9 NaCl solüsyonun Osmolaritesi: 1100 mOsm/L)Anestezi için Tiopental Sodium (Pentotal sodium Abbott, İtalya), Operasyon sahası dezenfeksiyonu için; Povidone İdine serub (MEDICA brush; %4 chlohexidine scrub, MEDICA BV, Hollanda) + %10 povidone iodine solusyonu (POVİOD; Saba. Türkiye), Antibiyotik profilaksisi için; Seftriakson (Rocephin flk Roche, İsviçre).

3.4. SİYATİK SİNİR HASARI MODELİ VE DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarından, 220-250 gr ağırlığında 60 adet yetişkin erkek Sprague-Dawley cinsi sıçan temin edildi. C vitamini ve Mannitol'un Periferik Sinir crush hasarı sonrası, sinirin rejenerasyonu üzerindeki nöroprotektif etkilerinin incelenmesi amacıyla denekler; Sham grubu (grup 1), Kontrol grubu (grup 2), Mannitol verilerek hasar sonrası 1. saatte doku örneği alınan grup (grup 3), C vitamini verilerek hasar sonrası 1. saatte doku örneği alınan grup (grup 4), Mannitol verilerek hasar sonrası 24. saatte doku örneği alınan grup (grup 5) ve C vitamini verilerek hasar sonrası 24. saatte doku örneği alınan grup (grup 6) olmak üzere 6 gruba ayrıldı. Grup 1 deney hayvanlarına Siyatik sinir hasarı oluşturulmadan sadece doku örneği alındı. Grup 2'de ise Siyatik sinir Crush hasarı oluşturulmakla beraber herhangi bir medikal tedavi uygulanmadı. Grup 3 ve Grup 5 deney hayvanlarına Preoperatif dönemde ve Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulurken Mannitol (0.5 gr/kg) verildikten sonra 1. ve 24. saatlerde doku örnekleri alınmasıyla, Mannitol'un sinir dokusu rejenerasyonu üzerindeki erken ve geç nöroprotektif etkilerine bakıldı. Aynı şekilde Grup 4 ve Grup 6 deney hayvanlarına da Preoperatif dönemde ve Crush tipi Siyatik sinir hasarı oluşturulması esnasında İntraperitoneal C vitamini (100mg/kg) verildikten sonra 1. ve 24. saatlerde doku örnekleri alınmasıyla, C vitamininin sinir dokusu rejenerasyonu üzerindeki erken ve geç nöroprotektif etkilerine bakıldı.

Deneyde kullanılan hayvanlara İntraperitoneal yoldan 30-40 mg/kg dozunda Tiopental Sodium (Pentotal sodium Abbott, İtalya) ile anestezi sağlandıktan sonra pron pozisyonda tespit edilerek operasyon sahası, Povidone İodine serub (MEDICA brush; %4 chlohexidine scrub, MEDICA BV, Hollanda) ile 10 dakika fırçalandı ve %10 povidone iodine solusyonu (POVİOD; Saba. Türkiye) ile dezenfekte edildi. Ayrıca ratlara operasyondan 30 dakika önce, profilaktik antibiyotik olarak tek doz 50 mg/kg Seftriakson (Rocephin flk Roche, İsviçre), intraperitoneal olarak verildi. Sol siyatik sinir cerrahi mikroskop kullanılarak orta gluteal bölgede biceps kası disseksiyonu yapılarak ortaya konuldu. Kanamalar bipolar koter yardımıyla kontrol altına alınarak iyi bir hemostaz sağlandı. Cerrahi mikroskop altında Kuyumcu forsepsi (Jeweler's forceps) kullanılarak sol siyatik sinirde 90 saniye basıya bağlı crush tipi hasar oluşturulduktan sonra kesitin çevresindeki kas dokusu 5.0 ipek sütür kullanılarak işaretlendi. Crush

hasar sonrası yaklaşık 1 cm siyatik sinir doku örneği alınarak histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için eşit iki parçaya ayrılarak saklandı. Deney esnasında kullanılan hayvanların hiçbiri ölmedi.



Şekil 9; Rat siyatik sinirde crush hasar oluşturulması

Biyokimyasal değerlendirmeler Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalında, diğer histopatolojik değerlendirme Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalında yapıldı.

Histopatolojik inceleme için alınan doku örnekleri % 10'luk formaldehit içinde fikse edilerek saklanırken, biyokimyasal inceleme için alınan doku örnekleri, serum fizyolojik içeren ependorf tüpleri içinde -20 °C de çalışma zamanına kadar bekletildi ve işleme başlamadan hemen önce +4 °C de erimeye bırakıldı. Eridikten sonra cam tüplere konulan dokulara 1 gr doku 3 hacim (hacim/ağırlık) soğuk %1.15 M KCI eklendi. Dokular 16.000 devir/dakika hızda 3 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra enzim aktivite kaybı olmaması için örnekler buzdolabına yerleştirildi. Daha sonra bu dokular 14.000 x rpm'de +4 °C 45 dakika soğuk santrifüj edilmesi sonrasında oluşan

süpernatanlar endorf tüplere ayrıldı. Elde edilen bu süpernatanlardan Malondialdehit (MDA) düzeyi ile Katalaz (CAT) ve Süperoksit Dismutaz (SOD) enzim aktivite ölçümleri yapıldı.

3.5. SÜPEROKSİT DİSMUTAZ ENZİMİ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Süperoksit dismutaz, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin H₂O₂ ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Fridovich (62) yöntemi kullanılarak SOD düzeyi ölçüldü. Bu yöntem, ksantin ve ksantin oksidaz (XO) kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin, p-iyodonitrotetrazolium viyole (INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazan boyasının 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansite (OD) 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. SOD spesifik aktivitesi Ü/mg protein birimlerinde ölçüldü.

3.6. KATALAZ ENZİMİ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Katalaz enzim düzeyi tayininde Beuer (63) yöntemi kullanıldı. 230 nm dalga boyunda ölçüm yapılarak belirlendi.

3.7. MALONDİALDEHİT DÜZEYİNİN TAYİNİ

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.

3.8. IŞIK MİKROSKOBİSİ YÖNTEMLERİ

Siyatik sinir dokusundan alınan örneklerin histopatolojik incelenmesi için, doku kesitleri % 10'luk formaldehit içinde fikse edilerek Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalı laboratuvarına gönderildi. Rutin

işlemler sonrasında doku kesitleri Haris hematoksilin-eosin boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda önce (x40) daha sonra (x100), (x200) ve (x400) büyütme yapılarak değerlendirildi. Mikroskop altında dokuların resimleri çekildi.

