

TC
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE
ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

RATLARDA SİYATİK SİNİR İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
D VİTAMİNİNİN ETKİSİ
[DENEYSEL ÇALIŞMA]

DR. İNANÇ DOĞAN ÇİÇEK
UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

SİVAS-2019



TC

SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE

ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

RATLARDA SİYATİK SİNİR İYİLEŞMESİ ÜZERİNE

D VİTAMİNİNİN ETKİSİ

[DENEYSEL ÇALIŞMA]

DR. İNANÇ DOĞAN ÇİÇEK

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI

DR. ÖĞR. ÜYESİ HANDAN DEREBAŞINLIOĞLU

SIVAS-2019

ONAY SAYFASI

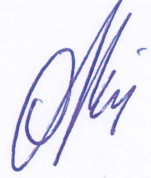
Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Neşe KURT ÖZKAYA



Üye: Doç. Dr. Osman AKDAĞ



Üye: Dr. Öğr. Üyesi Handan DEREBAŞINLIOĞLU



Bu tez 17/01/2019 tarih ve 2019-04/242 Sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İlhan ÇETİN

Tıp Fakültesi Dekanı



Tıpta Uzmanlık Tez Yazım Yönergesi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 10/02/2010 tarih ve 2010 / 1-2 sayılı kararı ile kabul edilerek yürürlüğe girmiştir. Bu tez bu yönetmelik hükümlerine göre yazılmıştır.

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince bilgi, beceri ve tecrübelerinden yaralandığım ve yetişmemde büyük katkıları olan değerli hocalarım Sn. Prof. Dr.Sarper YILMAZ, Sn. Dr.Öğr. Üyesi Neşe KURT ÖZKAYA, Sn. Dr. Öğr. Üyesi Handan DEREBAŞINLIOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bitirme tezimin hazırlanma aşamasında emeği geçen başta tez danışman hocam Sn. Dr. Öğretim Üyesi Handan DEREBAŞINLIOĞLU'na, saygıdeğer Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalında görevli Doç.Dr. Ayşe DEMİRKAZIK'a, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında görevli Prof.Dr.H. Reyhan EĞİLMEZ'e ve Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi İstatistik Sorumlusu Selim ÇAM'a,

Eğitim sürem boyunca beraber çalıştığım asistan arkadaşlarıma, plastik cerrahi kliniğimizin ve ameliyathanemizin değerli hemşire ve personeline,

Bugünlere gelmemde en büyük destekçilerim olan ve hayatım boyunca her zaman yanımda olan sevgili eşime, biricik kızıma ve anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. İnanç DOĞAN ÇİÇEK

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
KISALTMALAR	x
ÖZET.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER.....	3
1. Periferik Sinir Sistemi	3
1.1. PSS Emriyolojisi:	3
1.2. PSS Anatomi ve Histolojisi.....	4
1.3. Schwann Hücresi ve Miyelin Kılıf:.....	6
1.4. Periferik Sinirlerin Sınıflaması.....	7
1.5. Periferik Sinir Kılıfları	8
1.6. Periferik Sinirlerin Vasküler Yapısı:.....	9
1.7. Periferik Sinir Yaralanması	11
1.8. Periferik Sinir Dejenerasyonu ve Rejenerasyonu.....	14
1.8.1. Periferik Sinir Hücre Gövdesinde Meydana Gelen Değişiklikler. 15	
1.8.2. Proksimal Segmentte Meydana Gelen Değişiklikler	15
1.8.3. Distal Segmentte Meydana Gelen Değişiklikler	16
2. Nörotrofik Faktörler	17
3. Periferik Sinir Onarımı	17
3.1. Periferik Sinir Onarım Teknikleri	18
3.1.1. Uç-uca sinir onarımı:.....	18
3.1.1.1. Epinöral onarım:.....	18
3.1.1.2. Perinöral onarım:.....	19
3.1.1.3. Grup fasiküler onarım	20
3.1.2.Uç-yan sinir onarımı	20
3.1.3. Sinir Greftleme	21
4. D Vitamini	21

4.1. D Vitamini Kaynakları	21
4.2. D Vitamini Metabolizması	22
4.3. D Vitamini Reseptörleri:	24
4.4. D Vitamininin Fonksiyonları:	24
4.5. D Vitamini Eksikliği:	24
5. Sinir Aksiyon Potansiyeli:	25
6. Sinir İletimini Etkileyen Faktörler:	26
7. Ağrı:.....	27
7.1.Ağrının Sınıflaması	28
7.1.1.Ağrının başlama süresine göre sınıflaması;	28
7.1.2.Mekanizmalarına göre ağrı sınıflaması;.....	28
7.1.3.Kaynaklandığı bölgeye göre ağrı sınıflaması;.....	28
7.2.Ağrı Yolakları	28
7.2.1.Nosiseptif çıkıcı yolaklar	28
7.2.2.Antinosiseptif inisi yolaklar:.....	29
7.3. Ağrı ölçüm modelleri	30
7.3.1.Termal uyarı kullanılan testler:	30
7.3.2.Mekanik uyarı kullanılan testler:.....	30
7.3.3.Elektriksel uyarı kullanılan testler:	30
7.3.4.Kronik ağrı ölçüm modelleri:.....	30
7.4. Hot Plate Testi	30
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1.Kullanılan Hayvanlar	32
3.2.Hayvanların Barınma Ve Bakım Koşulları	32
3.3.Kullanılan Anestezik Ajanlar	32
3.4.Çalışma Modeli	32
3.5.Hayvanların Gruplandırılması Ve Cerrahi Yöntem:	35
3.6.Klinik Takip Ve Değerlendirme.....	36
3.7.Elektrofizyolojik Değerlendirme.....	36
3.8.Fonksiyonel Değerlendirme	37
3.9.Histopatolojik Değerlendirme	38

4.BULGULAR	41
4.1.Elektrofizyolojik Değerlendirme Bulguları.....	41
4.2.Fonksiyonel Değerlendirme Bulguları	49
4.3.Histopatolojik Değerlendirme Bulguları	50
5.TARTIŞMA	61
6.SONUÇ	70
7.KAYNAKLAR	71
8. ÖZGEÇMİŞ	90
EKLER	91
Ek-1. Etik Kurul Kararı	91



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil.1. Medulla spinalisteki periferik sinirlerin duyu ve motor köklerinin şematik görünümü	3
Şekil.2. A.Sinir Hücresinin Şematik Görünümü B. Akson Kesitinin Şematik Görünümü	4
Şekil.3. Sinir sisteminin bazı nöron tipleri	5
Şekil.4. Miyelinli periferik sinir lifinin kesitleri	7
Şekil .5. Periferik sinir kılıfları	9
Şekil.6. Periferik sinirin mikrovasküler dolaşımı	10
Şekil.7. Akson Dejenerasyonu	14
Şekil.8. Epinöral Onarım	19
Şekil .9. D ₂ ve D ₃ vitamini	22
Şekil.10. D vitamini metabolizması	23
Şekil.11. Aksyon Potansiyeli	26
Şekil.12.Ağrı Yolakları ,A: Çıkan ağrı yolları,B: İnen ağrı yolları	29
Şekil.13.Cerrahi öncesi hazırlık.....	33
Şekil.14. Siyatik sinirin ortaya konulması	33
Şekil.15.Siyatik sinirin kesilip sonrasında primer onarımın yapılması sonrası mikroskop altında görünümü.....	34
Şekil.16. Siyatik sinirde vasküler klemp ile ezilme yaralanması oluşturulmasının mikroskop altında görünümü.....	34
Şekil.17.Elektrofizyolojik değerlendirmenin yapıldığı amplifikatör, stimülatör ve platin prob.....	37
Şekil.18. Hot Plate cihazı.....	38
Şekil.19. Aksiyon potansiyeli ölçümü, ADİNSTRUMENTES Lab Chart 7 programı	41
Şekil.20. İşlem Öncesi İyileşme Sonrası ve PSO-SSEY Gruplarında Δ PP (mV) Dağılımı	43
Şekil.21. İşlem Öncesi-İyileşme Sonrası ve PSO-SSEY Gruplarında Δ DT (ms) Dağılımı	45
Şekil.22. İşlem Öncesi- İyileşme Sonrası ve PSO-SSEY Gruplarında Δ RT (ms) Dağılımı	46
Şekil.23. İşlem Öncesi- İyileşme Sonrası PSO-SSEY Gruplarında Δ DT (ms)+ Δ RT (ms) Dağılımı.....	48

Şekil.24. Hot Plate testi Ölçümlerinin Gruplara Göre Dağılımı.....	50
Şekil.25. PSO grubu- 12.haftada iyileşme sonrası mikroskopik görünümü.....	51
Şekil.26. PSO+D ₃ grubu- 12.haftada iyileşme sonrası mikroskopik görünümü.....	51
Şekil.27. SSEY+ D ₃ grubu- 12.haftada iyileşme sonrası mikroskopik görünümü.....	51
Şekil.28. Toluidin Blue ile boyama sonrası mikroskop altında mast hücrelerinin değerlendirilmesi (X400).....	52
Şekil.29. Masson Trikrom boyama sonrası mikroskop altında kollajen varlığının değerlendirilmesi (X400).....	52
Şekil.30. Hemotoksilen-Eozin ile boyama sonrası mikroskop altında köpük hücrelerin değerlendirilmesi (X400)	53
Şekil.31. Nöroflaman ile boyama sonrası mikroskop altında çap artışı gösteren aksonların %10 olarak dağılımı (X400)	53
Şekil.32. Nöroflaman ile boyama sonrası mikroskop altında çap artışı gösteren aksonların %10 -50 olarak dağılımı (X400).....	53
Şekil.33. Nöroflaman ile boyama sonrası mikroskop altında çap artışı gösteren aksonların %50 olarak dağılımı (X400)	54
Şekil.34. S-100 ile boyama sonrası mikroskop altında çap artışı gösteren Schwann hücrelerinin uniform olarak dağılımı (X400)	54
Şekil.35. S-100 ile boyama sonrası mikroskop altında çap artışı gösteren Schwann hücrelerinin %10 olarak dağılımı (X400).....	54
Şekil.36. S-100 ile boyama sonrası mikroskop altında çap artışı gösteren Schwann hücrelerinin %10-50 olarak dağılımı (X400)	55
Şekil.37. S-100 ile boyama sonrası mikroskop altında çap artışı gösteren Schwann hücrelerinin %50 olarak dağılımı (X400).....	55

TABLolar DİZİNİ

Tablo.1. Sunderland ve Seddon sınıflamaları	11
Tablo.2. İşlem Öncesi-İyileşme Sonrası PSO Gruplarında ΔPP (mV) Değerlendirmesi.....	41
Tablo.3. İşlem Öncesi -İyileşme Sonrası ve SSEY Gruplarında ΔPP (mV) Değerlendirmesi.....	42
Tablo.4. İşlem Öncesi- İyileşme Sonrası PSO Gruplarında ΔDT (ms) Değerlendirmesi.....	43
Tablo.5. İşlem Öncesi- İyileşme Sonrası SSEY Gruplarında ΔDT (ms) Değerlendirmesi.....	44
Tablo.6. İşlem Öncesi- İyileşme Sonrası PSO Gruplarında ΔRT (ms) Değerlendirmesi.....	45
Tablo.7. İşlem Öncesi- İyileşme Sonrası SSEY Gruplarında ΔRT (ms)Değerlendirmesi	46
Tablo.8. İşlem Öncesi-İyileşme Sonrası PSO Gruplarında ΔDT (ms)+ ΔRT (ms) Değerlendirmesi.....	47
Tablo.9. İşlem Öncesi-İyileşme Sonrası SSEY Gruplarında ΔDT (ms)+ ΔRT (ms) Değerlendirmesi.....	47
Tablo.10. Hot Plate Testi Ölçümlerinin Gruplara Göre Değerlendirmesi.....	49
Tablo.11. PSO ve PSO+D ₃ Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları Çapraz Tablosu ve Fark Analizi Sonuçları.....	55
Tablo.12. İntakt ve İntakt +D ₃ Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları Çapraz Tablosu ve Fark Analizi Sonuçları.....	56
Tablo .13. SSEY ve SSEY+D ₃ Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları Çapraz Tablosu ve Fark Analizi Sonuçları	57
Tablo.14. İntakt ve PSO Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları Çapraz Tablosu ve Fark Analizi Sonuçları	58
Tablo.15. İntakt ve SSEY Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları Çapraz Tablosu ve Fark Analizi Sonuçları.....	59
Tablo.16. İntakt+D ₃ ve PSO+ D ₃ Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları Çapraz Tablosu ve Fark Analizi Sonuçları	59
Tablo.17. İntakt+ D ₃ ve SSEY+ D ₃ Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları Çapraz Tablosu ve Fark Analizi Sonuçları	60

KISALTMALAR

PSS:	Periferik sinir sistemi
SSS:	Santral sinir sistemi
ACTH:	Adrenokortikotropik hormon
Na⁺:	Sodyum
μV:	Mikrovolt
BDNF:	Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
NGF:	Sinir büyüme faktörü
NT-3:	Nörotrofin-3
NT-4/5:	Nörotrofin-4/5
NT-6:	Nörotrofin-6
LIF:	Lösemi inhibitör faktör
CTNF:	Silier nörotrofik faktör
IL-6:	İnterlökin-6
VEGF:	Vasküler endotelial büyüme faktörü
PDGF:	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
GDNF:	Glia kaynaklı nörotrofik faktör
TNF:	Tümör nekroz faktör
FGF:	Fibroblast büyüme faktörü
TGF:	Transforme edici büyüme faktör
EGF:	E ndotelial büyüme faktörü
ILGF 1,2:	İnsülin benzeri büyüme faktörü
FGF 23:	Fibroblast büyüme faktörü
DVR:	D vitamini reseptörü
mV:	Milivolt
K⁺:	Potasyum
5-HT:	5-Hidroksitriptamin
m:	metre

sn:	Saniye
mg:	Miligram
kg:	Kilogram
mcg:	Mikrogram
PSO:	Primer sinir onarımı
SSEY:	Siyatik sinir ezilme yaralanması
AP:	Aksiyon potansiyeli
MPE:	Maximum possible effect
ΔPP:	Peak to peak-amplitüd
ms:	Milisanıye
ΔDT:	Depolarizasyon süresi
ΔRT:	Repolarizasyon süresi
iNOS:	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
nNOS:	Nöronal nitrik oksit sentaz
NO:	Nitrik oksit
Ca⁺⁺:	Kalsiyum
Cl⁻:	Klor
BAP:	Bileşik aksiyon potansiyeli
TLAP:	Tek lifli aksiyon potansiyeli
ng :	Nanogram
PTN:	Pleitropin

ÖZET

RATLARDA SİYATİK SİNİR İYİLEŞMESİ ÜZERİNE D VİTAMİNİNİN ETKİSİ

Dr. İnanç Doğan Çiçek, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Sivas, 2019

Periferik sinir yaralanmaları sonrası iyileşme süreci yavaş olup fonksiyonel geri kazanım ve duyuşal dönüş her zaman tatmin edici düzeylerde olmamaktadır. Fonksiyonel geri kazanımı elde etmek ve oluşan sekelleri azaltmak adına tedavi planlaması önemlidir. Cerrahi yöntemlerin gelişmesi ile uygun şekilde onarımlar yapılabilmektedir. Günümüzde cerrahi sonrası tedaviyi desteklemek için çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalardan yola çıkarak periferik sinir iyileşmesi üzerine D₃ vitamininin etkileri ortaya konulmaya çalışıldı.

Çalışmada 32 adet Wistar cinsi erkek rat kullanıldı. Hayvanların bir kısmında kesi sonrası primer onarım, diğerlerinde vasküler klemp ile ezilme tipi yaralanma oluşturuldu. Hasar öncesi tüm hayvanlara Hot Plate testi yapıp sonrasında elektrofizyolojik değerlendirme yapılarak aksiyon potansiyel parametreleri ölçüldü, bazal değerler hesaplandı. Hasar oluşturulan hayvan gruplarında kontrol grupları belirlendi ve 12 hafta süre ile bu gruplara ek işlem uygulanmadı. Hasar oluşturulan gruplara 1,3,5,7.günlerde 1mcg/kg dozunda intraperitoneal D₃ vitamini takviyesi yapıldı. 12 haftalık iyileşme sonrasında Hot Plate testi tekrarlandı, elektrofizyolojik ölçümler yapıldı. Histopatolojik değerlendirme için biyopsiler alındı, nöroma oluşumu, schwann hücreleri, aksonlar ve kollajen miktarı değerlendirildi.