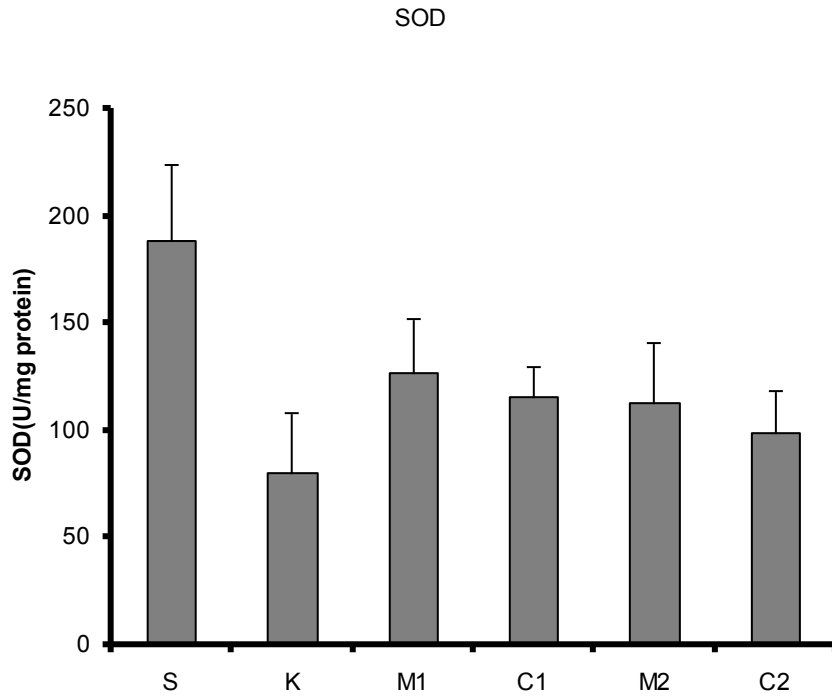
3.9. İSTATİSTİK

İstatistiksel analizin yapılmasında bilgisayar programı olarak Windows uyumlu SPSS 9.05 kullanıldı. Sayısal değişkenler ortalama \pm standart sapma şeklinde sunuldu. Biyokimyasal verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sırasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Bu değerlendirmede $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1. SOD AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLER

Bu çalışmada alınan Siyatik sinir dokularında ortalama SOD değerleri hesaplandığında en düşük SOD değerinin Kontrol grubunda (80,3 U/mg protein) olduğu en yüksek değer ise Sham grubunda (188,3 U/mg protein) olduğu tespit edildi.



Şekil 10: Gruplarda SOD aktivitesi ölçümü (U/mg protein)

**Tedavi gruplarından Mannitol 1. saat(M1), Mannitol 24. saat(M2) ve C vitamini 1. saat(C1) gruplarında ve Sham(S) grubunda, Kontrol(K) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ölçüldü ($p<0.05$).

1-Mannitol 1.saat grubu(M1) ile Kontrol grubu(K) SOD seviyesi karşılaştırıldı; M1 grubunda Kontrol grubuna(K) göre daha yüksek, istatistik olarak ta bu fark anlamlı kabul edilmiştir (p=0,02). M1 grubu ile Sham(S) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü(p=0,529). M1 grubu ile M2 grubu SOD seviyesi karşılaştırıldığında, M1 grubunda daha yüksek olduğu istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (P=0,01).

2- C vitamini 1. saat grubu(C1) ve Kontrol(K) grubu SOD değerleri karşılaştırıldı. C1 grubunda anlamlı olarak yüksek ölçüldü (p=0,03). C1 grubu ve C2 grubu SOD değerleri açısından karşılaştırdı. İstatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü (P=0,82).

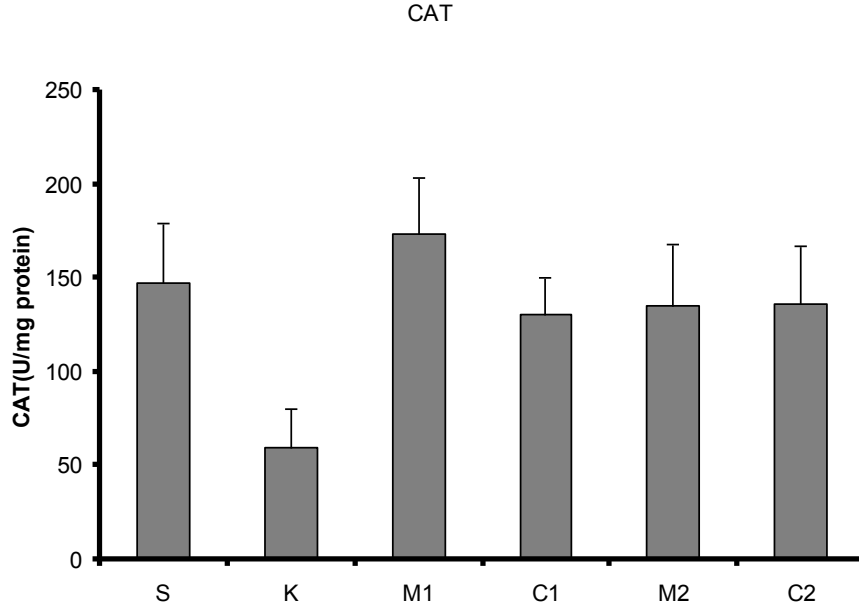
3- Mannitol 24.saat grubu(M2) ile Kontrol grubu(K) SOD seviyesi karşılaştırıldı; M2 grubunda Kontrol grubuna göre daha yüksek, istatistik olarak ta bu fark anlamlı kabul edilmiştir (p=0,00). M2 grubu ile Sham(S) grubu karşılaştırıldığında, sham(S) grubunda daha yüksek olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (p=0,001).

4- C vitamini 24. saat grubu(C2) ve Kontrol(K) grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.161).

5- Sham grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek ölçülmüş, istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (p=0,021)

4.2. CAT AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLER

Bu çalışmada alınan Siyatik sinir dokularında ortalama CAT değerleri hesaplandığında en düşük CAT değerinin Kontrol grubunda (59,9 U/mg protein) olduğu en yüksek CAT değerinin ise Mannitol 1. saat(M1) grubunda (173,9 U/mg protein) olduğu tespit edildi.



Şekil 11: Gruplarda CAT aktivitesi ölçümü(U/mg protein)

**Bütün tedavi gruplarından (Mannitol 1. saat(M1), Mannitol 24. saat(M2), C vitamini 1. saat(C1) ve C vitamini 24.saat(C2)) ve Sham(S) grubunda, Kontrol(K) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ölçüldü ($p < 0.05$).

1- Mannitol 1.saat grubu(M1) ile Kontrol grubu(K) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,00$). M1 grubu ile Sham grubu arasındaki fark ta istatistiksel olarak anlamlı bulundu($0,019$). M1 grubu ve M2 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok ($p=0,734$).

2- C vitamini 1. saat grubu(C1) ve Kontrol grubu(K) CAT değerleri karşılaştırıldı. C1 grubunda anlamlı olarak yüksek ölçüldü ($p=0,00$). C1 grubu ve C2 grubu CAT değerleri açısından karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı fark yok ($P=0,834$).

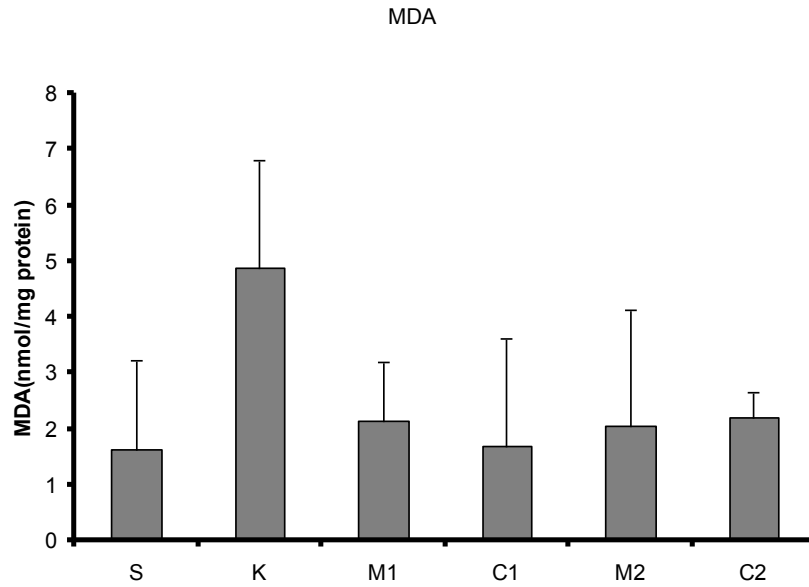
3- Mannitol 24.saat grubu(M2) ile Kontrol grubu(K) karşılaştırıldığında, M2 grubunda K grubuna göre daha yüksek ölçüldüğü ve istatistiksel olarak ta bu farkın anlamlı olduğu görüldü ($p=0,00$). M2 grubu ile S grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü($p=0,345$).

4- C vitamini 24. saat grubu(C2) ve Kontrol(K) grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,00).

5- Sham grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek ölçülmüş, istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (p=0,00).

4.3. MDA DEĞERLERİ ÜZERİNE ETKİLER

Bu çalışmada alınan Siyatik sinir dokularında ortalama MDA değerleri hesaplandığında en düşük MDA değerinin Sham grubunda (1,61 nmol/mg protein) olduğu en yüksek MDA değerinin ise Kontrol grubunda (4,87 nmol/mg protein) olduğu tespit edildi.



Şekil 12: Graplarda MDA miktarı ölçümü(nmol/mg protein)

**Bütün tedavi gruplarından (Mannitol 1. saat(M1), Mannitol 24. saat(M2), C vitamini 1. saat(C1) ve C vitamini 24.saat(C2)) ve Sham(S) grubunda, Kontrol(K) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük ölçüldü (p<0.05).

1- Mannitol 1.saat grubu(M1) ile Kontrol grubu(K) arasındaki fark MDA düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bulundu(0,02). M1 grubu ile Sham grubu arasında(p=0,345) ve M1 grubu ile M2 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p=0,059).

2- C vitamini 1. saat grubu(C1) ve Kontrol grubu(K) MDA değerleri karşılaştırıldı. C1 grubunda anlamlı olarak yüksek ölçüldü (p=0,01). C1 grubu ve C2 grubu MDA değerleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p=0,130).

3- Mannitol 24.saat grubu(M2) ile Kontrol grubu(K) karşılaştırıldığında, M2 grubunda K grubuna göre daha yüksek ölçüldüğü ve istatistiksel olarak ta bu farkın anlamlı olduğu görüldü (p=0,00). M2 grubu ile S grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (p=0,096).

4- C vitamini 24. saat grubu(C2) ve Kontrol(K) grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.01).

5- Sham grubunda kontrol grubuna göre daha düşük ölçülmüş, istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (p=0,01).

4.4. GRUPLARDAKİ ORTALAMA DEĞERLER

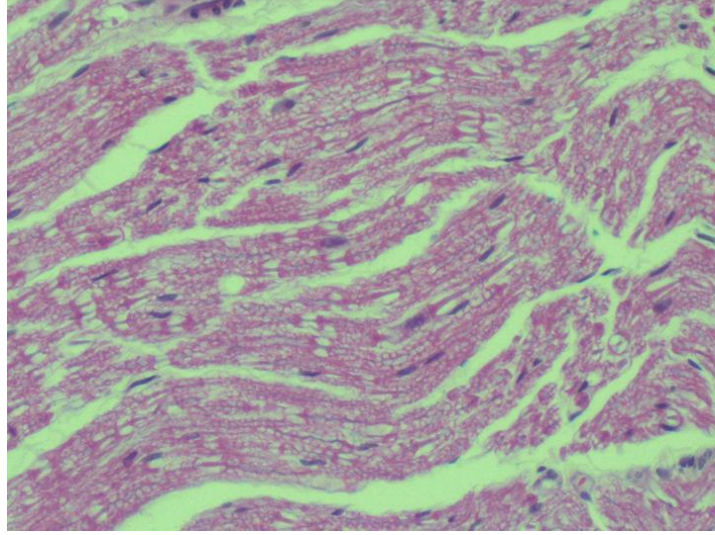
Aşağıdaki tabloda kontrol, sham ve deney gruplarının MDA düzeylerinin ortalama değerleri ile SOD ve CAT enzim aktivitelerinin gruplardaki ortalama değerleri görülmektedir.

GRUPLAR	MDA (nmol/mg)	SOD (U/mgprotein)	CAT (U/mgprotein)
Sham	1,16	188,2	147,1
Kontrol	4,87	80,3	59,9
Grubu 3 (M1)	2,14	127,1	173,9
Grubu 4 (C1)	1,68	116,09	130,4
Grubu 5 (M2)	2,06	113,1	135,2
Grubu 6 (C2)	2,19	99	136,2

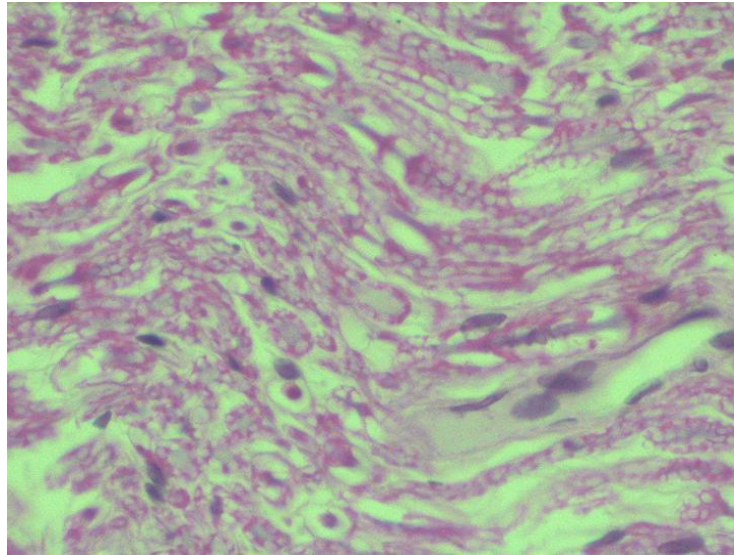
Tablo 1: Çalışmada kullanılan gruplardaki ortalama değerler