Sonuç olarak, kesi onarımı sonrası D₃ vitamini takviyesinin myelinizasyonu ve aksiyon potansiyeli ortalamasını artırdığı gösterildi. Ancak D₃ vitamininin hem histolojik hem de elektrofizyolojik çalışmalarda ezilme tipi sinir yaralanmalarına olumsuz etkileri olduğu tesbit edildi. Ancak D₃ vitamininin sinir iyileşmesi üzerine doz ve süre bağımlı etkilerini göstermek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

ABSTRACT

EFFECT OF VİTAMİN D ON RAT SCIATIC NERVE HEALİNG

İnanç Doğan Çiçek Md, Cumhuriyet University, Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Sivas, 2019

The recovery process after peripheral nerve injuries is slow and functional recovery and sensory return are not always satisfactory. Treatment planning is very important to achieve functional recovery and reduce sequelae. With the development of surgical methods, repairs can be made appropriately. Today, there are many studies to support post-surgical treatment. Based on these studies, the effects of vitamin D₃ on peripheral nerve healing were tried to be revealed.

32 male Wistar rats were used in this study. Some animals were repaired primarily after incision in and crush injury with vascular clamp were created in others. Before the injury, all animals were subjected to Hot Plate test and then electrophysiological evaluation and action potential parameters were measured and basal values were calculated. The control groups were determined in the animals that were damaged and no additional treatment was applied to these groups for 12 weeks. The groups were treated with 1mcg / kg intraperitoneal vitamin D₃ on 1,3,5,7 days. After 12 weeks of recovery, the Hot Plate test was repeated and electrophysiological measurements were performed. Biopsies were taken for histopathological evaluation, neuroma formation, schwann cells, axons and collagen content were evaluated.

In conclusion, it was shown that vitamin D supplementation after incision repair increased the mean of myelination and action potential. However, vitamin D₃ had negative effects on crushed nerve injuries in both histological and electrophysiological studies. Further studies are needed to demonstrate dose- and time-dependent effects of vitamin D₃ on nerve healing.

GİRİŞ

Periferik sinir sistemi (PSS) kişinin dış ortam ile ilişki kurmasını ve uyumunu sağlayan bir sistemdir. PSS aracılığı ile ortamdaki uyarılar santral sinir sistemine (SSS) iletilir ve santral sinir sisteminde değerlendirildikten sonra uyarıya verilecek cevaplar ilgili organlara yine PSS aracılığı ile iletilir (1). Bu iletişimde meydana gelebilecek problemler kişinin yaşam kalitesini olumsuz olarak etkilemesinin yanı sıra psikolojik olarak sorunlara yol açabilir.

Travma, periferik sinir hasarlarının en sık nedeni olarak bilinmektedir (2). Bunun dışında iskemik olaylar, kanser, enfeksiyon, inflamasyon, cerrahi girişim, yanık, iyonize radyasyona bağlı olarak periferik sinirlerde hasara neden olabilmektedir (3). Yaralanma sonrası iyileşme tam olarak gerçekleşmeyebilir. Oluşabilecek olan anormal iyileşmeler; kronik ağrı ve fonksiyonel kayıplara neden olabilir.

Periferik sinir yaralanmaları sonrası görülen sekellerin hastanın yaşam kalitesinde meydana getireceği olumsuzluklar nedeniyle, tedavi planlaması daha iyi fonksiyonel geri kazanım elde etmek adına önemlidir. Bu nedenle kesik olan sinir uçlarının uygun mikrocerrahi tekniklerle doğru fasiküler dizilime göre, gerilimsiz olarak yapılan onarımlar tedavini temelini oluşturmaktadır (4,5).

PSS hasarı ve rejenerasyonun patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması, mikrocerrahi uygulamalarının yaygınlaşmasıyla birlikte tedavi açısından önemli ilerleme kaydedilmesine rağmen, sinir iyileşmesinde sağlanan başarı halen tatmin edici değildir.

Son zamanlarda uygun bir cerrahi onarımın yanı sıra iyileşmeyi destekleyici tedavi yöntemleride araştırma konusu olmuş ve bu amaçla büyüme faktörleri, steroid hormonlar, nörotrofik faktörler, ACTH (adrenokortikotropik hormon), eritropoetin, insülin benzeri peptidler ve bazı vitaminlerin sinir rejenerasyonu üzerine etkileri çalışılmıştır. Deneysel olarak birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen klinik kullanıma giren bir ajan mevcut değildir. Bu konuda da araştırmalar devam etmektedir (6-14).

SSS yaralanmaları, diabetes mellitus, multiple skleroz, amyotrofik lateral skleroz, , metabolik sendrom, gibi birçok hastalığın tedavisinde D vitamini bir çok kez çalışılmıştır (15-19). Ancak bu molekülün, periferik sinir iyileşmesi üzerine etkilerini gösteren çalışmalar sınırlı sayıda mevcuttur (20-22).

Yapılan bir çalışmada ratlarda periferik sinir kesisinin otograft ile onarıma oral olarak verilen D₂ vitamininin etkisi çalışılmıştır. Çalışma sonucunda D₂ vitamininin fonksiyonel iyileşmeyi desteklediği, aksogenezi ve akson çapını önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir (20).

Yine farklı bir çalışmada ratlarda periferik sinir kesisinin otograft ile onarıma oral olarak verilen D₂ ve D₃ vitamininin etkisi karşılaştırılmış olup, D₃ vitamininin D₂ vitaminine göre daha etkili olduğu ve yüksek dozda verildiğinde (500 IU/kg/gün) D₃ vitamininin lökomotor ve elektrofizyolojik iyileşme sağladığı, akson çapını ve sayısını artırdığı gösterilmiştir (21).

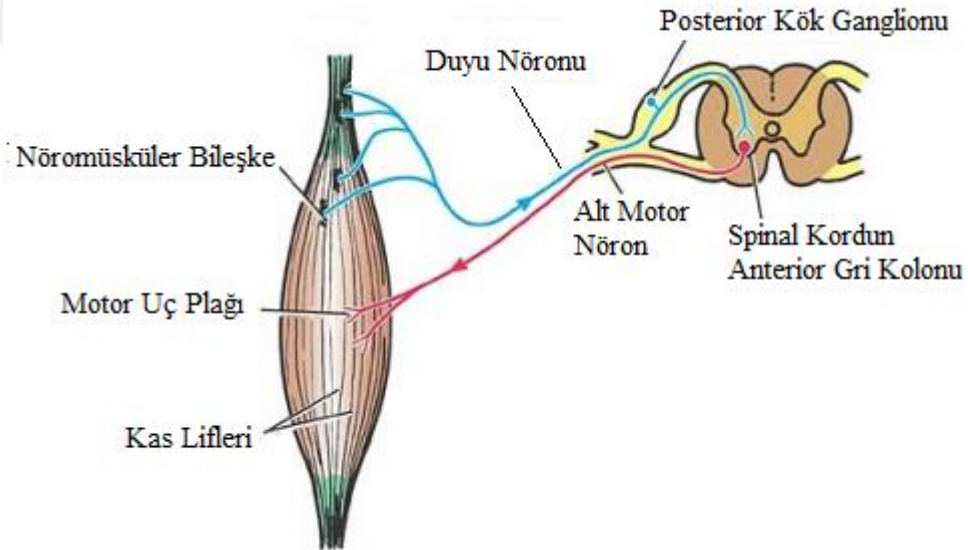
Montava ve arkadaşlarının 2014 yılında tavşan fasiyal sinir yaralanmasına D₃ vitamininin etkisi üzerine yaptıkları çalışmada haftalık 200 IU/kg/gün dozunda D₃ vitamini bolusu tedavisi verilmiş olup 12 haftalık tedaviden sonra fonksiyonel iyileşmeyi ve miyelinizasyonu önemli ölçüde artırdığını göstermişlerdir (22).

Çalışmamızda sinir kesisinin primer onarımı ve ezilme tipi yaralanmayı takiben D vitamininin periferik sinir iyileşmesine olan etkisini araştırdık. Periferik sinir iyileşmesinde D₂ vitaminine göre daha etkili olduğu gösterilmiş olan D₃ vitaminini (21) çalışmayı tercih ettik. Ratlarda hasar öncesi ve sonrasında tedavi sürecini takiben eletrofizyolojik değerlendirmeler yaptık. Ağrı değerlendirmesi için Hot-Plate testini kullandık. Ratları sakrifiye etmeden önce histopatolojik değerlendirme için siyatik sinir biyopsileri aldık. İntraperitoneal uygulamaların biyoyararlanımı daha iyi olduğu için bu yöntemi tercih ettik. Sinir kesisi sonrası primer onarım yapılan ve ezilme tipi sinir yaralanmasında D₃ vitamininin etkilerini tespit etmeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

1. Periferik Sinir Sistemi

Sinir sistemi beyin, beyin sapı ve omuriliğin yer aldığı SSS ve dış ortamla SSS arasındaki iki yönlü iletişimi sağlayan PSS olmak üzere iki ana bölüme ayrılır (23). Periferik sinirler motor, duyu ve otonom sinir liflerini içerirler. Hücreleri arka kök ganglionunda bulunan duysal spinal sinirler ile hücreleri ön boynuzda bulunan ve motor aksonlar tarafından oluşturulan motor sinirler PSS'yi oluştururlar. Afferent liflerle alınan duyu mesajları arka kök ganglionlarına oradan da arka boynuzda gelir ve motor iletiler omurilik ön boynuz hücrelerinden perifere iletilirler (24) (Şekil.1).



Şekil 1: Medulla spinalisteki periferik sinirlerin duyu ve motor köklerinin şematik görünümü (25).

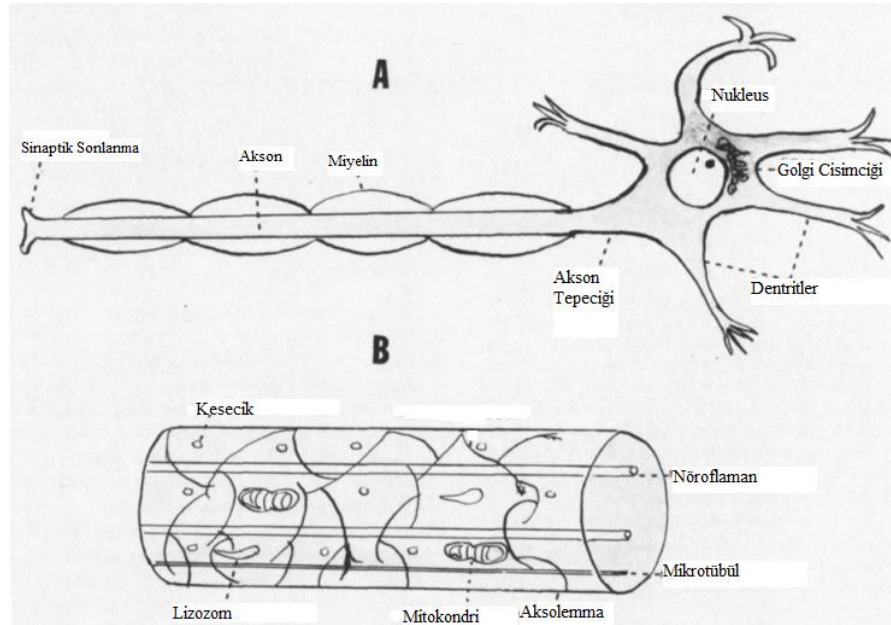
1.1. PSS Embriyolojisi:

Sinir sistemi embriyolojik olarak ektodermden köken alır, çevresindeki bağ dokusu ise mezodermden gelişmektedir. Bu gelişim esnasında ilk meydana gelen oluşum nöral plak olarak adlandırılır ve çok sıralı nöroepitel hücrelerinden oluşur. Emriyonun 18.gününde nöral plak kalınlaşarak nöral kristayı oluşturur ve bu oluşum mezoderm içersine göç eder. Daha sonra nöral krista ve çevre mezoderm dokusu orta çizgiye doğru kıvrılıp sulkus nöralisi oluştururlar. Sulkus nöralisin kenarları gelişimin 22. Gününde orta çizgi hizasında baş, kuyruk yönüne doğru birleşir ve kanalis nöralis

oluşur. Lümenin çevresinde çok sıralı dizilmiş olan tek tip nöroepitel hücreleri bulunur. Sonradan farklılaşan nöroepitel hücrelerinin bir bölümü nöroblastları diğer bölümü de glioblastları oluşturur. Nöroblastlarında farklılaşması ile sinir hücresi olan nöron oluşur. Schwann hücreleri ise nöral tomurcuktan köken alır. Fetal hayatın 4. ayından itibaren Schwann hücreleri tarafından yapılan miyelinizasyon başlar (26,27).

1.2. PSS Anatomi ve Histolojisi

Nöron hücresinin büyüklüğü çap olarak birkaç mikrometre ile 100 µm'nin üzerinde bir aralıkta değişim göstermektedir. Nöronların hücre gövdelerine 'perikaryon' veya 'soma' denir. Hücre gövdesi nöronun metabolik ve genetik merkezidir. Nöronun hücre gövdesinde nükleus, nükleolus ve protein sentezinden sorumlu Nissle cisimcikleri bulunur. Golgi cisimciği sinyal moleküllerini depolar, nörotansmitterlerin ve elektrik sinyallerini sinapsta dönüştürecek sinyal moleküllerinin sentezlenmesinde görev alarak elektriksel bilginin bir nörondan diğerine taşınmasına katkıda bulunur. Mitokondriler ise iyon pompa aktivitesi, membran potansiyelinin sürdürülmesi ve nöronların yüksek enerji ihtiyacını desteklemek için gereklidir (23) (Şekil.2.).



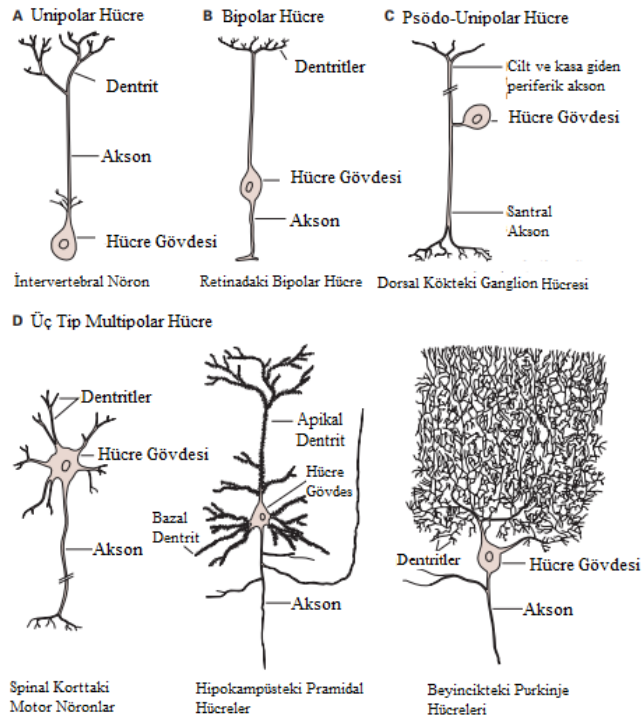
Şekil.2. A.Sinir Hücresinin Şematik Görünümü B. Akson Kesitinin Şematik Görünümü (28).

Dentritler somanın kısa ve dallanmış uzantılarıdır, akson ise hücre gövdesinden çıkan tek ve uzun bir uzantıdır. Dentritler nöron yüzeyinin en geniş kısmını oluşturur. Nöronun bilgi alıcı bölgeleri dendritler ve hücre gövdeleridir (29).

Akson, hücre gövdesinden huni şeklindeki akson tepeciği aracılığı ile çıkar. Akson, boylu boyunca devamlılık gösteren, fosfolipid içeriği yüksek olan ve istirahat membran potansiyelinin devamlılığını sağlayan aksolemma adı verilen üç katlı bir zarla çevrilidir. Aksonların primer görevi sinirsel uyarıyı periferdeki kas dokusuna aksiyon potansiyeli olarak taşımaktır. Genellikle uniform yapıda ve düzgün kontürlü olan aksonların ortalama çapları 1-24 μm arasında değişirken, uzunlukları 50 μm 'den birkaç metreye kadar uzayabilir (29).

Nörofibriller nörotübül ve nörofilamentlerden oluşur, dendrit ve aksonların sonlarına kadar uzanım gösterir. Nörofibriller hücre şeklinin desteklenmesi ve korunmasında, metabolitlerin taşınmasında görev alır (29).

Nöronlar mevcut uzantılarının sayı, şekil ve uzunluğuna göre gruplara ayrılır (30) (Şekil 3).



Şekil 3: Sinir sisteminin bazı nöron tipleri (31).