4.4. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME BULGULARI

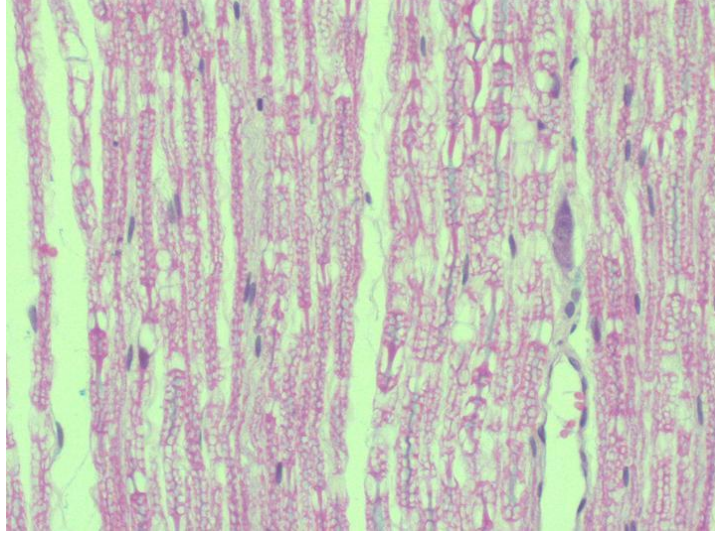
Dokuların histopatolojik incelemeleri elektron mikroskopisi olmaması sebebiyle doku kesitleri hazırlanarak sadece ışık mikroskopik inceleme yapılmıştır. İlaç verilen gruplar, kontrol grubu ve sham grubundan alınan doku kesitleri, kendi aralarında karşılaştırmaları yapıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir ($p > 0.05$).



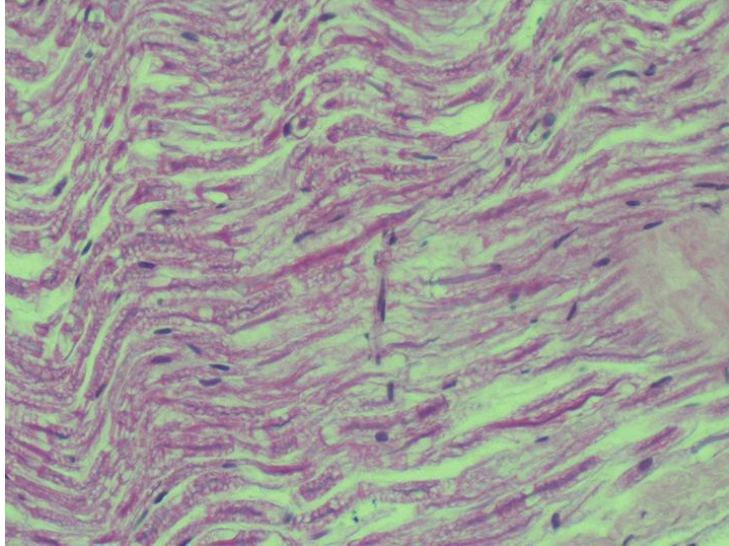
Şekil13; Sham grubu (Sinir hasarı oluşturulmayan grup) doku kesiti (Hemotoksilen Eozin (HEx40))



Şekil 14; Kontrol grubu (sadece crush hasar oluşturuldu) doku kesiti (HEx100)



Şekil 15; Mannitol crush hasar sonrası 24. saat doku kesiti (HEx100)



Şekil 16; C vitamini Crush hasar sonrası 24. saat doku kesiti (HEx100)

5. TARTIŞMA

Periferik sinir hasarı günümüzde sık karşılaşılan önemli sağlık sorunlarından bir tanesidir. Trafik kazaları, bireye bağlı düşmeler, inşaat kazaları, tabii afetler ve bunun gibi daha birçok olay klinik olarak periferik sinir hasarı yapmakta ve sinir dokusu üzerinde crush (ezilme) tipi hasarlar oluşmasına sebep olmaktadır. Genelde lezyonun klinik tablosu sinirin lokalize olduğu bölgeye, ezilme oluşturan basınca ve bu basıncın oluşturduğu şiddet etkisine, ve ezilme oluşturan basıncın etki süresine bağlıdır (23).

Ezilme tipi hasarlanma sonrasında sinirsel elemanların tamamen ayrılması veya kopması söz konusu değildir. Hasarlanma sonrasında oluşan klinik tabloya, mekanik ezilme ve iskemi olmak üzere iki mekanizmanın, primer etken olabileceği kabul edilmektedir. Bununla birlikte sinir hasarının oluşumunda, hangi mekanizmanın daha önemli olduğu tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (1,2). İlk olarak doku düzeyinde mekanik olarak etki görülmekte, kompresyon yapan cisim etrafından doku normal anatomik duruşunu bırakması sonucu duyu ve motor iletim üzerinde aksaklıklar oluşmaktadır. Ezilme tipi hasarın ikincil etkisini dokuda azalan kan ve doku sıvısına bağlı olarak mikrovasküler hasar olarak görmekteyiz. Mikrosirkülasyonun azalması için kompresyon süresinin uzun olmasına gerek olmadığı düşük şiddetlerde bile kesildiği belirtilmiştir (18,19). Yapılan çalışmalar, kısa süreli ezilme tipi yaralanmalarda, iskeminin fizyolojik iletim bloğuna neden olduğunu göstermiştir. Kısa süreli iskeminin, sinir iletim bloğunu nasıl oluşturduğu açık değildir. Bununla birlikte, büyük çaplı miyelinli liflerin, küçük çaplılara oranla daha fazla iskemik etkiye uğradığı gösterilmiştir. Kısa süreli iskemide, histolojik değişiklikler genellikle geri dönüşümlüdür. Şiddetli iskemik hasara uğramış sinirde, genellikle fonksiyonun kaybolabileceği ve tam bir iyileşmenin oluşmayabileceği kabul edilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, ezilme tipi yaralanmalarda mekanik deformasyonun etkilerinin daha ön planda olduğu görüşü ön plana çıkmıştır (1,2).

Crush tipi hasar; mekanik iletim bloğu oluşturur ki bu durumda sinirin inerve ettiği kas üzerinde de atrofiye neden olacaktır, öte yandan oluşan iskemi ve iskemi sonrası kanın tekrar o bölgeye göllenmesiyle reperfüzyon oluşur ki bu durumda serbest oksijen radikalleri meydana gelmektedir. İskemik ve mekanik etkilerin toplam etkisi her birinin tek başına oluşturduğu etkiden daha fazla hasar oluşturmaktadır (37).

Periferik sinir yaralanmaları hayati tehlike arz etmemelerine rağmen sonuçta kişinin fonksiyonlarını ileri derecede sınırlaması, sosyoekonomik ve psikolojik durumunu etkilemesi açısından dikkate değerdir. Periferik sinir yaralanmalarından sonra istenilen amaç sinir iyileşmesinin (fonksiyonun geri dönüşü) en kısa sürede sağlanmasıdır (37).

Deneyde sıçan kullanılmasının ana sebepleri öncelikle bilimsel olarak taksonomide memeliler sınıfında olması ve insana genetik ve moleküler açıdan birçok protein benzerliğinin bulunması, vücut olarak küçük olması yani fazla yer kaplamaması böylece rahat müdahale edilebilmesi, bütçe olarak masraflı olmayıp kolay üretilen ve elde edilebilen olması şeklinde sıralanabilir.

Bu çalışmamızda antioksidan özelliğe sahip oldukları gösterilen C vitamini ve mannitolun bir periferik sinir olan siyatik sinir üzerinde nöroprotektif etkilerini göstermeyi amaçladık.