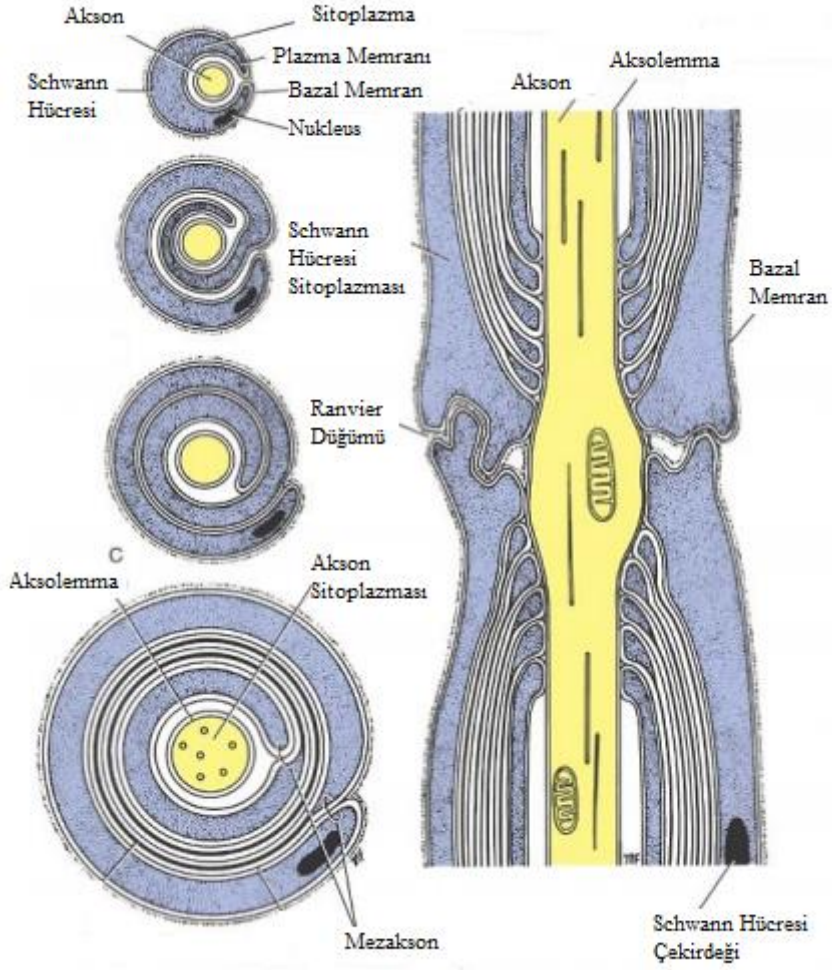
1.3. Schwann Hücresi ve Miyelin Kılıf

Schwann hücreleri, iyon dengesinin sağlanmasında, nörotransmitterlerin dağılımında ve aksolemmadaki sodyum kanallarının yerleşiminde görev alır. Bu hücreler nöroektodermal kökenli olup akson çevresinde fosfolipid bir tabaka olan miyelin kılıfı sentezler.

Miyelin kılıf gestasyonun 12–18. Haftalarında görülmeye başlar ve doğum sonrasında değişken hızlarda sentezlenmeye devam eder. Motor, preganglionik ve bazı duyuşal nöronlarda miyelin kılıf bulunur. Schwann hücreleri laminin ve tip 4 kollajenden oluşan bazal membranı üretirler (32).

Miyelinin yapısı itibariyle diğer plazma membranlarına benzemekte ancak, içerik olarak farklılık göstermektedir. Miyelin % 75 lipit ve % 25 proteinden meydana gelir. Miyelin içeriğindeki lipitler kolesterol ve glikolipit yapısında olan galaktoserebrosid, sülfatid ve gangliosidlerdir. Bu lipitlerin %20-30'luk kısmını oluşturan kolesterol multilameller yapının stabilizasyonunda önem taşır. Periferik miyelin dokusunun santralinde kolin, sfingomyelin ve gliserofosfatid oranı galaktoserebrosid oranına göre daha fazladır. Bu da iki sistem arasındaki miyelin içeriğinin farklı olduğunu gösterir. PSS miyelinini oluşturan proteinler, çoğunlukla glikoprotein yapısındadır. Protein sıfır (P0), periaksin, periferik miyelin proteini (PMP), epitelyal kadherin bunlardan bazılarıdır. 1 µm'den küçük aksone sahip sinirler genellikle miyelinsizken, büyük çaplı somatik sinirlerin hemen hepsi miyelin kılıf ile sarılıdır. İnsanlarda postganglionik otonomik liflerin tamamına yakını, kutanöz sinirlerin ve dorsal spinal köklerin %75'i, kas liflerinin %50'si miyelinsizdir (33).

Schwann hücreleri, tek bir aksonun etrafında hücre membranını sıkı şekilde çevreler. Bunun aksine MSS miyelinizasyonunda görev alan oligodentrositler birkaç aksonu birden çevreler. Bitişik miyelinize segmentlerin arasındaki 'Ranvier boğumu' olarak adlandırılan boşluklar, akson membranı üzerindeki voltaj duyarlı sodyum (Na⁺) kanallarını yoğun miktarda içerir. Bu kanallar nöron gövdesinden bir sonraki sinapsa iletilen sinir lifi boyunca aksiyon potansiyelinin oluşmasını sağlar. Bu iletim 'saltatory iletimi' olarak adlandırılır (24) (Şekil.4.).



Şekil.4. Miyelinli periferik sinir lifinin kesitleri (34)

1.4. Periferik Sinirlerin Sınıflaması

Sinirde miyelin kılıf varlığı aksiyon potansiyelinin iletim hızını artırır (29). Sinir lifleri iletim hızları ve çaplarına göre 3 gruba ayrılır.

1-A Grubu lifler:

- İleti hızları 15–100 m/sn arasındadır.
- Çapları 2.5-22 μm dir.
- Miyelinli somatik afferent liflerdir.

2-B grubu lifler:

-İleti hızları 3–15 m/sn arasındadır.

-Çapları 3 µm dir.

-Miyelinli otonomik preganglionik liflerdir.

3-C grubu lifler:

-İleti hızları 0.3–1.6 m/sn arasındadır.

-Çapları 0.2–1.5 µm dir.

-Miyelinsiz visseral ve somatik afferent lifler ile postganglionik liflerdir. (24,35).

1.5. Periferik Sinir Kılıfları

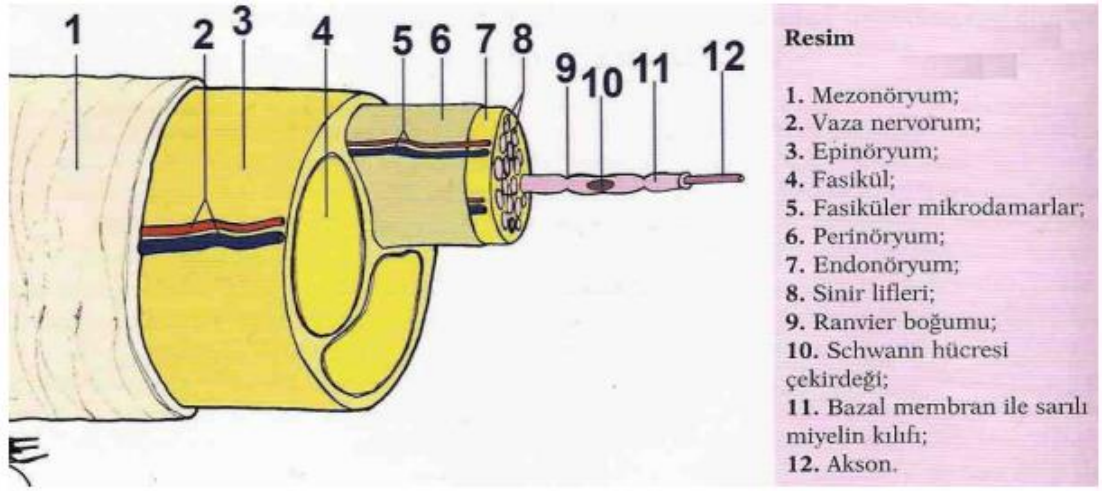
Sinire ve yer aldığı bölgeye göre değişkenlik göstermekle birlikte sinir dokusundan alınan kesitlerin büyük bir kısmını bağ dokusu oluşturur. Periferik sinirler endonöryum, perinöryum ve epinöryum olmak üzere 3 ayrı destek bağ doku tabakası ile çevrelenmişlerdir.

Sinirler, sinir lifi demetlerinin arasında dolduran fibröz bağ dokusundan oluşan 'epinöryum' denilen fibröz bir kılıfla en dıştan sarılmıştır. Epinöryum fibroblastlar, yağ dokusu, tip I ve III kollojenden meydana gelmiştir. Epinöryum eklem bölgelerinde daha kalın bir yapıya sahip olup bu kalınlık distale gittikçe azalmaktadır. Epinöryumun kalınlığı bireylere, sinirin tipine ve seviyesine göre farklılık gösterir. Epinöryum iki tabakadan oluşur. Dış tabakası 'eksternal (epifasiküler) epinöryum' olarak adlandırılır ve bu tabaka fasiküller üzerinden kolaylıkla ayrılabilen bağ dokusu yapısında bir kılıftır. Derin tabakası 'İnternal (interfasiküler) epinöryum' olarak adlandırılır ve fasikülleri tek tek sararak gevşekçe bir arada tutar. Epinöryum ekstremitte hareketleri sırasındaki travmalardan siniri korur (36,37).

Fasiküller, epitel benzeri yassı hücrelerden meydana gelen 'perinöryum' ile sarılır. Perinöryumdaki bu hücreler kenar kısımlarından sıkı bağlantılar ile birleşir ve

perinöriyumdan makromoleküllerin geçişini engelleyerek kan-beyin bariyerinin devamı gibi fonksiyon gösterir.

Perinöriyumun iç tarafında aksonları saran 'endonöriyum' tabakası bulur. Bu tabaka kollejenöz yapıdadır, elastin lifler içermez ve fibroblastlar az sayıdadır. Endonöral tüpün yapısına katılır. Schwann hücreleri tarafından oluşturulan miyelinli aksonlar endonöriyum içerisinde. Endonöriyum ile çevrelenmiş akson gruplarına ise 'fasikül' denilir (24,25,38,39,40) (Şekil.5.).



Şekil .5.Periferik sinir kılıfları (41).

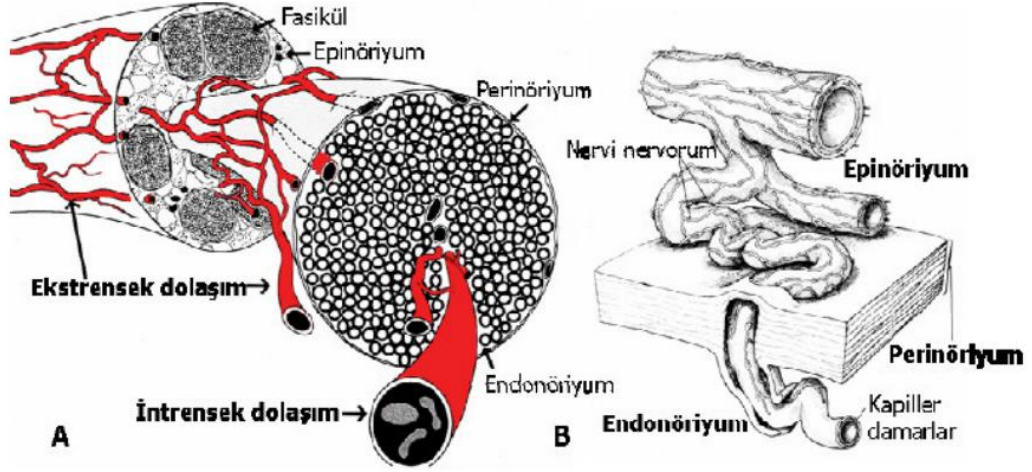
1.6. Periferik Sinirlerin Vasküler Yapısı:

Periferik sinirlerde kan akımı vaza nervorum adı verilen bölgesel damarlardan kaynaklanan dallanmalar aracılığı ile olmaktadır. Periferik sinirler iskemiye duyarlıdır. Bu nedenle farklı sinir segmentleri ve tabakaları arasındaki vasküler pleksus çok gelişmiş dinamik bir yapıya sahiptir. Periferik sinirlerde enerji, epinöriyum, perinöriyum ve endonöriyum tabakalarında yer alan ve birbiri ile ilişkili olan vasküler ağ sayesinde sağlanır (42). Bu vasküler ağ, birbirini kompanse edebilen, birbirinden bağımsız işleyen ekstrensek ve intrinsek sistemlerce oluşturulur (43).

Dış yüzeyde bulunan gevşek bağ doku içerisindeki vazo nervorumlar ekstrensek sistemi oluşturur. Lokal anestezipler, kan akımı, epinefrin, sempatik uyarılardan etkilenir (44). İntrinsek sistem endonöriyum, perinöriyum ve epinöriyum içerisinde bulunan vasküler pleksuslardan meydana gelir. Metabolik olaylar, sempatik uyarılar ve lokal anesteziplerden etkilenmezler. Mezonöriyumda longitudinal

seyreden damarlar mezonöriyumu delerek, intrinsek sistemle anastomozlar yapar (45,46).

İntrensek ve ekstrinsek sistemler birbirinden bağımsız olarak çalışır. İntrensek ve ekstrinsek sistemler arasında transvers olarak anastomotik mikro damarlar bulunur ve bu damarlarda kan akım yönü belli olmayıp, her iki yönde de gerçekleşebilmektedir. Epinöral damarlar epinöriyumun derin ve yüzeysel katları arasında uzanım gösterip, fasikül veya fasikül demetlerine besleyici dallar gönderir. Aynı zamanda epinöral damarlar farklı seviyelerde perinöral vasküler pleksus ile de anastomozlar yapar. Endonöral vasküler pleksus, longitudinal seyirli perinöral damarların perinöriyumun iç tabakasını delip endonöral aralığa geçmesiyle oluşur. Endonöral vasküler yatak, fasiküller boyunca devamlı anastomotik ağ oluşturarak sabit fasiküler kan akımını sağlar (43,47). Bu bölgedeki dolaşım lokal perfüzyon basıncı ile kontrol edilmektedir. Periferik sinirler içerisinde longitudinal olarak uzanan bu vasküler sistemler sinüzoidal yapıya sahiptir. Sinüzoidal yapı, gerilme tarzı travmalarda vasküler sistemin hasar görmesini engellemektedir (47,48) (Şekil.6).



Şekil.6. Periferik sinirin mikrovasküler dolaşımı(48).

1.7. Periferik Sinir Yaralanması

Periferik sinir yaralanmasının derecelendirmesi sebep olan gücün süresi ve şiddeti ile ilişkilidir. Periferik sinir yaralanmalarında 2 tip sınıflama vardır (49).

1.Seddon sınıflaması: Periferik sinir yaralanmalarına ait ilk sınıflandırma Cohen tarafından 1941 yılında yapılmış olup daha sonra bu sınıflandırma Seddon tarafından 1947 yılında popüler hale getirilmiştir. Seddon sinir hasarını nöropraksi, aksonotmezis ve nörotmezis olarak 3 gruba ayırmıştır (50,51,52) (**Tablo.1**).

Tablo.1. Sunderland ve Seddon sınıflamaları (52).