Şenoğlu ve ark rat siyatik siniri üzerine crush hasarı sonrası intraperitoneal Alfa Lipoik asid (a-LA) vererek yapmış oldukları çalışmada, antioksidan özelliğe sahip olan a-LA verilen çalışma grublarında, antioksidan mekanizmanın önemli enzimleri olan SOD ve CAT enzim aktivite düzeylerinin arttığı, lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyinin azaldığını göstermişlerdir. Bu durum a-LA 'din rat siyatik siniri üzerindeki oksidatif stresi düşürerek nöroprotektif etki oluşturduğunu göstermektedir (64).

Vitamin C (askorbik asit) organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar ve kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Lizinden karnitin sentezinde rol alır. Bu maddenin organizma için önemi; indirgeyici gücünün yüksek olmasındandır; dokularda, dehidroaskorbik aside dönüşerek, molekül başına iki hidrojen atomunu serbest bırakır. Bu ise organizmanın hidroksilasyon reaksiyonlarında, indirgeyici rol oynar. Örneğin kollajen sentezinde, prolinden hidroksi prolin sentezini sağlar (56). İmmünite ve yara iyileşmesinde etkili olduğu gösterilmiştir. Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Kuvvetli antioksidan olduğundan (56), süperoksit, hidroksil radikalleri ve singlet oksijenle reaksiyona girerek, onları etkisiz kılar. Süperoksit radikali (O_2^-) ve hidroksil radikali ($OH\bullet$) ile reaksiyona girerek onları ortamdaki temizler (41). Askorbik asit proteine bağlı ferri

demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan ferri demiri indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye ve sonunda hidroksil radikali (OH •) oluşturmaya uygun ferro demire dönüştürür. Aynı zamanda demirin emiliminde enzimatik olmayan bir yol ile indirgeyici olarak rol oynar, midede ferri demiri ferro demire indirger (45,56). Bu özelliğinden dolayı vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalisti veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği kaydedilmiştir (41,56). Sulu fazda olmasına rağmen, lipid peroksidasyon başlatıcı radikalleri yok ederek membranları oksidan hasarına karşı korur. Bazı çalışmalar, radyasyon hasarında ortaya çıkan serbest radikalleri bağlayarak, koruyucu etki yaptığını göstermiştir (57). Ayrıca, tokoferoksilin α -tokoferole dönüşümünü sağlayarak, endojen E vitamini rejenerasyonunda da rol oynar. Böylece E vitamini ile birlikte, düşük dansiteli lipoprotein(LDL)' i oksidasyon hasarına karşı korur (41,58).

Kimyasal olarak, mannitol, bir alkol, şeker veya polioldür. Ama asidik sulu çözeltilerde bir hidrojen iyonunu kaybetme eğilimine sahiptir. Bu sebeple, pH'sını ayarlamak için sodyum bikarbonat gibi bir madde çözeltiliye eklenebilir (60). Bir şeker alkolü olan mannitol aynı zamanda aktif oksijen türlerinin savurucusu olarak da görev yapabilir. Lipit peroksidasyonu ve hücre hasarını önlerler (61). Birçok organizmada bulunan şeker alkollerinin (mannitol vb) bakteri, maya, mantar, yüksek bitkiler ve memelileri strese korudukları gösterilmiştir. Bu etkilerini osmoprotektan olarak görev yaptıkları su benzeri OH grupları ile makromoleküller etrafında yapay hidrasyon küresi oluşturmaları ve düşük osmatik potansiyel koşullar altında metabolik inaktivasyonu önledikleri içindir.

Mannitol çoğunlukla hücre içine ve dışına suyun hareketini sağlayan bir osmolit olarak kullanılsa da Hohle ve ark. tarafından yapılan denemelerde simplastik yolla hücre içine girmediği ve metabolizmaya katılmadığını göstermişlerdir (65). Ayrıca Steinitz ve ark tarafından yapılan invitro çalışmalarda şeker alkollerinin bir metabolit olarak görev yapabileceği, kimyasal sinyaller yoluyla moleküler fizyolojik süreçleri değiştirebilecekleri, bazı durumlarda da kimyasal ve osmotik strese karşı enzimleri ve diğer molekülleri koruyabilecekleri gösterilmiştir (66).

Pharr ve ark. bitkiler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, bitkilerin düşük su potansiyeline maruz kaldıkları zaman mannitol birikimini arttırdıkları ve bu mannitol birikiminin stresin inhibisyonuna sebep olduğunu göstermişlerdir (67).

Buxton ve ark. mannitolün prolinden dört kat daha yüksek oranda OH radikaliyle reaksiyona girdiğini göstermişlerdir. Stres esnasında radikal üretimi artar ve bunun sonucu poliollerin birikimi proteinlerin oksidatif hasara karşı koruyucu etkilerini sağlamlaştırır (68). Mannitolün antioksidan etkiyi solut hipotezine uygun olarak, oksijen radikalleriyle difüzyon bağ kurduğu düşünülse, serbest radikalleri temizleme mekanizması tam olarak anlaşılammıştır. Li ve ark tarafından yapılan çalışmada, 10mm' küçük hava kirletici partiküllerin serbest hidroksil radikalleri ürettiği ve süperkoil DNA'yı etkilediği, mannitolün hidroksil radikalini temizleyerek antioksidan etkili olduğu göstermiştir (69). Mannitol aynı zamanda önemli bir besin tatlandırıcı olarakta kullanılmaktadır.

Yapılan araştırmalar neticesinde iskemi sonucu hücre sel permeabilite artmakta olup hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunda artmaya ve bu artışa bağlı olarak birçok proteaz enzimi aktivasyonuna reseptörlerin, membran proteinlerinin hasarına ya da ksantin oksidaz enzimi gibi serbest radikal üretim merkezi olan enzimlerin aktiflenmesine (45,46). İskemik hasar yüksek düzeyde radikal oluşumunu aslında katalizlememektedir. Serbest radikallerin bu kadar artmasının asıl nedeni iskemik durum değildir azalmış oksijen seviyesinin reperfüzyon oluşmasıyla birlikte ani artışıdır (45).

Dokularda yaralanma sonrası ortamda meydana gelen enflamatuvar reaksiyonlara bağlı olarak, çok miktarda superoksit anyonlarının ortaya çıktığı ve bu anyonların özellikle mitokondriyonlar başta olmak üzere, hücre sel yapılar üzerinde dejeneratif etkilere neden oldukları rapor edilmiştir. Superoksit dismutaz, doğal antioksidan savunma sisteminde yer alan ve superoksit anyonların ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlayan enzimlerden birisidir (45). Çalışmamızda siyatik sinir yaralanması sonrası SOD aktivitesinin, kontrol grubunda belirgin olarak azaldığı, mannitol ve C vitamini gibi tedavi grubunda SOD aktivitesinin anlamlı olarak arttığı dikkati çekmektedir. Sinir yaralanması sonucunda ortamda meydana gelen enflamatuvar reaksiyonlara bağlı olarak superoksit anyonların artış göstermesi, buna bağlı olarak membranların zarar görmesi sonucu SOD aktivitesinin azalması, serbest oksijen radikallerinin oksidatif hasarlarını arttıracaktır. Nitekim mannitol ve C vitamini

gruplarında, SOD aktivitesinin deney kontrol grubuna göre artış göstermesi, mannitol ve C vitamininin antioksidan etkisinin bir sonucu olarak değerlendirilebilir.