Sunderland	Seddon	Görülen Patolojiler
Derece-1	Nöropraksi	Lokal miyelin yaralanması
Derece-2	Aksonotmezis	Sadece intranöral aksonun ayrılması
Derece-3	Aksonotmezis	Sadece endonörium ve aksonun ayrılması
Derece-4	Aksonotmezis	Akson, endonörium ve perinöriumun ayrılması
Derece-5	Nörotmezis	Epinöriumda dahil tüm elemanların ayrılması
Derece-6*	Karışık	İlk 5 yaralanma derecelerinin kombinasyonu

*Sunderland'ı modifiye eden Mackinnon kriterlerine göre

Nöropraksi, gerçek bir rejenerasyon olmayıp en hafif dereceli sinir yaralanması olup aksonal bütünlüğün bozulmadan hasarlanan sinir segmentinde iletimin azalması veya tam olarak kesilmesidir. Burada Wallerian dejenerasyonu olmaz. İleti lezyonun proksimal ve distalinde korunmuştur, fakat ileti lezyondan karşıya geçememektedir. Nöropraksiye, toksinler, iskemi, sinirde demiyelinizasyona yol açan hastalıklar, metabolik yetersizlik ve direk mekanik basılar neden olabilir. Nöropraksik yaralanmalar genellikle geri döner. Remyelinizasyon oluşturulup ve metabolik yetersizlik düzeltilir ise iletim yeniden sağlanmış olur. Tam iyileşme günler ve haftalar içerisinde oluşur. Bu yaralanmalarda motor, propriosepsiyon, dokunma, sıcaklık, ağrı duyusu ve sempatik fonksiyon sırasıyla travmadan etkilenir. İyileşme genellikle bu sıralamanın tersi şeklinde olur. (53)

Aksonotmezis, aksonların kesildiği, aksonu destekleyen çevre bağ dokusunun korunduğu, iyileşmenin tam olduğu yaralanma tipidir. Nöropraksiye göre daha şiddetlidir. Wallerian dejenerasyonu gözlenir. Wallerian dejenerasyon izlendikten sonra distaldeki sinirin direk elektrikle uyarılması sinir iletisine yol açmayacaktır. Distal sinir iletiminin bozulması duyu, motor ve sempatik fonksiyonların tamamını içermekte ve travma sonrası 24-72 saat içerisinde gerçekleşmektedir. Çevredeki bağ dokusunun korunması neticesinde aksonal rejenerasyonla iyileşme sağlanır. Schwann hücreleri çoğalarak rejenere olan aksonlar boyunca longitudinal kanalları oluşturular ve bu kanallar Bungner bandları olarak adlandırılır. Aksonotmetik yaralanmalarda iyileşme, genellikle ay veya aylar içerisinde oluşmaktadır. İyileşmenin zamanı ve derecesi, retrograd aksonal kaybın boyutu ve hedef kaslar veya duysal son organların yeniden innerve ve rejenere olma zamanına bağlıdır. Rejenerasyonun ilerlemesi Tinel bulgusu ile anlaşılmaktadır. Tinel işareti, rejenere olan aksonu belirlemek için rejenere olan sinir üzerine kullanılan bir provakasyon testidir. Test, rejenere olan sinir üzerine yapılan küçük vuruştan oluşur. Rejenere olan aksonun distal ucu üzerine yapılan vuruşta cevap ağrı veya yanma-sızlama ise pozitif bir işarettir. Ağrı veya yanma hissi, sinirin rejenere olduğu bölgelerde oluşmaktadır (53).

Nörotmezis en şiddetli periferik sinir yaralanmasıdır. Bu tip yaralanmada akson, myelin, konnektif doku parçalanır ve rejenerasyonla iyileşme gerçekleşmez. Bu yaralanmalar sinirin dış bütünlüğünün korunduğu aynı zamanda sinir içi fibrozisle aksonal rejenerasyonun engellendiği ve devamlılığı tamamen kaybolan yaralanmaları içerir. Aksonal rejenerasyonda skar dokusu cerrahi olarak çıkarılarak sinirin devamlılığı tekrar sağlanabilir (49).

2.Sunderland sınıflaması: 1951 yılında Sunderland periferik sinir yaralanmalarını 5 derecede değerlendiren bir sınıflandırma önermiştir. Bu sınıflandırmada birinci ve ikinci derece yaralanma, Seddon sınıflamasındaki nöropraksi ve aksonotmezise karşılık gelmektedir (54).

1. Derece Yaralanma: Seddon sınıflamasındaki nöropraksiye karşılık gelen bu yaralanmada, sinir dokusunun devamlılığı korunmuştur. Sinir kılıfları ve aksonlar intaktır, fakat travma bölgesindeki sinir segmentinde iletim kaybı mevcuttur. Sinirin distalinde iletim normal olmasına rağmen lezyon alanında elektrofizyolojik olarak

tesbit edilebilen iletim bloğu mevcuttur. Duyu ve motor kayıplar gözlenir ve motor fonksiyonlarda daha fazla kayıp olur. Turnike kullanımı gibi lokal basınç artışına neden olan durumlar ve kompresyon nöropatilerin erken döneminde oluşan sinir hasarı bu grupta incelenir. Yaklaşık altı ila sekiz hafta içerisinde aksonal iletim tam olarak düzelir.

2. Derece Yaralanma: Seddon'un sınıflamasındaki aksonotmezise karşılık gelir, Sinir kılıf yapıları sağlamdır fakat akson bütünlüğü kesintiye uğramıştır. Wallerian dejenerasyonu görülür. Schwann hücre kılıfı sağlamdır bu nedenle prognozu iyidir. Ancak iyileşme 1. derece hasara göre daha fazla zaman alır.

3. Derece Yaralanma: Schwann hücrelerinin bazal laminasında, endonöral tabakada ve aksonlarda hasar mevcuttur. Perinörium sağlam olduğundan sinirin fasiküler yapısı korunur. Wallerian dejenerasyon vardır. Beraberinde olan kanama, ödem ve iskemi sonucu interfasiküler fibrozis gelişir. Bu durum aksonal rejenerasyona engel olduğundan iyileşme tam değildir. Rejenere olan aksonlar kendi fasikülleri ile çevrilidir, ancak kendi endonöral tabakaları içerisinde değildir. Bu da iyileşmenin yönünü olumsuz etkiler. Fonksiyonel iyileşmenin takibinde Tinel bulgusu güvenilir değildir. Bu tip yaralanma sonrası iyileşme belirgin olarak gecikir.

4. derece yaralanma: Perinöriumdaki yaralanmayı tanımlar. Bu tip yaralanmada fasiküller parçalanmıştır ancak sinir gövdesinin bütünlüğü korunmuştur. Solid skar dokusu yani nöroma oluşumu görülebilir. Retrograd dejenerasyonda rejenere olan akson sayısı oldukça azdır ve üçüncü derece yaralanmalardan daha şiddetlidir. Fonksiyonel iyileşme varsa da oldukça sınırlıdır. Dördüncü derece yaralanmaların tedavisinde mevcut segmentin cerrahi olarak çıkarılması ve sinir onarımı gerekmektedir.

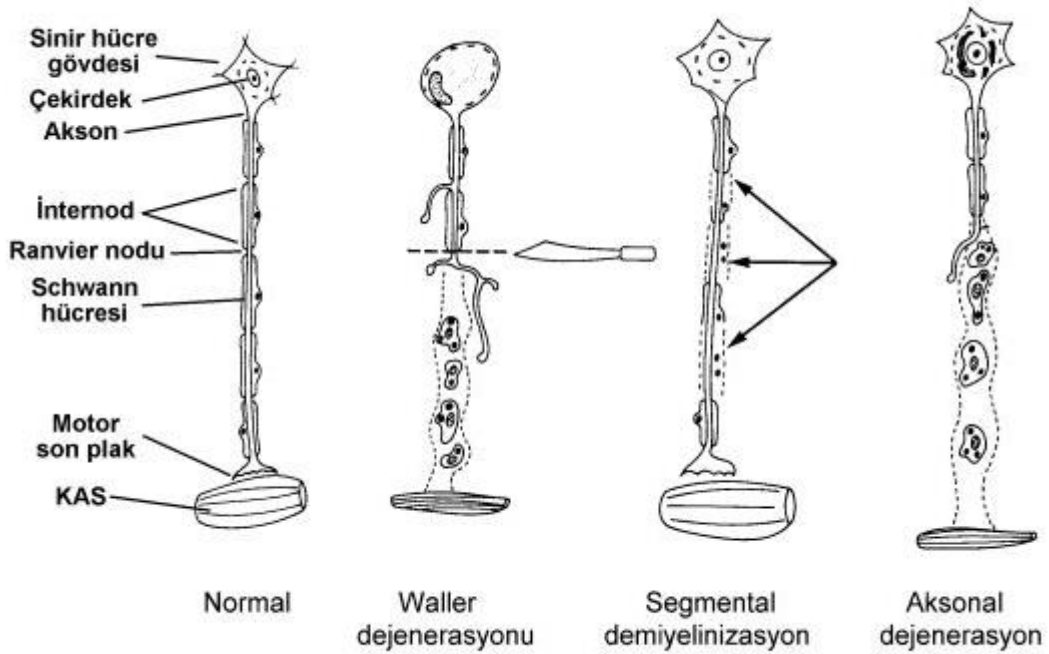
5. derece yaralanma: Seddon sınıflamasında nörotmezise karşılık gelmektedir. Perinöriumun bütünlüğü ve devamlılığı bozulmuştur. Ayrılmış olan sinir uçları ayrı kalabilecekleri gibi Schwann hücreleri, fibroblastlar ve rejenere aksonların oluşturduğu skar köprüsü ile birleşebilirler. Proksimal nöroma ve distal güdük oluşumuna yol açan skar, rejenerasyon için en büyük engeldir. Rezeksiyon ve sinir

onarımı ile bile tam iyileşme sağlanamaz. Fonksiyonel iyileşme uygun cerrahi onarımla belirgin olarak artmaktadır.

6. derece yaralanma: Mackinnon ve Dellon tarafından tanımlanmıştır. İlk 5 derece yaralanmanın kombinasyonudur (55).

1.8. Periferik Sinir Dejenerasyonu ve Rejenerasyonu

Ciddi boyuttaki sinir yaralanmalarında, bu bölgenin yanı sıra, akson proksimali, distali ve sinir hüresinin gövdesinde de yapısal ve fonksiyonel değişiklikler meydana gelir (56). Yaralanmanın distalinde yer alan tüm miyelinli ya da miyelinsiz liflerde distal aksondan hedef organa kadar, akson ve çevre miyelinde fragmentasyon yani Wallerian dejenerasyonu meydana gelir (57) (Şekil.7.).



Şekil.7. Akson Dejenerasyonu (58)

Periferik sinirde oluşan herhangi bir yaralanmada aksonal devamlılığın bozulduğu yerin proksimalinde sınırlı bir dejenerasyon meydana gelir (56). Nöronda nükleus çapında artış ve santral kromatolisis görülür. Bu durum nöronun

rejenerasyonu için gerekli olan yapısal proteinlerin üretilmesi için yaptığı metabolik hazırlığı gösterir (59,60).

1.8.1. Periferik Sinir Hücre Gövdesinde Meydana Gelen Değişiklikler

Aksonal yaralanma sonrasındaki altı saat içinde sinir hücre gövdesinin hacmi artar. Nöronun somasında şişme, nükleus ve nükleolus büyüklüğünde artma gibi fenotipik değişimler gözlenir. Granüllü endoplazmik retikulumlar, Nissl Cisimcikleri yıkılır. Hücre çekirdeği periferik doğru göç eder. Sitoplazmanın yapısı değişir. Bu olaya 'kromatoliz' denir. Nöronun aksonunun proksimal ve distal sinir segmentleri büzülür, aksoplazma sızar ve hasarlanmış membran kollabe olur. Bu esnada makrofajlar ilk hafta içinde lezyonlu bölgede toplanır, miyelinin lizisine ve fagositozuna, daha sonrasında da Schwann hücresi proliferasyonuna katkıda bulunurlar (60). Bu değişiklikler yaralanma sonrası 2. ve 3. haftalarda en yüksek değerine ulaşır. Hücre gövdesine yakın oluşan yaralanmalar hücre ölümüne neden olabilir (61). Duyu nöronlarında hücre ölümü motor nöronlara göre daha fazla gerçekleşmektedir (62).

1.8.2. Proksimal Segmentte Meydana Gelen Değişiklikler

Yaralanmanın distal segmentinde oluşan dejenerasyona benzer şekilde bir dejenerasyon proksimal segmentte görülür. 24 saatlik latent period sonrasında, proksimal kesik uçta terminal ve kollateral aksonal tomurcuklanmalardan oluşan 'rejenerasyon ünitesi' meydana gelir. Her tomurcuğun ucunda rejenerasyondan sorumlu bölgeye 'büyüme konisi' denir (63). Büyüme konisi, aktin ve miyozin filamanları içerir. Bu yapılar sayesinde, filapoid çıkıntılar yaparak hareket yeteneği kazanır. Büyüme konisinin, distal sinir segmentindeki Büngner bantları ve Schwann hücrelerinin bazal laminasında bulunan laminin ve fibronektine affinitesi vardır (nörotropizm) ve bu affinite aksonal tomurcukların büyüme yönünü belirler. İlerleme gerçekleşmesi için bazal lamina uygun ortam sağlar (4). Periferik sinir rejenerasyon kapasitesi ve nörotropizm, Cajal tarafından ilk defa 1928 yılında gösterilmiştir (63).

1.8.3. Distal Segmentte Meydana Gelen Değişiklikler

Distal sinir segmentinde akson ve miyelin kılıfta meydana gelen hücrel dejeneratif değişikliklere ‘Wallerian dejenerasyon’ denir. Waller tarafından ilk kez 1850 yılında tanımlanmıştır. Wallerian dejenerasyon ile rejenere olan aksonun büyümesi için akson ve miyelin kökenli maddeler ortamdan temizlenir. Schwann hücrelerinin, bazal lamina boyunca dizilmesi ile Büngner bantları oluşur. Bu dizilim sonrası orta kısımda oluşan içi boş tüp yapıya endonöral tüp denir. Proteolitik enzimler tarafından aksoplazmik hücrel iskelet yıkılır. Schwann hücreleri ve makrofajlar tarafından miyelin fagosite edilir. Debrisin tamamen temizlenmesi birkaç ay sürer. Proksimal sinir güdüğünden tomurcuklar endonöral tüp kılıfı eşliğinde distale doğru ilerler. Sinir iyileşmesi başarısını etkileyen en önemli olay bu hareketlenmedir. Tomurcuklardan bazıları bağ doku içerisine uzanabilirler, bu olayda nöroma oluşumu ile sonuçlanır. Büngner bantlarını takip eden tomurcuklar periferde doğru uzanarak hedeflerini bulurlar (62). Rejenerasyon hızı proksimalden distale doğru gidildikçe azalır ve hasar bölgesinin sinir hücre gövdesine uzaklığı ile ters orantılıdır. Yaralanmaya cevap olarak distal sinir segmentinin vasküler ağında önce vazokontraksiyon daha sonra vazodilatasyon görülür. Aksonal rejenerasyon en iyi şekilde gerçekleşmiş olsa bile orijinal kan akımının ancak %60-80’ i yeniden sağlanabilir (64).

Aksonal rejenerasyonda nörotropizm yönü, Schwann hücrelerinin migrasyonu ve salınan çeşitli nörotrofik faktörler ile sağlanır (62). Makrofajların sinir hasarı sonrası esas görevleri, miyelin debrisin temizlenmesidir. Schwann hücreleri de makrofajlar kadar etkin olmasada fagositik özelliklere sahip olup miyelin antijenlerini birbirlerine sunarak miyelin yıkımına yardımcı olurlar. Aktive makrofajlar hasar alanına endotel hücre migrasyonunu arttırarak, bazı büyüme faktörlerinin sentez ve sekresyonunu sağlayarak anjiogenezisi uyarırlar (64).

Schwann hücreleri sonuç olarak üç farklı mekanizmayla rejenerasyon sürecine katkıda bulunur. Birinci mekanizmada hücre yüzey adezyon moleküllerinin sentezini arttır, ikinci olarak laminin, heparan sülfat, fibronektin gibi ekstrasellüler matriks proteinlerini içeren bazal membranın oluşturulmasını sağlar ve üçüncü olarak da sinir

büyümesini destekleyen birçok büyüme faktörü ve reseptörlerinin üretimini artırır (65).

2. Nörotrofik Faktörler

Nörotrofik faktörler, hasarlanmış sinirde ve hedef organlarda travma sonrası ortaya çıkarak akson boyunca retrograd taşınır ve sinir rejenerasyonuna katkıda bulunurlar. Nörotrofik faktörlerin son yıllarda önemi anlaşılmaya başlamıştır. Birçok deneysel çalışmada, bu faktörlerin sinir hasarında kullanımıyla, aksonal büyümede ve sinir hücre yaşayabilirliğinde artış saptanmıştır (66).

Nörotrofik faktörler reseptörlerine göre 2 gruba ayrılır. Birinci grupta, beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), sinir büyüme faktörü (NGF), nörotrofin-4/5 (NT-4/5), nörotrofin-3 (NT-3) ve son yıllarda bulunan nörotrofin-6 (NT-6) yer alır. İkinci grup ise nöropoetik sitokinler olarak adlandırılır ve bu grupta lösemi inhibitör faktör (LIF), silier nörotrofik faktör (CNTF) ve interlekin-6 (IL-6) yer alır. Ayrıca sinir rejenerasyonunun farklı aşamalarında etkili olan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), glia kaynaklı nörotrofik faktör (GDNF), tümör nekroz faktör (TNF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), transforme edici büyüme faktörü (TGF), endotelial büyüme faktörü (EGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü – 1 ve 2 (ILGF-1 ve 2) gibi büyüme faktörleri de sinir rejenerasyonunda etkili oldukları düşünülmektedir. (67).

3. Periferik Sinir Onarımı

Sinir onarımına dair ilk bilgiler 13. yüzyılda William'a aittir. Bilinen ilk başarılı sinir onarımı ise Paget tarafından 1847 yılında gerçekleştirilmiştir. Defektleri sinir greftleri ile onarma düşüncesi ilk kez Philippeaux ve Vulpian tarafından öne sürülmüşse de, ilk klinik uygulama 1878'de Albert tarafından yapılmıştır. Mayo-Robson tarafından ilk başarılı sinir greftiyle onarım 20. yüzyılın başlarında yayınlanmıştır (68,69). Bu tür operasyonlarda cerrahi mikroskopların kullanılmaya başlanması (1963), cerrahi tekniklerin ve mikroskopların gelişimiyle 1967 yılında Bora tarafından gerçekleştirilen perinöral onarım sinir onarım cerrahisinde bir dönüm noktası olmuştur (70).