Katalaz (CAT) aerobik hücrelerin çoğunda bulunmakta ve bir serbest radikal olan hidrojen peroksidi oksijene ve suya parçalamaktır. Katalazın indirgeyici aktivitesi, hidrojen peroksit ve metil etil hidroperoksitler gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerini ise etkilemez (45,50). Çalışmamızda siyatik sinir yaralanması sonrası CAT aktivitesinin, kontrol grubunda belirgin olarak azaldığı, mannitol ve C vitamini gibi tedavi grubunda CAT aktivitesinin anlamlı olarak arttığı dikkati çekmektedir. Nitekim mannitol ve C vitamini gruplarında, SOD aktivitesinin deney kontrol grubuna göre artış göstermesi, mannitol ve C vitamininin antioksidan etkisinin bir sonucu olarak değerlendirilebilir.

Lipid peroksidasyonu kimyasal bir olaydır ve serbest radikaller tarafından başlatılır. Zarların lipid yapısındaki değişiklikler nedeniyle fonksiyonların bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenlerine etkisi, son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden oldukları düşünülmektedir. Lipid peroksidasyonu çok toksik bir zincir reaksiyonudur. Kendiliğinden ilerleyen zincir reaksiyonu olması nedeniyle önemlidir. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehitlere diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Dolayısıyla doku hasarına ve pekçok hastalığa sebep olur (45,49). Lipid hidroperoksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşurlar. Bu bileşikler, hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki eski alanlarından difüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayabilirler. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu, malondialdehid (MDA) oluşturur (46,51). MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik veya kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesine bağlı bir ilişki gösterir (45,47). Peroksidasyonla oluşan MDA, membran bileşenlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar (3,4,45,47).

Hücre olumsuz şartlara adaptasyon eğilimindedir ki bu süreç içinde ani bir oksijen artışı hücre içi bir çok sistemde oksidasyonu artıracığından oluşan ürünler ve

substratlar arasındaki düzensiz korelasyon radikal üretimini tetikleyecek, oluşan radikaller ise ilk hedef olarak lipidlere saldıracaktır. Böylece lipid peroksidasyonu artacaktır. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünlerden biride MDA'dır (3,4,45,50). Sinir sistemi ise lipitten oldukça zengindir. Sfingomyelin lipidler içeren sinirler işte bu ezilme tipi sinir hasarında iskemi-reperfüzyon hasarına maruz kaldığı için esas olarak hasara uğramaktadırlar (3,45,48). Bizde bu çalışmamızda bu hasarı göstermek ve kullandığımız maddelerin hasara karşı koruyucu etkisini araştırmak için sıyatik sinir dokusunda MDA düzeylerini çalıştık. Mannitol ve C vitamini verilen bütün ilaç gruplarında (grup 3, grup 4, grup 5, grup 6) kontrol grubuna göre MDA seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) olacak şekilde azalması ve sinir liflerinin yapılarının nisbeten korunmuş olması bu görüşümüzü destekler niteliktedir.

Sonuç olarak C vitamini veya mannitol kullanımının periferik sinirlerde hasar sonrası oluşan oksidatif stresi önleyerek erken ve geç dönemde nöroprotektif etkiler gösterdiği, mannitolün geç dönem nöroprotektif etkisinin daha fazla olabileceği gösterildi. Fakat geniş kapsamlı, daha farklı doz ve sürelerde çalışılmasının daha verimli olabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR

- 1- Grup 3 ve grup 5'te, SOD ve CAT aktivitesi bakımından kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$). Grup 3 ve grup 5' in kendi aralarında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$). Mannitol çalışma gruplarında SOD ve CAT aktivitesi düzeylerinin kontrol grubuna göre erken ve geç dönemde anlamlı olarak yüksek ölçülmesi sebebiyle, mannitolün siyatik sinir crush hasarı üzerine nöroprotektif etkisinin olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).
- 2- Siyatik sinir hasarında mannitol ve C vitamininin koruyucu etkisinin olabileceği gözlemlenmiştir. C vitamini grubunda Grup 4 ve grup 6'da MDA düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Siyatik sinir hasarında C vitamininin koruyucu etkisi olabileceği görülmüştür ($p<0.05$).
- 3- Sonuçta C vitamini veya mannitol kullanımının periferik sinirlerde hasar sonrası oluşan oksidatif stresi önlemede erken ve geç dönemde yararlı olduğu, mannitolün geç dönem nöroprotektif etkisinin daha fazla olabileceği tesbit edildi. Fakat bununla beraber daha geniş kapsamlı, daha farklı doz ve sürelerde çalışılmasının daha verimli olabileceği kanaatine varıldı.

7.KAYNAKLAR

1. Robinson LR. Traumatic injury to peripheral nerves. *Muscle & Nerve*, 2000;23:863-873.
2. Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus*, 2004;16 (5):1-7.
3. Lundborg G, Dahlin LB. Anatomy, function, and pathophysiology of peripheral nerves and nerve compression. *Hand Clin*, 1996;12(2):185-193
4. Schmelzer JD, Zochodne DW, Low PA. Ischemic and reperfusion injury of rat peripheral nerve. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989;86(5):1639-1642
5. Frostick SP, Yin Q and Kemp GJ. Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. *Microsurgery*, 1998;18:397-405.
6. Midha R, Munro CA., Dalton PD, Tator CH and Shoiched MS. Growth factor enhancement of peripheral nerve regeneration through a novel synthetic hydrogel tube. *J Neurosurg*, 2003;99:555-565.
7. Gravvanis AI, Tsoutsos DA, Tagaris GA, Papalois AE, Patralexis CG, Iconomou TG, Panayotou PN, and Ioannovich JD. Beneficial effect of nerve growth factor-7S on peripheral nerve regeneration through inside-out vein grafts: an experimental study. *Microsurgery*, 2004;24:408-415.
8. Pagnotta A, Tos P, Fornaro M, Gigante A, Geuna S, Battiston B. Neurotrophins and their receptors in early axonal regeneration along muscle-vein-combined grafts. *Microsurgery*, 2002;22:300-303.
9. Al-Bishri A, Dahlin L, Sunzel B and Rosenquist J. Systemic betamethasone accelerates functional recovery after a crush injury to rat sciatic nerve. *J Oral Maxillofac Surg*, 2005;63(7):973-977.
10. Melcangi RC, Cavarretta IT, Ballabio M, Leonelli E, Scheone A, Azcoitia I, Magnaghi V. Peripheral nerves: a target for the action of neuroactive steroids. *Brain Research*, 2005;48(2):328-338.