3.1. Periferik Sinir Onarım Teknikleri

Periferik sinir cerrahisinde antibiyotiklerin kullanımından sonra başarıyı etkileyen diğer büyük yenilik, mikrocerrahi tekniklerin kullanılmaya başlanmasıdır (71).

Periferik Sinir Onarım Teknikleri(72)

1-Uç-uca onarım

-Epinöral onarım

-Perinöral onarım

-Grup fasiküler onarım

-Epi-perinöral onarım

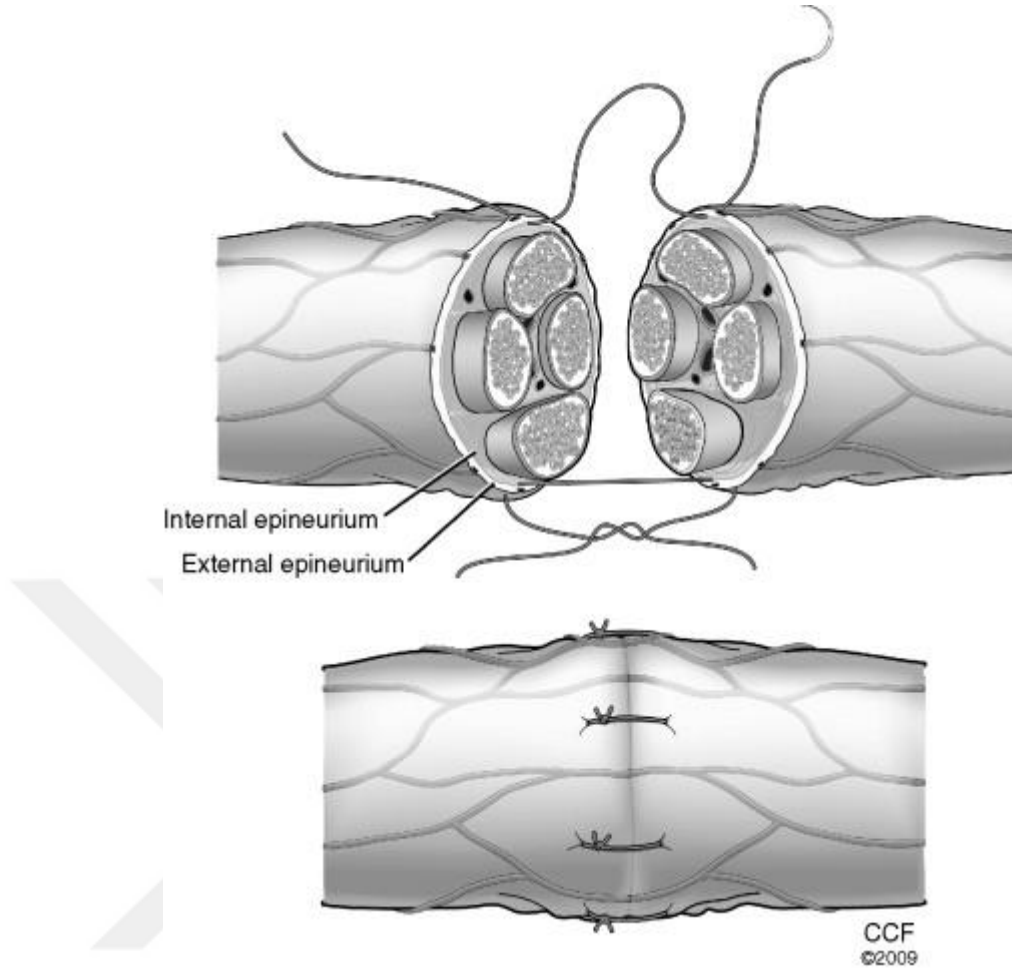
2-Uç-yan sinir onarımı:

3-Sinir Greftleme

3.1.1. Uç-uca sinir onarımı:

3.1.1.1. Epinöral onarım:

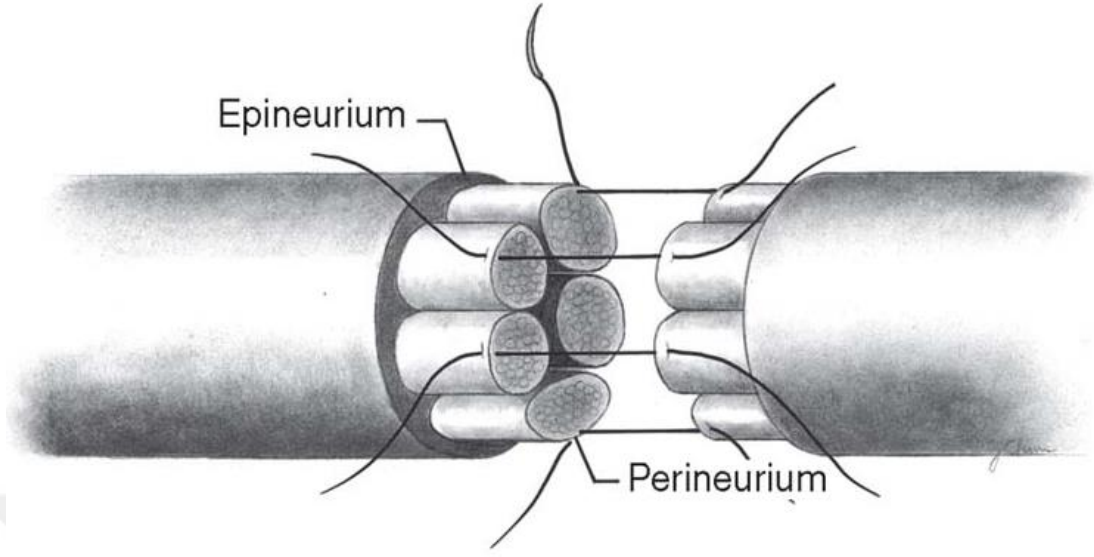
Epinörium içinden geçen sütürler ile sinir uçlarının koaptasyonu ilk kez 1873’ de Hueter tarafından tanımlanmıştır. Bu teknikte sinirin proksimal ve distal uçları onarım esnasında gerilim oluşturmaması için serbestlenir. Sinirin kesik uçlarında vasa nervorumların trasesi izlenerek fasiküler oryantasyon sağlanır ve sütür geçilecek yerler belirlenir. Sinirden sütür geçirilirken 10/0 monoflaman sütür materyalleri ve cerrahi mikroskop kullanılır. Proksimal ve distal sinir uçlarının bir araya getirilmesiyle, epinöriumun çevresine tekli epinöral sütürler yerleştirilir. Perinöral onarıma göre onarım süresi kısa ve öğrenmesi kolay bir tekniktir. Dezavantajları ise uygun fasiküler dizilimin sağlanamama ihtimali ve sinir uçlarının retrakte olmaya eğilimine bağlı onarım sahasında gerginlik olmasıdır.(73) (**Şekil.8**).



Şekil.8. Epinöral Onarım (74)

3.1.1.2. Perinöral onarım:

Bir diğer uç-uca suture tekniği perinöral onarımdır. Perinöral sutureler daha ayrıntılı bir birleşmeyi sağlamak için fasiküler olarak konabilir. Fasiküller, onarım sırasında uygun şekilde hizalanır. Bu teknikde daha fazla disseksiyon gerekir, bu da sinirin beslenmesinin bozulmasına ve skar dokusunun oluşmasına neden olabilir. Onarım süresi epinöral onarıma göre daha uzundur ve öğrenmesi zor bir tekniktir.(75) (Şekil.9).



Şekil.9. Perinöral onarım (76)

3.1.1.3. Grup fasiküler onarım

Sinirin topografisinin, duyuşal ve motor dalların tamamen ortaya konulabildiği durumlarda uygulanabilir. Fasiküllerin ayırt edilebilmesi için histokimyasal yöntemler kullanılabilir. Motor aksonlar için asetilkolinesteraz, duyuşal aksonlar için karbonik anhidraz uygulanır (77) Bu tekniklerin birbirine üstünlüğü henüz gösterilmemiştir.

3.1.2.Uç-yan sinir onarımı

Uç-yan sinir onarımında, sinir güdüğü motor akson kaynağı olan intakt bir sinirin lateraline suture edilir. Bu teknik ile ilgili literatürde birçok çalışma mevcut ancak fonksiyonel sonuçlarında birçok değişkenlik izlenmiştir. Donör sinirinin aksonları, alıcı sinire uç-yan onarım tekniği ile suture edildiğinden yöntem esnasında proksimal sinir güdüğüne ihtiyaç duyulur. Burada en tartışmalı konu, donör sinirde oluşacak hasarın rolüdür. Donör sinir perinöriumunda ne kadar büyük bir pencere açılırsa sinirdeki rejenerasyon miktarı da o kadar fazla olmaktadır. Bundan dolayı günümüzde uç-yan sinir onarım tekniği kritik olmayan deneysel sinir onarımlarında tavsiye edilmektedir (78).

3.1.3. Sinir Greftleme

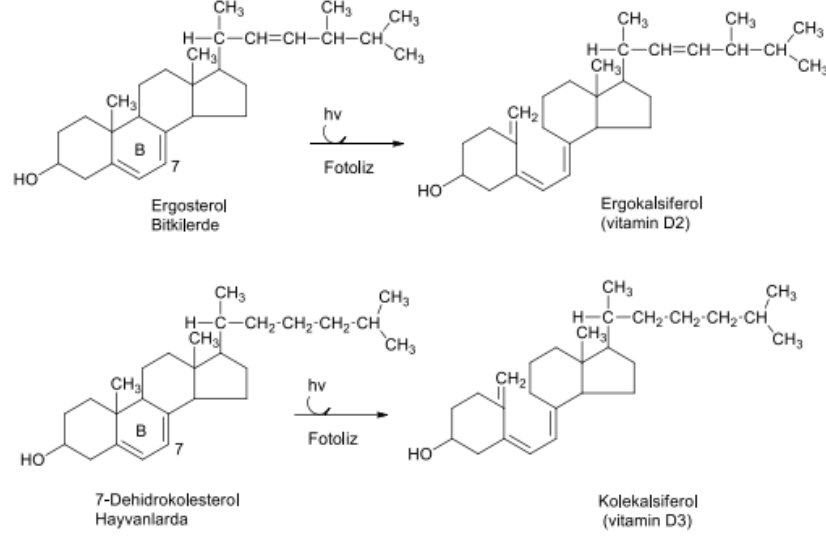
Sinir yaralanmalarından sonra sinirde doku kaybı olabilir. Bu durumlarda primer olarak onarılamayan lezyonlarda sinir greftlerinin kullanımı daha uygundur. İdeal şartlarda, sinir grefti distal sinir ucu gibi davranacaktır. Greftin revaskülarize olması gerektiği düşünölmeli ve mümkün olan en kısa sinir grefti kullanılmalıdır. Greft konulduğu gün çevre dokudan diffüzyon ile beslenir. 3. gün ise revaskülarizasyon başlar. Ancak kalın greftlerde vaskülarizasyonun gecikebileceği ve bu nedenle santral nekroz gelişebileceği unutulmamalıdır. Greftin yaşaması için uygun kalınlık 5 mm çaptan küçük olmasıdır. Greft uygulaması genellikle geç sinir tamiri sırasında yapılır. Greft uzunluğu doku kaybı uzunluğundan %10-20 daha fazla olmalıdır (79,80). Sinir kayıplarını kapatmak için en sık otojen sinir greftleri kullanılır. Bu amaçla en sık kullanılan sinir sural sinirdir. Bunun nedeni kolay elde edilmesi ve aynı zamanda hasta tarafından iyi tolere edilmesidir. Sural sinir son zamanlarda üst ekstremitte geniş sinir defektlerini kapatmak için kullanılan standart otojen sinir grefti haline gelmiştir. Geniş defekler için bile yeterli uzunluk elde edilebilir. Medial antebrakial kutanöz sinir, lateral antebrakial kutanöz sinir, posterior interosseöz sinir diğer donör sinirlerdir Sinir uçları arasındaki defekti köprülemek için ven, kas, poliglikolik asit, silikon gibi maddeler kullanılmıştır. Fakat günümüzde otolog sinir greftine üstünlüğu olan bir greft henüz gösterilmemiştir (80,81).

4. D Vitamini

4.1. D Vitamini Kaynakları

D vitamini steroid bir hormon ve yağda çözünen bir vitamindir (20). Kaynak olarak farklı, yapı ve oluşum olarak benzer iki türü vardır. Bitkisel kökenli ergokalsiferol (D₂ Vitamini) ve hayvansal kökenli olup deride 7-dehidrokolesterolden üretilen kolekalsiferol (D₃ Vitamini) dür. Her ikisinde aynı şekilde metabolize olduğu için D Vitamini ortak ismi ile adlandırılırlar (**Şekil.9**). Ergokalsiferol doğada fazla miktarda bulunmaz (82,83).Yapısal olarak D₂ vitamini 24. Karbon atomunda (C24) metil grubu içermesiyle ve 22. Karbon atomu (C22) ile 24. Karbon atomu (C24) arasında ise çift bağa sahip olması nedeniyle D₃vitamininden farklıdır. Bu yapısal

farklılık D₃vitamininin biyolojik etkinliğinin D₂ vitaminine göre daha fazla olmasına neden olur(84,85).



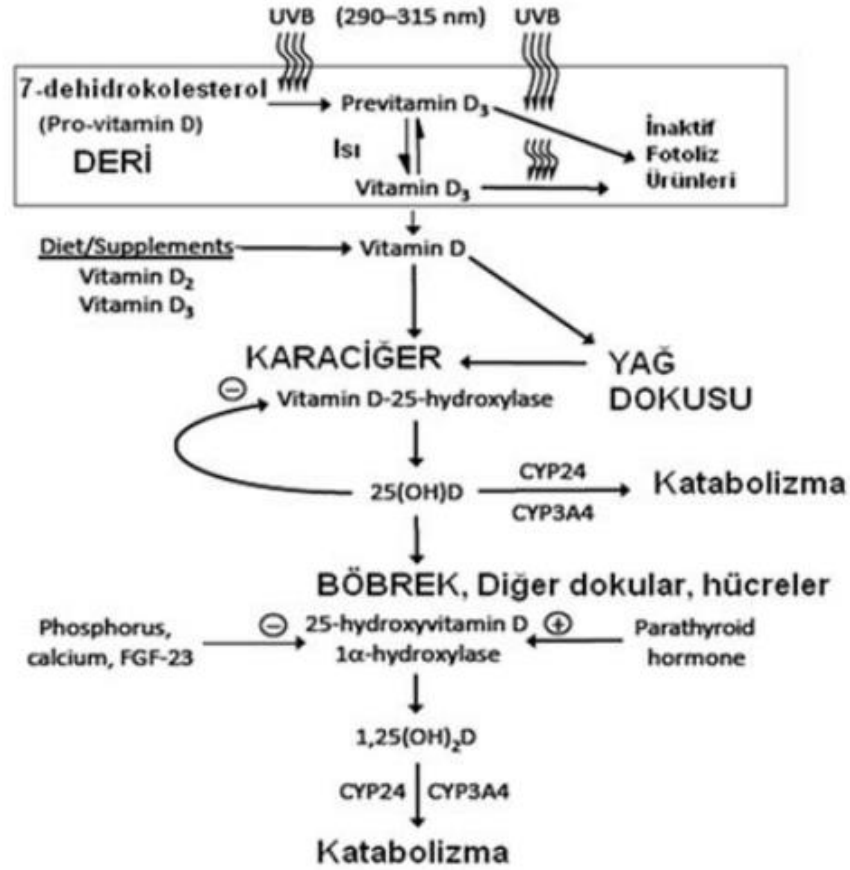
Şekil.9. D₂ ve D₃ vitamini (86)

Vücuttaki D vitamininin %90-95 i UVB nin etkisi ile deride sentezlenir. D vitamini diyetle de alınabilir. D vitamininin diyetle alımı sınırlı olup, yağlı balık türleri ve yumurta sarısında bulunmaktadır (87). Diyet ile D₂ ve D₃ vitamini şeklinde alınıp, ince bağırsaklar tarafından emilir, lenfatik dolaşım ile venöz dolaşıma katılır. Endojen olarak sentezlenen ve diyetle alınan D vitamininin fazlası yağ hücrelerinde depolanmakta, ihtiyaç halinde ise dolaşıma katılmaktadır (88).