11. Hohl, M., Schoper, P. Water Relations of Growing Maize Coleoptils. *Plant Physiology*, 1991;95:716-722
12. Chandra Jagetia G, Rajanikant GK, Rao SK, Shrinath Baliga M. Alteration in the glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and lipid peroxidation by ascorbic acid in the skin of mice exposed to fractionated gamma radiation. *Clin Chim Acta* 2003;332:111-21.
13. Fahri Dere: Nöroanatomî Atlası, Nobel tıp kitabevi, cilt 3, 2000;176-181.
14. Fahri Dere: Anatomî Atlası ve Ders Kitabı, Nobel tıp kitabevi, 1999;408- 413.
15. Anne J. Moore and David W. Newell (Eds) *Peripheral and Cranial Nerve Injury: Neurosurgery, Principles and Practice*, 2003;557-562.
16. Ali Otlu, Sinir Sistemi Histolojisi ders notları, İnönü Üniversitesi tıp fakültesi yayınları, 1999;1-36
17. Fahri Dere, Nöroanatomî, 3.baskı Nobel tıp kitabevi 3. baskı, 2000;179-184.
18. Viktor Eroschenko. diFiore's Atlas of Hitology with Functional Correlations 10th edition, 2001;141-148
19. Ross MH, Pawlina W. *Histology: A text and atlas*. Baltimore, Philadelphia, 5th ed, Lippincott Williams & Wilkins, 2006;184-196.
20. Türk Nöroşirürji dergisi, TND yayın organı, 2005;3:196-197.
21. Salonen V. Roytta M. Peltonen J. The Effects of Nerve Transection on the Endoneurial Collagen Fibril Sheaths, *Acta Neuropathology (Berl)*, 1987;67:317-321.
22. Tessa Gordon, Olawale Sulaiman, and J. Gordon Boyd, Experimental strategies to promote functional recovery after peripheral nerve injuries, *Journal of the Peripheral Nervous System*, 2003;8:236–250.
23. Robinson LR. Traumatic injury to peripheral nerves. *Muscle & Nerve*, 2000;23:863–87.
24. Keith L. Moor, Arthur F. Dali, *Clinicall Orient Anatomy* 6th edition, 2003;254-261.

25. Richard S. Snell. Clinical Anatomy by Systems, Lippincott Williams & Wilkins, 1992;690-695.
26. Schmalbruch H. Fiber composition of the rat sciatic nerve. Anat Rec, 1986;215(1):71-81.
27. Gao S, Fei M, Cheng C, Yu X, Chen M, Shi S, Qin J, Guo Z, Shen A: Spatiotemporal Expression of PSD-95 and nNOS After Rat Sciatic Nerve Injury. Neurochem Res, 2008;33(6):1090-100.
28. Marc A. Suckow, Steven H. Weisbroth, The Laboratory rat. Third edition, 2005; 253.
29. Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology: Text and Atlas. 9th ed, New York, Lange McGraw-Hill, 2003;152-179.
30. Erdal Karaöz. Temel Histoloji 2. baskı 2001;124-128.
31. Mirajullah M, Xinya S. Schwann cells: Leader of nervenkitt. J Ayub Med Coll Abbottabad, 2002;14 (1):30-33.
32. Makwana M, Raivich G. Molecular mechanisms in successful peripheral regeneration. FEBS Journal, 2005;272:2628-2638.
33. Guyton & Hall; Textbook of Medical Physiology. 9th edition, 1999;57-71.
34. William F. Ganong ; Review of Medical Physiology (Lange) Twenty-second edition, 2002;51-63.
35. Kemal Benli. Periferik Sinir Cerrahisinin Önemi, Türk Nöroşirürji Dergisi, 2005;15(3):196-197.
36. Zochodne DW. The microenvironment of injured and regenerating peripheral nerves. Muscle Nerve Supplement, 2000;9:33-38.
37. Stoll G, Müller HW. Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. Brain Pathology, 1999;9:313-325.
38. Sunderland S. Nerve Injuries and their Repair. A Critical Appraisal. Plastic & Reconstructive Surgery, 1992; 6(89):1170.

39. Durak I, Yurtaslanlı Z, Canpolat O, Akyol O. A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. Clin Chim Acta, 1993;214:103-104.
40. Quan D, Bird S. Nerve conduction studies and electromyography in the evaluation of peripheral nerve injuries. Orthopaedic Journal, 1999;12:45-51.
41. Stoll G, Jander S and Myers RR. Degeneration and regeneration of the peripheral nervous system: From Augustus Waller's observations to neuroinflammation. J Peripheral Nervous System, 2002;7:13- 27.
42. Hirata Kazuho and Kawabuchi Masaru. Myelin phagocytosis by macrophages and nonmacrophages during wallerian degeneration. Microscopy Research and Technique, 2002;57:541-547.
43. Fernandez E, Pallini R, Lauretti L, Scogna A. Neurosurgery of the peripheral nervous system: injuries, degeneration and regeneration of the peripheral nerves. Surg Neurol, 1997;48:446-447.
44. Anselin AD, Fink T, Davey DF. An alternative to nerve grafts in peripheral nerve repair: Nerve guides seeded with adult Schwann cells. Acta Chirurgica Austriaca, 1998;147:19-24.
45. Akkuş Ddi. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza yayınları, Konya, Türkiye, 1998;2-132.
46. I. Derya Yavaş, Mustafa Zengin, İslam Kaklıkaya. Serbest Oksijen Radikal Temizleyici Olarak Aprotinin'in Rolü (Deneysel Çalışma) , Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi, Temmuz 1994;3(2):208-215.
47. Dunder, Y. and R. Aslan; Hekimlikte oksidatif stress ve antioksidanlar. Uyum Ajans, Ankara, 2000;4-11.
48. Halliwell B, Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? Lance, 1994;721-724.
49. Anna Przerwa & Michał Zimecki; Effects of bacteriophages on free radical production and phagocytic functions, Med Microbiol Immunol, 2006;195:143–150

50. Y. Baykal, F. Kocabalkan; Serbest radikalleri ve hücre hasarı. Sendrom, 2000;9:31-36.
51. Ween Y, Killalea S, Mc Gettigan P, Feely J. Lipid peroxidation and antioxidant vitamins C and E in hipertensive patients. Lipid peroxidation and Hypertension, 1996;165(3):210-212.
52. İdris Akkuş, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Süleyman Demirel Üniversitesi, Türkiye, 2000;49-51.
53. Trush MA, Kensler TW: An overview of the relationship between oxidative stress and chemical carcinogenesis. Free Radic Biol Med, 1991;10:201-9.
54. Danh HC, Benedetti MS, Dostert P. Differential changes of SOD activity in brain and liver of old rats and mice J.Neurochem, 1983;40(4):1003-7.
55. Glaura SA Fernandes, Carla DB Fernandez; Vitamin C partially attenuates male reproductive deficits in hyperglycemic rats. Reproductive Biology and Endocrinology, 2011;9:100.
56. Ganesh Chandra Jagetia, Alteration in the glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and lipid peroxidation by ascorbic acid in the skin of mice exposed to fractionated g radiation, Clinica Chimica Acta, 2003;332:111– 121.
57. Seon Yeong Nam, Chul Koo Cho and Sang Geon Kim, Molecular and Cellular Pharmacology, Correlation of increased mortality with the suppression of radiation-inducible microsomal epoxide hydrolase and glutathione S-transferase gene expression by dexamethasone: effects on vitamin C and E-induced radioprotection, Biochemical Pharmacology, 1998;56(10):1295-1304.
58. A.L. Bhatia, Manish Jain, Amaranthus paniculatus (Linn.) improves learning after radiation stress, Journal of Ethnopharmacology, 2003;85:73–79.
59. Janusz Blasiak and Joanna Kowalik Protective action of vitamin C against DNA damage induced by selenium-cisplatin conjugate, Acta Bioch Polonica, 2001;48:233–240.
60. Tsai-Hsiu YANG. Wen-Yueh Ho. Mei-Fen S. Effects of Combination Treatment with Dexamethasone and Mannitol on Neuronal Damage and Survival in Experimental Heat Stroke, Biol. Pharm. Bull, 2010;33(9):1522-1528.

61. Johan M. H. Stoop and D. Mason Pharr, Mannitol Metabolism in Celery Stressed by Excess Macronutrients, *Plant Physiol.* 1994;106:503-511.
62. Fridovich I: Superoxide dismutase. *Adv Enzymol*, 1974;41:35-97.
63. Beutler E: Red Cell Metabolism. A manual of biochemical methods, Grune and Stratton Inc. New York, 1984;2:1-5.
64. Mehmet Şenoğlu, Vedat Nacitarhan, Ergül Belge Kurutaş, Nimet Şenoğlu; Intraperitoneal Alpha-Lipoic Acid to prevent neural damage after crush injury to the rat sciatic nerve, *Journal of Brachial Plexus and Peripheral Nerve Injury*, 2009;4(22):1-6
65. Michael Hohl and Peter Schopfer, Water Relations of Growing Maize Coleoptiles' Comparison between Mannitol and Polyethylene Glycol 6000 as External Osmotica for Adjusting Turgor Pressure, *Plant Physiol*, 1991;95:716-722.
66. Steinitz B. Sugar alcohols display nonosmotic roles in regulating morphogenesis and metabolism in plants that do not produce polyols as primary photosynthetic products. *J. Plant Physiology*, 1999;155:1-8.
67. Johan M.H. Stoop^a, John D. Williamson^b and D. Mason Pharr, Mannitol metabolism in plants: a method for coping with stress, *Trends in Plant Science*, 1996;1(5):139-144.
68. Buxton, G., Greenstock, C., Helman, W. ve Ross, A. Critical review of data constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals in aqueous solutions, *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 1988;17:513-886.
69. Dong Hee Lee, Young Sang Kim, and Chin Bum Lee, The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.), *J. Plant Physiology*, 2001;158(6): 737-745.

8.ŞEKİLLER VE TABLOLAR

Şekil 1; Periferik sinirin oluşumu (13)

Şekil 2; Periferik sinir anatomisi (22)

Şekil 3;Rat siyatik sinir anatomisi ve crush hasarın yapıldığı nokta (28)

Şekil 4; Miyelin kılıf ve oluşum basamakları ve ranvier boğumu (30)

Şekil 5; Sinir hücresinde impulsun iletim şekli (33)

Şekil 6; Aksiyon potansiyeli (33)

Şekil 7 ; Periferik sinir zedelenmesinin sınıflandırılması (40)

Şekil 8; Mannitol (60)

Şekil 9; Rat siyatik sinirnde crush hasar oluşturulması

Şekil 10 : Gruplarda SOD aktivitesi ölçümü (U/mg protein)

Şekil 11 : Gruplarda CAT aktivitesi ölçümü(U/mg protein)

Şekil 12 : Gruplarda MDA miktarı ölçümü(nmol/mg protein)

Şekil13; Sham grubu (Sinir hasarı oluşturulmayan grup) doku kesiti (Hemotoksilen Eozin (HE) x40)

Şekil 14; Kontrol grubu (sadece crush hasar oluşturuldu) doku kesiti (HE x100)

Şekil 15; Mannitol crush hasar sonrası 24. saat doku kesiti (HE x100)

Şekil 16; C vitamini Crush hasar sonrası 24. saat doku kesiti (HE x100)

Tablo 1: Çalışmada kullanılan gruplardaki ortalama değerler

9.KISALTMALAR

HE	: Hemotoksilen Eozin
HOCl	: Hipoklorik Asit
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
XO	: Ksantin Oksidaz
NO	: Nitrik Oksit
PAF	: Trombosit Aktive Edici Faktör
O ₂	: Oksijen
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
FAD	: Flavın Adenin Dinükleotit
HO ₂ [•]	: Perhidroksi Radikali
OHT	: Hidroksil Radikali
1O ₂	: Singlet Oksijen
NO [•]	: Nitrik Oksit Radikali
H [•]	: Hidrojen Radikali
RNA	: Ribonükleik Asit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
CAT	: Katalaz
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
ROO [•]	: Peroksil Radikalleri
NOS	: Nitrik Oksid Sentaz
FMN	: Flavın Mononükleotid
ETS	: Elektron Transport Sistemi
PGG	: Prostoglandin G
XDH	: Ksantin Dehidrogenaz
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asidi
L-O ₂ [•]	: Lipit Peroksil Radikali
MDA	: Malondialdehit
GSSG	: Okside Glutasyon
GSH	: Redükte Glutasyon
GR	: Glutasyon Redüktaz
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
OD	: Optik Dansite
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI


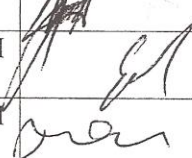
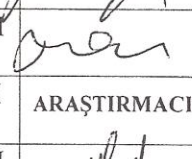
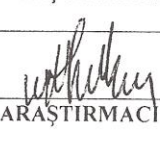
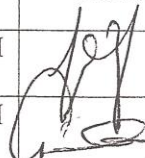

ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Başlığı	“Mannitol ve C Vitamininin Siyatik Sinir Crush Hasarı Üzerine Nöroprotektif Etkileri; Deneysel Rat Çalışması”
	Başvuru Tarihi	04.10.2010
	Protokol No	15

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Dili
	Başvuru Formu	Türkçe

KARAR BİLGİLERİ	Oturum No: 2010/5	Karar No: 4	Tarih: 12.10.2010
	Yrd.Doç.Dr.Mehmet ŞENOĞLU'nun sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan öğretim üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.		

ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	K.S.Ü. TIP FAKÜLTESİ TIBBİ ETİK KURUL İŞLEYİŞ YÖNERGESİ

ÜYELER						
Ünvanı /Adı/Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Doç. Dr. Yusuf ERGÜN Başkan	Tıbbi Farmakoloji	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Ertan BÜLBÜLOĞLU Üye	Genel Cerrahi	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN Üye	Biyokimya	K.S.Ü. Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Davut ÖZBAĞ Üye	Anatomi	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	ARAŞTIRMACI
Doç. Dr. Alptekin YASIM Üye	Kalp-Damar Cerrahisi	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Harun ÇIRALIK Üye	Patoloji	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	ARAŞTIRMACI
Doç. Dr. Mesut ÖZKAYA Üye	İç Hastalıkları End. ve Met. Hast.	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	İZİNLİ
Adem GÖKKAYA Üye	Diş Hekimi	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Erdal Haluk YOLAÇAN Üye	Avukat	K.S.Ü. Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
ŞERH (VARSA)						

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda bulunma