4.2. D Vitamini Metabolizması

Normal şartlar altında D vitamininin büyük bir kısmı güneş ışınlarının etkisi ile deride yapılır. Bunun yanı sıra UVB ışınlarının dünya yüzeyine ulaştığı açı (zenith açısı) da D vitamini sentezinde etkilidir. Bu nedenle deriyle UVB ışınlarının temasının önlenmesi durumunda D vitamini sentezi olumsuz etkilenir (Şekli.10). 290-310 nm dalga boyundaki ışınların etkisi ile epidermiste 7-dehidrokolesterol den non enzimatik fotoliz sonucunda previtamin D₃ sentezlenir. Previtamin D₃den vitamin D₃ sentezi ise ısıya duyarlı olarak izomerizasyon ile gerçekleşir. D vitamininin fazlası da UV etkisi ile inaktif fotoliz yan ürünlerine dönüştürülür, böylece gereksiz D vitamini sentezi önlenmiş olur. Bu mekanizma toksikasyona karşı koruyucu fizyolojik bir durumdur.

Diyet ile alınan ve endojen olarak sentezlenen D vitamininin hedef dokuda etki etmesi için karaciğerde sitokrom p450-25 hidroksilaz enzimi (CYP27A1) ile 25-hidroksi D vitaminine (25(OH)D) sonrasında böbreklerde 1-alfa hidroksilaz enzimi (CYP27B1) ile 1,25 hidroksi D vitaminine (1,25(OH)₂D) dönüşmesi gerekir (82,83,89).



Şekil.10. D vitamini metabolizması (89).

1,25(OH)₂D aktif D vitamini formudur. Vücutta D vitamini hakkında en iyi bilgiyi veren parametre 25(OH)D'dir. D vitamininin vücutta taşınması D vitamini bağlayıcı proteinlerle olur ve çok az bir kısmı serbest olarak taşınır. Karaciğerde oluşan 25-(OH)D safra ile ince bağırsaklara atıldığında ince bağırsaktan enterohepatik dolaşım ile tekrar geri emilir. 1-alfa hidroksilaz aracılığı ile 25(OH)D den 1,25(OH)₂D ye dönüşüm sadece böbreklerde gerçekleşmemektedir (82,90). 1 alfa hidroksilaz enzim aktivitesinin düzenlenmesinde serum kalsiyum ve fosfor düzeylerinin düşmesi ve parathormon düzeyi D vitamini üretiminde artışa, bunun yanı sıra fibroblast

büyüme faktörü 23 (FGF 23) 24 hidrosilaz enzimini aktive ederek 1,25(OH)₂ D'nin inaktif forma dönüşmesine neden olur (91).

4.3. D Vitamini Reseptörleri:

D vitamini etkisini diğer steroid hormonlarda olduğu gibi doğrudan nükleer D vitamini reseptörü (DVR) üzerinden gen transkripsiyonunu regüle ederek ya da hücre membranı üzerindeki DVR üzerinden kalsiyum, klorür gibi iyonların geçişini değiştirerek veya hücre içi sinyal yolağını aktive ederek gerçekleştirir (92). DVR beyin, kas, pankreas, prostat, gonadlar, makrofajlar, meme dokusu gibi birçok doku ve organda bulunmaktadır. Oligodendrositler ve Schwann hücrelerinde de DVR varlığı gösterilmiştir (82,93). Son zamanlarda çeşitli hastalıkların tedavisinde denenmektedir.

4.4. D Vitamininin Fonksiyonları:

D vitamini vücutta parathormon ve kalsitonin ile birlikte, kalsiyum fosfor metabolizmasını düzenlemesinde önemli rol oynar. Ayrıca antiinflamatuvar, immünmodülatör, proapoptotik özellikleri de bulunmaktadır (83,94,95). Bu özellikleri nedeniyle D vitamininin birçok hastalıkta tedavi edici ya da tedaviyi destekleyici olabileceği düşünülmektedir (96).

D vitamininin NGF, NT-3 ve GDNF ekspresyonunu artırarak ve NT-4 ekspresyonunu azaltarak sinir sistemi üzerine etki ettiği gösterilmiştir (93,97,98,99,100). Ayrıca D vitamininin nöroprotektif ve nörotrofik etkilerinden dolayı son yıllarda periferik sinir iyileşmesi üzerine etkilerini gösteren çalışmalarda yapılmıştır. Bu çalışmaların sonucu bu çalışmalar sonucunda D vitamininin bilinen etkilerinin yanısıra D₂ vitamininin akson çapını artırdığı ve sinir rejenerasyonunu güçlendirdiği, D₃ vitamininin yeni oluşmuş akson sayısını ve çapını arttırdığı, D₃ vitamininin D₂ vitaminine göre lokomotor ve elektrofizyolojik iyileşme üzerine daha etkili olduğu gösterilmiştir (20,21,22).

4.5. D Vitamini Eksikliği

Erişkinlerde optimum D vitamini serum 25(OH)D düzeyi 32ng/ml, çocuklarda 20 ng/ml olarak belirlenmiştir. Bu düzeyin altındaki değerler eksiklik olarak kabul edilmektedir (101).

D vitamini kutanöz üretimini etkileyen faktörler arasında enlem, mevsim, günün saati, hava kirliliği, bulut örtüsü, güneş kremi kullanımı, cildin melanin içeriği, yaş ve vücudu kaplayan giysiler bulunur. Güneş ufukta azaldığında, atmosferik ozon, bulutlar ve partikül hava kirliliği UVB radyasyonunu Dünya yüzeyinden uzağa yönlendirir. Bu nedenle, kutanöz D vitamini üretimi gün içinde erken ve geç saatlerde olmaz etkin bir şekilde yoktur (102), gastrointestinal sistemde emilim bozukluğuna neden olan durumlar, ileri yaş D vitamini metabolizmasını etkileyen ilaç kullanımı, karaciğer ve böbrek hastalıklarında D vitamini eksikliğine neden olabilecek durumlar arasında sayılabilir (91).

D vitamini eksikliğinin birçok hastalıkla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Farklı hasta gruplarındaki bu benzerlik D vitamini üzerine olan çalışmalara ilgiyi artırmıştır. Mevcut bilgilerin mekanizmayı açıklamak için yetersizdir. Moleküler düzeyde daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

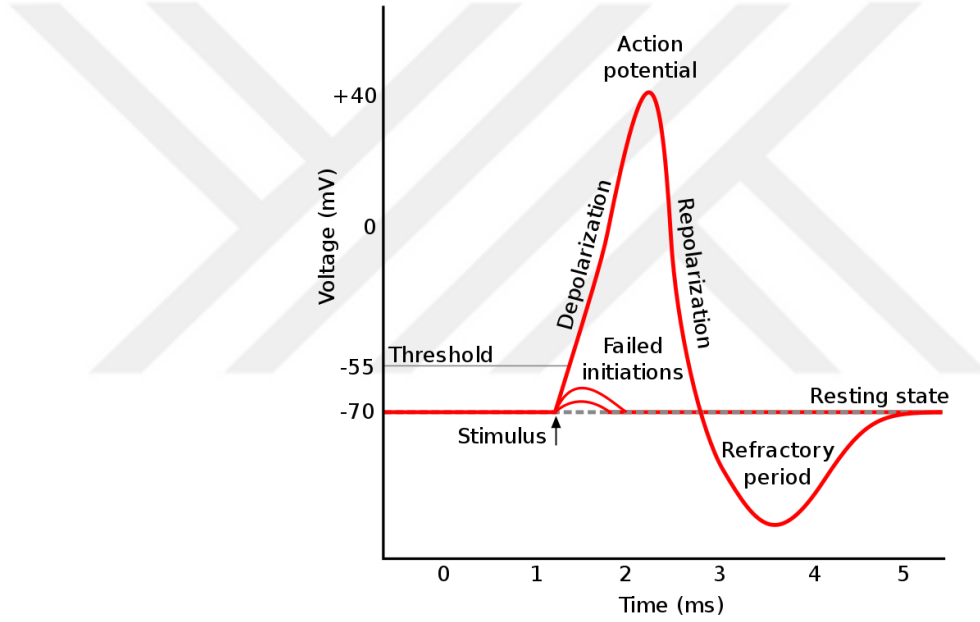
5. Sinir Aksiyon Potansiyeli:

Sinir sisteminde sinyal iletimi sinir hücresinin içi ve dışı arasındaki istirahat potansiyel farkının ani geçici değişmesi ve bu değişikliğin hücre zarı boyunca yayılması ile oluşur. Hücre zarının potansiyelindeki bu geçici değişim aksiyon potansiyeli olarak adlandırılır. Oluşan aksiyon potansiyeli akson boyunca ilerleyerek hedef organa ulaşır ve end organ cevabı elde edilir.

Hücre zarı çevresinde negatif ve pozitif yüklü iyonlar bulunur. İstirahat durumunda hücre içinde negatif yüklü iyonlar yoğun iken hücre dışında pozitif yüklü iyonlar daha fazladır. Hücre zarının istirahat durumunda iyon geçişine izin vermemesi mevcut yük dağılımını korunmasını sağlar. Bu yük dağılımının sonucunda hücre içi ve dışı arasında zar potansiyeli olarak adlandırılan bir potansiyel fark meydana gelmektedir. İstirahat durumunda bu zar potansiyeli nöronlar için -60 ile -70 mV arasındadır. Nöron hücresine gelen uyarı ile istirahat potansiyeli aksiyon potansiyelini tetiklemek için pozitif yönde değişir ve aksiyon potansiyeli ile birlikte zar potansiyeli +40 mV ile +60 mV değerlerine ulaşabilir. İstirahat durumunda negatif yük ile polarize olmuş hücre zarındaki pozitif yöndeki değişime 'depolarizasyon' denir. Bu evrede voltaja bağımlı Na⁺ kanalları açılarak Na⁺ karşı geçirgenlik artar, büyük miktarda

pozitif yüklü olan Na^+ iyonu hücre içine alınır. Depolarizasyonun ardından voltaja bağımlı Na^+ kanalları kapanmaya başlar ve buna cevap olarak açılan voltaj bağımlı potasyum (K^+) kanalları açılır ve K^+ iyonları dışarı çıkararak yeniden normal negatif zar istirahat potansiyeli oluşturur. Bu döneme 'repolarizasyon' dönemi denir. Voltaj bağımlı K^+ kanallarının yavaş kapanmasına bağlı olarak bir 'hiperpolarizasyon' dönemi görülür.

Repolarizasyondan sonra uyarılara cevabın olmadığı refrakter dönem başlar ve bu dönem sonrasında sinir hücreleri yeni uyarıları alabilecek duruma gelir. Tüm bu işlemler saniyenin binde biri gibi kısa bir sürede meydana gelir (103,104) (Şekil.11).



Şekil.11. Aksiyon Potansiyeli (105)

6. Sinir İletimini Etkileyen Faktörler

Eşik değerin üzerindeki uyarılar sinir liflerinde aksiyon potansiyeli oluşturur ve akson boyunca yayılmasını sağlar. Aksiyon potansiyelinin yayılma hızını etkileyen faktörler; sinir lifinin eşik değerinin düşük olması, hücre sitoplazmasının direncinin az olması, hücre zarı üzerindeki Na^+ kanallarının fazlalığı, miyelin kılıfın kalınlığındaki artış, akson çapının artması ve ısı artışı aksiyon potansiyeli iletim hızını artırır (103,104).

7. Ağrı:

Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği (International Association for the Study of Pain, IASP) tarafından yapılmış olan tanıma göre ağrı; organik bir nedene bağlı olarak ya da olmayarak vücudun herhangi bir yerinden başlayıp, kişinin deneyimleri ile ilişkili olarak emosyonel, sensoryal, hoş olmayan bir duygudur (106,107).

Bir uyarının ağrı olarak değerlendirilebilmesi için vücudun çeşitli yerlerine dağılmış olan reseptörlerin stimuluslarla uyarılması ile ağrı hissi oluşması, oluşan ağrı hissini sinirler aracılığı ile beyine iletilmesi ve beyinde ağrı olarak algılanıp yorumlanması gerekir. Bu mekanizmadaki herhangi bir basamaktaki sorun uyarının ağrı olarak değerlendirilmesine engel olur.

Ağrı hissini ağrı reseptörleri tarafından alınıp beyine iletiildiği düşünülmektedir. Ağrı hissi yüzeysel, derin ve visseral dokularda bulunan miyelinli ve miyelinsiz sinir lifleri tarafından alınır.

Mekanik, termal, kimyasal ve elektriksel uyarılar sinir liflerini uyararak temel enerji tipleridir.

Ağrılı uyarılar bölgesel olarak bradikinin, serotonin 5-HT (5 hidroksitriptamin), histamin, prostoglandinler gibi ağrı mediatörlerinin açığa çıkmasına neden olurlar ve bu mediatörler ağrı reseptörlerini uyarır. Ağrı hissini alan reseptörlere bağlı afferent lifler ağrıyı önce medulla spinalise oradan da beyine iletirler. Ağrı hissini iletilmesinde A-Delta ve C lifleri görev alır. A-Delta lifleri 2-35 m/sn hızla ileti yapabilen, ince miyelinli liflerdir. Mekanik ve elektriksel uyarıların neden olduğu keskin ve batıcı tipteki ağrıların iletiminden sorumludurlar. C lifleri ise 0.7-1.5 m/sn hızla ileti yapabilen ince miyelinsiz afferent lifler olup sızı ve karıncalanma gibi yanıcı, devamlı ve gecikmiş karaktere sahip ağrıyı taşırlar (107,108,109).

7.1.Ağrının Sınıflaması

7.1.1.Ağrının başlama süresine göre sınıflaması;

-Akut ağrı

-Kronik ağrı

7.1.2.Mekanizmalarına göre ağrı sınıflaması;

-Nosiseptif ağrı

-Nöropatik ağrı

-Deafferantasyon ağrısı

-Reaktif ağrı

-Psikojenik ağrı

7.1.3.Kaynaklandığı bölgeye göre ağrı sınıflaması;

-Somatik ağrı

-Visseral ağrı

-Sempatik ağrı

-Periferal ağrı

gibi sınıflamalar yapılabilir (110-114).

7.2.Ağrı Yolakları

7.2.1.Nosiseptif çıkıcı yolaklar

-Spinotalamik yol

-Spinomezensefalik yol

-Spinoretiküler yol

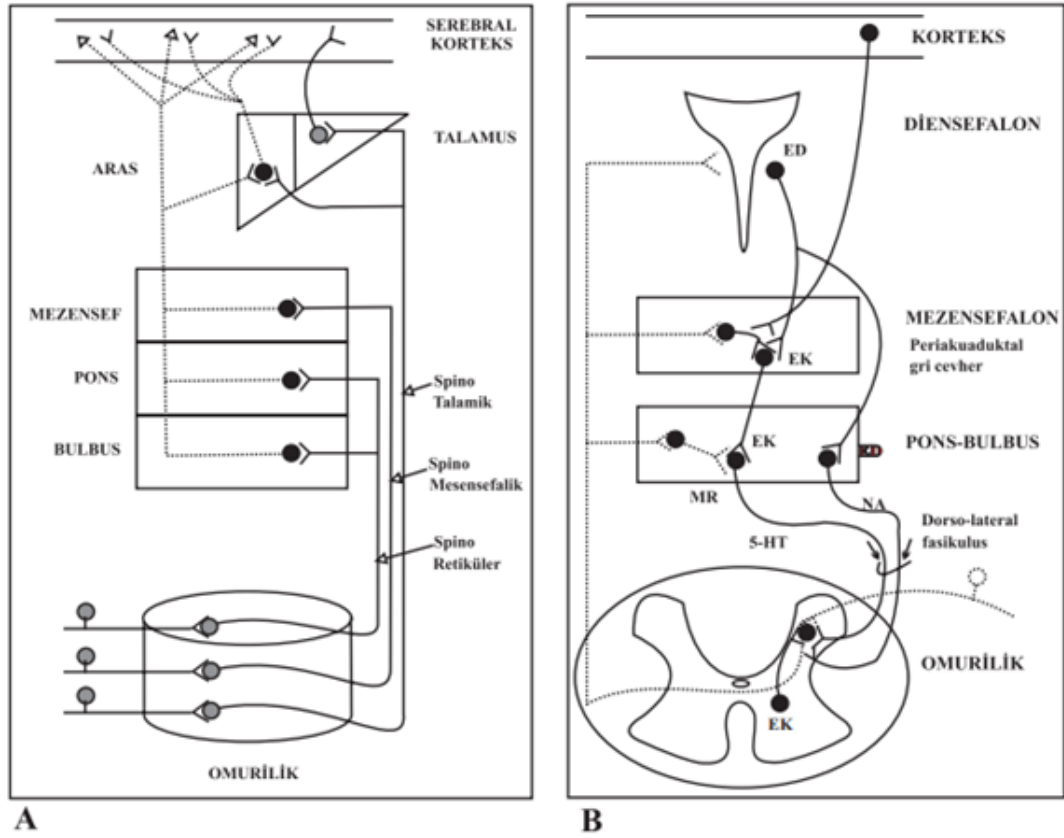
7.2.2. Antinosiseptif inisi yolaklar:

Endojen opioid peptidlerin bulunmasıyla ile ağrılı uyarılara karşı spinal ve supraspinal düzeyde enkefalinerjik ve monoaminerjik bir inhibisyon varlığı gösterilmiştir. 3 gruba ayrılırlar.

-1.grup: Mezensefalik periaquaduktal gri cevherde yer alan enkefalinerjik nöronlardır.

-2.grup: Retiküler formasyonun bazı çekirdeklerinden başlayıp, medulla spinalis arka boynuzunda sonlanan noradrenerjik nitelikteki lifler.

-3.grup: Antinosiseptif spinal segmental mekanizmada özellikle spinal yerleşimli enkefalinerjik nöronlar rol oynar (111,115) (Şekil.12).



Şekil.12. Ağrı Yolakları, A: Çıkan ağrı yolları, B: İnen ağrı yolları (115)

7.3. Ağrı ölçüm modelleri (116,117)

7.3.1.Termal uyarı kullanılan testler:

1. Tail-Flick testi
- 2.Tail immersiyon testi
3. Pençe çekme testi
4. Hot Plate testi
5. Soğuk uyarı testi

7.3.2.Mekanik uyarı kullanılan testler:

Mekanik uyaran yardımıyla ağrı eşiği değerinin belirlenmesinde kullanılır.

Randall-Selitto metodu ile Dinamik Plantar Esteziyometre kullanılarak mekanik ağrı eşiği değerleri ölçülür (117).

7.3.3.Elektriksel uyarı kullanılan testler:

1. Kuyruğun elektriksel uyarılması
2. Diş pulpasının elektriksel uyarılması
3. Ekstremitenin elektriksel uyarılması

7.3.4.Kronik ağrı ölçüm modelleri:

1. İntradermal enjeksiyonlar (Formalin testi, pençe yalama testi)
2. İritan ajanların intraperitoneal enjeksiyonu (Asetik asit ile kıvrınma, writhing testi)
3. İçi boş organların uyarılması (116,117).

7.4. Hot Plate Testi

Testte 50-56°C'ye ısıtılmış, etrafı hayvanın hareket kabiliyetini sınırlamak için cam silindir ile çevrelenmiş bir yüzeye deneğin bırakılmasından hayvanın arka ayağını

çekmesine kadar geçen süre hesaplanarak değerlendirme yapılır. Hayvanın göstereceği tepki arka ayağın çekilmesi olabileceği gibi ayak çekme ve yalama, tekmeleme, sallama, dans etme veya sıçrama şeklinde olabilir. Reaksiyon süresinin bireysel değişkenlik göstermesi testin en büyük dezavantajıdır. Bu teste verilen cevaplar ağrının merkezi ve periferal mekanizmalarının bir birleşimidir (116,118).



3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarında Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 17.01.19 tarihli 65202830-050.04.04-242 sayılı onayı alınarak yapılmıştır. Çalışmada Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) tarafından mali destek sağlanmıştır.

3.1.Kullanılan Hayvanlar

Çalışma için Cumhuriyet Üniversitesi Deneysel Hayvanları Merkezi'nde üretilip olanyaklaşık ağırlıkları 230-250 gr olan (ortalama ağırlık 240 ± 30) 32 adet, Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Çalışmamızda erkek rat kullanılmasının amacı, yapılacak olan cerrahi girişimler ve iyileşme sürecine hormonların etkisinin azaltılmasıdır. Tüm denekler çalışmadan 2 hafta önce deney laboratuvarına yerleştirildi.

3.2.Hayvanların Barınma Ve Bakım Koşulları

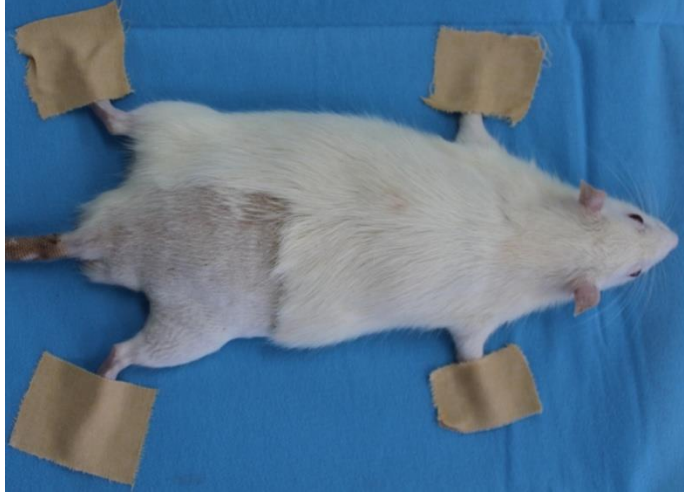
Çalışma süresince ratlar tekli kafeslere kondu, standart laboratuvar koşullarında (gece/gündüz=12/12 saat, sıcaklık $21^{\circ} \pm 2^{\circ}$, nem oranı %50) yaşatıldı. Standart laboratuvar yemi ve damıtık su ile beslendi.

3.3.Kullanılan Anestezik Ajanlar

Çalışma sırasında sıçanların anestezisi için Ketamin ve Xsylasine kullanıldı. Ketamin 90 mg/kg dozunda, Xsylasine 3 mg/kg dozunda uygulandı. İşlemler sonrasında sıçanlara yüksek doz anestezik (sodyum pentobarbitol-200 mcg/kg) altında dekapitasyon yapıldı. Tüm kullanılan ajanlar intraperitoneal yolla uygulanmıştır.

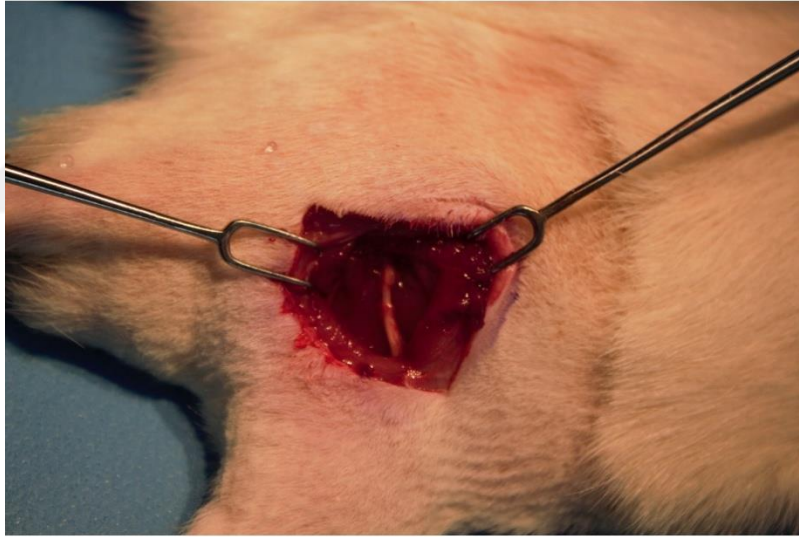
3.4.Çalışma Modeli

Deneysel hayvanlarına genel anestezisi verildikten sonra, sağ femur cildi vertebradan dize kadar tıraşlandı, müdahale tahtasına prone pozisyonda yatırılarak tesbit edildi. Operasyon bölgesinde povidon iodin ile antiseptisi sağlandı (**Şekil.13**).



Şekil.13.Cerrahi öncesi hazırlık

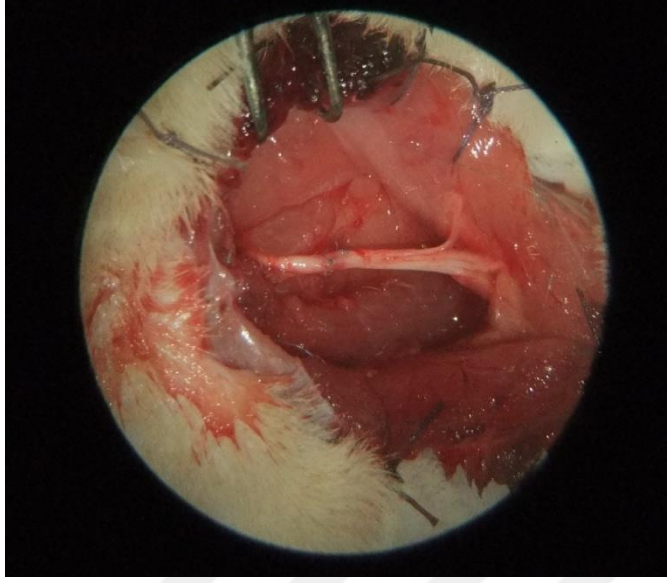
Sıçanların sağ kalça eklemi katlantısına uygun cilt kesisi yapıldı. Biceps femorois kası bulunarak ekarte edildi ve siyatik sinir ortaya konuldu (**Şekil.14**).



Şekil.14. Siyatik sinirin ortaya konulması

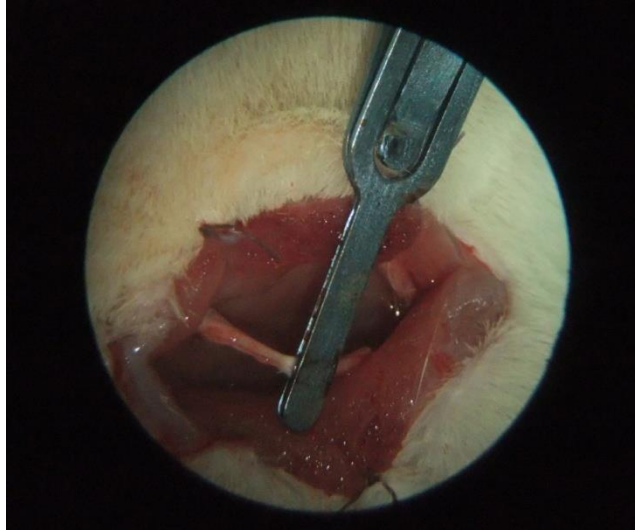
Yaralanma modelleri oluşturulmadan önce elektrofizyolojik değerlendirme ve Hot Plate testi yapıldı. Sonrasında 16 sıçanın sağ siyatik siniri keskin temiz bistüri ile siyatik çentiğın 1 cm distalinden kesilerek nörotomezis yapıldı.

Kesilen siyatik sinirler mikroskop altında 8.0 yuvarlak monoflaman prolen ile primer olark sepere dikişlerle uygun şekilde tek cerrah tarafından onarıldı (**Şekil.15**).



Şekil.15.Siyatik sinirin kesilip sonrasında primer onarımın yapılması sonrası mikroskop altında görünümü

Diğer 16 adet sıçanın sağ siyatik sinir siyatik çentiğın 1 cm distalinden 1 dakika süre ile vasküler klemp ile kelmplenerek ezilme tipi yaralanma oluşturuldu (119) (**Şekil.16**). Operasyon sonrası onarım hattı serum fizyolojik ile yıkandı. Cilt 4/0 keskin prolen sütün ile onarıldı. Povidon iodine ile pansuman yapılarak operasyona son verildi.



Şekil.16. Siyatik sinirde vasküler klemp ile ezilme yaralanması oluşturulmasının mikroskop altında görünümü

3.5.Hayvanların Gruplandırılması Ve Cerrahi Yöntem

GRUP 1 (primer sinir onarımı (PSO) grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarına Hot-Plate testi yapıldı sonrasında sağ siyatik sinirlerinde kesi öncesi elektrofizyolojik ölçümler alındı. Ölçüm sonrası sinir kesisi oluşturulup, kesi mikroskop altında çalışma modelinde anlatıldığı gibi onarıldı. Onarım sonrası 12 hafta süre ile sıçanlara herhangi bir ek işlem uygulanmadı. 12 haftalık iyileşmenin sonunda fonksiyonel değerlendirme için Hot-Plate testi yapıldı, sonrasında genel anestezi altında sağ siyatik sinir eski insizyon hattından girilerek ortaya konuldu ve onarım sonrası elektrofizyolojik ölçümleri alındı. Sıçanlar sakrifiye edilmeden önce histopatolojik değerlendirme için, sağ siyatik sinirden anastomoz hattının yaklaşık 1 er cm distal ve proksimalini içerecek şekilde sinir biyopsileri alındı ve formol içinde saklandı. Ayrıca bu gruptaki hayvanların sol bacaklarından sakrifikasyon öncesi siyatik sinir biyopsisi alındı ve histopatolojik değerlendirme yapıldı.

GRUP 2 (PSO+D₃ vitamini grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarına Hot-Plate testi yapıldı sonrasında sağ siyatik sinirlerinde kesi öncesi elektrofizyolojik ölçümler alındı. Ölçüm sonrası sinir kesisi oluşturulup, kesi mikroskop altında çalışma modelinde anlatıldığı gibi onarıldı. Onarım sonrası iyileşme döneminde sıçanlara 1, 3, 5 ve 7. günlerde intraperitoneal 1mcg/kg dozunda D₃ vitamini enjeksiyonu uygulandı. 12 haftalık iyileşmenin sonunda fonksiyonel değerlendirme için Hot-Plate testi yapıldı, sonrasında genel anestezi altında sağ siyatik sinir eski insizyon hattından girilerek ortaya konuldu ve onarım sonrası elektrofizyolojik ölçümleri alındı. Sıçanlar sakrifiye edilmeden önce histopatolojik değerlendirme için, sağ siyatik sinirden anastomoz hattının yaklaşık 1 er cm distal ve proksimalini içerecek şekilde sinir biyopsileri alındı ve formol içinde saklandı. Ayrıca bu gruptaki hayvanların sol bacaklarından sakrifiye edilmeden önce siyatik sinir biyopsisi alındı ve histopatolojik değerlendirme yapıldı.

GRUP 3 (siyatik sinirin ezilerek yaralandığı (SSEY) grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarına Hot-Plate testi yapıldı sonrasında sağ siyatik sinirlerinde kesi öncesi elektrofizyolojik ölçümler alındı. Ölçüm sonrası sinirde, çalışma modelinde anlatıldığı gibi ezilme tipi yaralanma oluşturuldu. Yaralanma sonrası 12 hafta süre ile sıçanlara herhangi bir ek işlem uygulanmadı. 12 haftalık iyileşmenin sonunda

fonksiyonel değerlendirme için Hot-Plate testi yapıldı, genel anestezi altında sağ siyatik sinir eski insizyon hattından girilerek ortaya konuldu ve elektrofizyolojik ölçümleri alındı. Sıçanlar sakrifiye edilmeden önce histopatolojik değerlendirme için, sağ siyatik sinirden ezilme yaralanması yapılan bölgenin yaklaşık 1 er cm distal ve proksimalini içerecek şekilde sinir biyopsileri alındı ve formol içinde saklandı

GRUP 4 (SSEY+D3 vitamini grubu): Bu gruptaki deney hayvanlarına Hot-Plate testi yapıldı sonrasında sağ siyatik sinirlerinde kesi öncesi elektrofizyolojik ölçümler alındı. Ölçüm sonrası sinirde, çalışma modelinde anlatıldığı gibi ezilme tipi yaralanma oluşturuldu yaralanma sonrası bu gruptaki sıçanlara 1, 3, 5 ve 7. günlerde intraperitoneal 1mcg/kg dozunda D₃ vitamini enjeksiyonu uygulandı. 12 haftalık iyileşmenin sonunda fonksiyonel değerlendirme için Hot-Plate testi yapıldı, genel anestezi altında sağ siyatik sinir eski insizyon hattından girilerek ortaya konuldu ve elektrofizyolojik ölçümleri alındı. Sıçanlar sakrifiye edilmeden önce histopatolojik değerlendirme için, sağ siyatik sinirden ezilme yaralanması yapılan bölgenin yaklaşık 1 er cm distal ve proksimalini içerecek şekilde sinir biyopsileri alındı ve formol içinde saklandı.

3.6.Klinik Takip Ve Değerlendirme

Yapılan çalışmada sıçanların sağ siyatik sinirine, kesi yapılmadan veya ezilme yaralanması oluşturulmadan önce ve sinir onarımı uygulandıktan veya ezilme yaralanması oluşturulduktan 12 haftalık iyileşme süreci sonrası elektrofizyolojik değerlendirme ve Hot-Plate testi yapıldı, sonrasında histopatolojik incelemeye gönderilmek üzere sinir biyopsisi alındı.

3.7.Elektrofizyolojik Değerlendirme

Sıçanlarda işlem öncesi ve 12 haftalık iyileşmenin sonunda genel anestezi altında rejenerasyonun değerlendirmesi için elektrofizyolojik testler yapıldı. Sağ siyatik sinirler siyatik çentikten trifurkasyon bölgesine kadar disseke edilerek etraf dokudan serbestlendi. Sıçanın sakral bölgesine topraklama için iğne eletrot yerleştirildi. İşlem öncesi sinire uyarı veren platin elektrot proksimal ucu siyatik çentikten yaklaşık 5 mm distale, distal ucu ise proksimal ucun 10 mm distaline yerleştirildi. İşlem sonrasında proksimal uç PSO ve PSO+D₃ grubunda onarım hattının

5 mm proksimal ve distaline, SSEY ve SSEY+D₃ gruplarında siyatik çentiğın 10 mm distalinde ezilme oluşturulan alanın 5 mm distal ve proksimaline yerleştirildi. Sıçanların sağ siyatik sinirlerinin aksiyon potansiyel (AP) parametreleri (amplitude, Na⁺ ve K⁺ iyon kanalları kinetikleri) ve AP'nin iletim hızı değerlendirildi. Ölçümlerde Animal Bio ADinstruments amplifikatör ve stimülatör ve platin prob kullanıldı. Analizler ADİNSTRUMENTES Lab Chart 7 programında yapıldı. Hasar oluşturulmadan önce sıçanlarda AP parametrelerine bakılarak baz değerler hesaplandı ve hasar sonrası değerler ile karşılaştırıldı (**Şekil.17**).



Şekil.17.Elektrofizyolojik değerlendirmenin yapıldığı amplifikatör, stimülatör ve platin prob

3.8.Fonksiyonel Değerlendirme

Fonsiyonel değerlendirme için Hot-Plate testi ile ağrı değerlendirmesi yapıldı.

Değerlendirme her bir sıçan için deney öncesinde ve iyileşme sonrası 12. Hafta sonunda tekrarlandı. Sıçanların her biri Hot Plate cihazına (May AHP 0603 Analgesic Hot Plate Commat, Ankara, Türkiye) sıcaklığı 55±0.5°C'ye ayarlanmış ısı plakaları üzerine bırakıldı. Sıçanların ayaklarının yaralanmasını önlemek için 30 saniyede cevap vermeyince, test kesme süresi (cut-off) kabul edilerek plakadan alındı (**Şekil.18**). Aralıklarla Hot Plate ölçümleri yapıldı. Sıçanların plakaya bırakılmasından arka ayağını yalama/sıçrama süresi kronometre yardımıyla ölçülerek kaydedildi ve ölçümlerin ortalaması alındı. %MPE (maximum possible effect) değerleri hesaplandı.

$$\% \text{ MPE} = \left[\frac{(\text{test süresi} - \text{bazal latans süresi})}{(\text{test kesme süresi} - \text{bazal latans süresi})} \right] \times 100$$



Şekil.18.Hot Plate cihazı

3.9.Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik değerlendirme aynı patolog tarafından doku örnekleri kodlanarak hangi grubun hangi kodla kodlandığını bilmeden gerçekleştirilmiştir. 12.hafta sonunda sinir makroskopik olarak değerlendirildi. Sonrasında mikroskopik inceleme için fiksasyon amacıyla % 10'luk formaldehitte 24 saat bekletilen doku örnekleri doku takip işlemine alındı. Doku Takip Cihazı (Sacura marka) ile 15 saat süren doku takip işleminde alkol, ksilen ve parafin aşamalarından geçirilerek dehidratasyon, şeffaflandırma ve doku sertleştirme işlemi tamamlandı. Daha sonra doku gömme cihazında (ThermoShandon marka) parafine gömme işlemi yapılarak dokular blok haline getirildi. Bloklar buzdolabında soğutulduktan sonra mikrotom cihazında (Leica marka) 2.5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitlerin bir kısmı Hematoksilen-Eozin, Toluidin ve Mason Trikrom ile boyamak için normal lama, bir kısmı ise immünohistokimya boyamak için pozitif yüklü lama alındı. Hematoksilen-Eozin, Toluidin ve Mason Trikrom boyama için kesit alınan preparatlar deparafinizasyon işlemi için etüve kaldırılarak 65 derecede 1,5 saat bekletildi. Etüvden çıkarılan preparatlar ksilende 20 dakika bekletildi. Etil alkol serilerinde (%100,%90,%80) 10 dakika tutularak çeşme suyunda yıkandı. Hematoksilen-Eozin boyanacak preparatlar yıkama işleminden sonra Hematoksilen boyasında 2,5 dakika bekletildi. Tekrar çeşme suyunda yıkandıktan sonra asit alkol solüsyonuna 1 defa batırılıp tekrar çeşme suyuna alındı. Amonyaklı suya 3 defa batırılarak tekrar çeşme suyunda yıkamaya alındı. Yıkama işleminden sonra Eozin solüsyonuna 1,5 dakika bekletildi. Alkol serilerine (%80,%90,%10) 4-5 defa batırılarak boyama işlemi

tamamlandı. Toluidin boyanacak preparatlar boyama kiti ile boyandı. Mason Trikrom boyanacak preparatlar boyama kiti ile boyandı. Boyaması tamamlanan preparatlar kurutulmak üzere etüve kaldırıldı. Etüvden çıkarıldıktan sonra ksilende şeffaflanması için 10 dakika bekletildi. Ksilenden çıkarılan preparatlara entellan damlatılarak lam üzerine lamel kapatıldı. Pozitif yüklü lamlara alınan preparatlara VentanaBenchmark XT cihazında DAB DETECTION KİTİ ile immünohistokimya boyama yapıldı. S100 (SantaCruz, clone: S1-61,1/100 Dilüsyon, 32 dkinkübasyon süresi) ve NF (SantaCruz, clone: 4E10-D8-F4,1/100 Dilüsyon, 32 dkinkübasyon süresi) antikoru ile immünohistokimya boyamaları yapılan preparatlara daha sonra entellan damlatılarak kapama işlemi yapıldı ve mikroskopik değerlendirme aşamasına geçildi. Kesitler mikroskop (Nikon ECLIPSE 80i) altında x400'lük büyütmelemlerde incelendi.

Kullanılan Boyalar:(120)

Trikrom boyaları: Trikrom yöntemlerinde fosfomolibdik asit veya fosfofungustik asit çeşitli anyonik boyalar ile birleştirilip kullanılır. Hücre dışı materyalin tipi ve miktarı değerlendirilir. Nükleus, hücre dışı kollajen ve sitoplazma değerlendirilebilir.

Hematoksilen- Eozin boyama: Çok çeşitli hücreleri ortaya koyabilmektedir. Çekirdek ve kromatin ayrıntısını çok iyi ortaya koymaktadır.

Toluidin blue boyama: Bazik bir boyadır. Asidik olan yapıları mavinin tonlarında boyar. Mast hücreleri daha iyi değerlendirilebilir.

S-100 boyama: S-100 Protein, Periferik sinir kılıflarının ve melanosit tümörlerinin değerlendirmesinde kullanılır. Glial hücrelerin ve schwann hücrelerinin nükleus ve sitoplazmalarında bulunur. Bu boyama ile schwann hücreleri değerlendirilebilir.

Nöroflaman boyama: Nöroflamanlar nöronların ve uzantılarının intermediyer filamanlarını temsil eder. Bu boyama ile aksonlar daha iyi değerlendirilebilir.

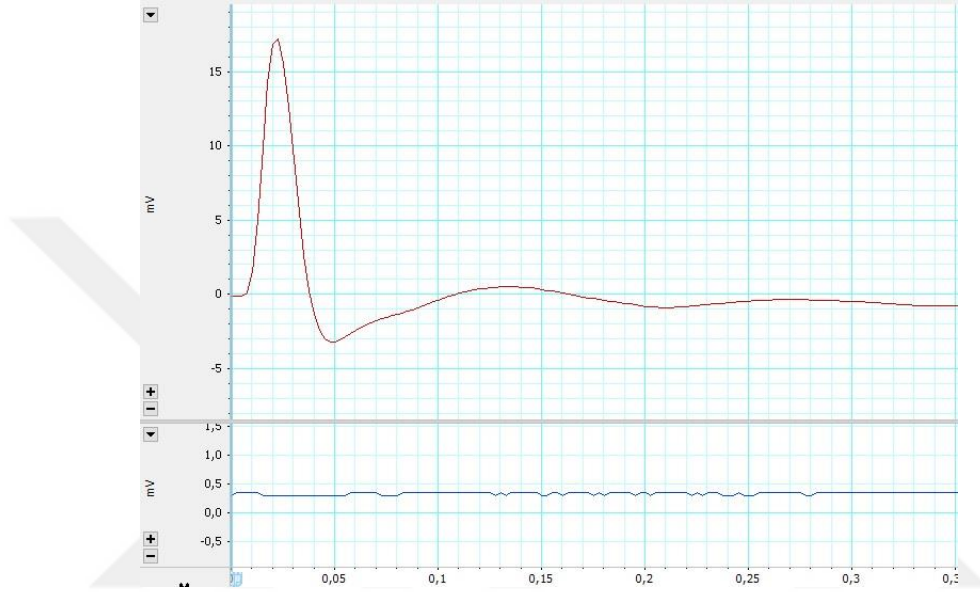
İstatiksel Değerlendirme

Çalışmamızdan elde edilen veriler SPSS (ver:23.0) programına yüklenerek analiz edildi. Gruplardaki ratların sayıları normallik sınavasını sağlayamayacak ($n < 30$) olması sebebi ile parametrik olmayan testler kullanılarak analizler gerçekleştirildi. Buna gore iki kategorili değişkenlerin karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi ve Wilcoxon Rank testi, ikiden fazla kategorili değişkenlerin karşılaştırılması için Kruskal-Wallis H testi ve Firendman F testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişkinin ölçülmesi için Spearman Korelasyon testi ve kategorik testlerin incelenmesi için Ki-Kare testleri kullanıldı. Uygulanacak testlerdeki yanılma düzeyi %5 olarak belirlendi.

4.BULGULAR

12 haftalık çalışma süresinde 1 adet sıçan ölüm nedeni ile çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmaya 31 sıçandan 47 sıyatik sinir dahil edilmiştir ve her bir grup için PSO+D₃ grubunda ölen 1 sıçan nedeni ile 7, diğer gruplarda 8 sıçan kullanılmıştır.

4.1.Elektrofizyolojik Değerlendirme Bulguları



Şekil.19.Aksiyon potansiyeli ölçümü, ADİNSTRUMENTES Lab Chart 7 programı

Tablo.2. İşlem Öncesi-İyileşme Sonrası PSO Gruplarında Δ PP (mV) Değerlendirmesi

Δ PP (mV)	Preop	Postop	P
	Min-Max Ort. \pm SS. (Medyan)	Min-Max Ort. \pm SS. (Medyan)	
PSO	(67-80) 71,75 \pm 4,13 (71,50)	(13-28) 19,38 \pm 4,44 (19,50)	0,001*
PSO+D ₃	(65-80) 74,63 \pm 5,80 (76,00)	(20-33) 26,71 \pm 4,39 (28,00)	0,001*
Grup içi p**	0,273	0,393	

* p<0,05;p<0,001

** Bağımlı Örneklem t Testi kullanıldı; Grup içi p: Student t Testi kullanıldı

Δ PP: Peak to peak

Ratlardan alınan elektrofizyolojik ölçümler sonucunda oluşan Δ PP (mV) değerleri Tablo 2’da yer almaktadır. Ölçüm sonuçlarına göre, işlem öncesi ve iyileşme

sonrası içinde PSO ve PSO+D₃ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark hesaplanamamıştır (p>0,05). Ancak PSO ve PSO+D₃ gruplarının kendi içlerinde işlem öncesi ve iyileşme sonrası ΔPP (mV) değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir (p<0,05). Her iki grupta da iyileşme sonrası ΔPP (mV) değerleri işlem öncesi ΔPP (mV) değerlerine göre düşük hesaplanmıştır.

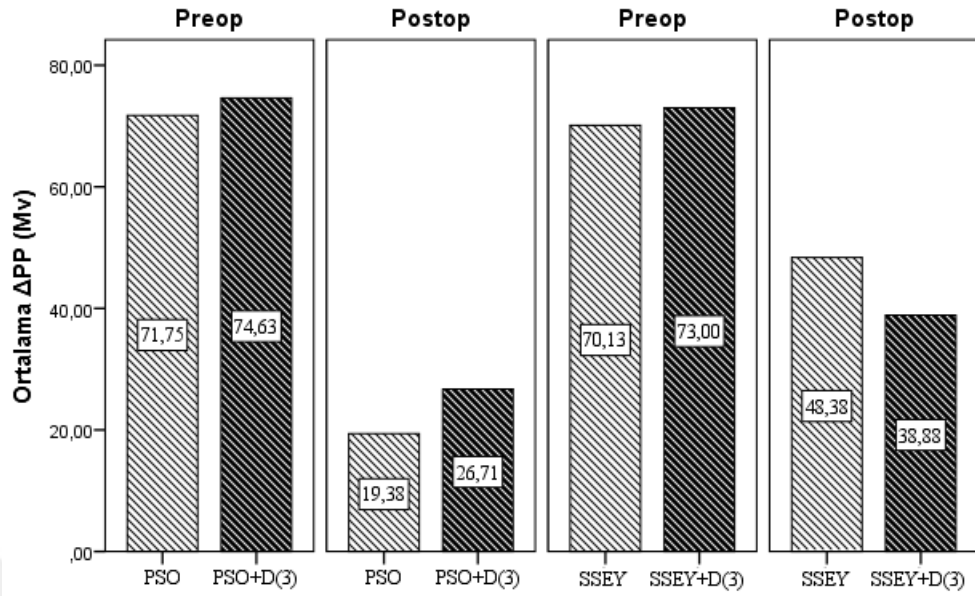
Tablo.3. İşlem Öncesi -İyileşme Sonrası ve SSEY Gruplarında ΔPP (mV) Değerlendirmesi

ΔPP (mV)	Preop	Postop	P
	Min-Max Ort.±SS. (Medyan)	Min-Max Ort.±SS. (Medyan)	
SSEY	(65-80) 70,13±5,41 (69,50)	(33-62) 48,38±9,05 (49,00)	0,001
SSEY+D ₃	(68-79) 73,00±4,14 (71,50)	(28-50) 38,88±5,99 (39,00)	0,001*
Grup içi p**	0,252	0,027	

* p<0,05;p<0,001

** Bağımlı Örneklem t Testi kullanıldı; Grup içi p: Student t Testi kullanıldı

Ratlardan alınan elektrofizyolojik ölçümler sonucunda oluşan ΔPP (mV) değerleri Tablo.3’da yer almaktadır. Ölçüm sonuçlarına göre, işlem öncesi SSEY ve SSEY+D₃ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark hesaplanamamıştır (p>0,05). Ancak iyileşme sonrası SSEY ve SSEY+D₃ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark hesaplanmıştır (p<0,05). İşlem sonrası SSEY grubunun ΔPP (mV) ortalamasının SSEY+D₃ ΔPP (mV) ortalamasından daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Aynı zamanda SSEY ve SSEY+D₃ gruplarının kendi içlerinde işlem öncesi ve iyileşme sonrası ΔPP (mV) değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir (p<0,05). Her iki grupta da iyileşme sonrası ΔPP (mV) değerleri işlem öncesi ΔPP (mV) değerlerine göre düşük hesaplanmıştır.



Şekil.20. İşlem Öncesi İyileşme Sonrası ve PSO-SSEY Gruplarında ΔPP (mV) Dağılımı

Tablo.4. İşlem Öncesi- İyileşme Sonrası PSO Gruplarında ΔDT (ms) Değerlendirmesi

ΔDT (ms)	Preop	Postop	p
	Min-Max Ort.±SS. (Medyan)	Min-Max Ort.±SS. (Medyan)	
PSO	(0,4-1,5) 0,88±0,32 (0,85)	(0,2-2,5) 1,18±0,75 (1,00)	0,327
PSO+D ₃	(0,30-2,25) 0,96±0,74 (0,68)	(1-2) 1,14±0,38 (1,00)	0,175
Grup içi p**	0,399	0,948	

* p<0,05;p<0,001

** Wilcoxon Rank Testi kullanıldı; Grup içi p: Mann Whitney U Testi kullanıldı
ΔDT: Depolarizasyon Süresi

Ratlardan alınan elektrofizyolojik ölçümler sonucunda oluşan ΔDT (ms) değerleri Tablo.4’da yer almaktadır. Ölçüm sonuçlarına göre, işlem öncesi ve iyileşme sonrası içinde PSO ve PSO+D₃ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark hesaplanamamıştır (p>0,05). Aynı zamanda PSO ve PSO+D₃ gruplarının kendi içlerinde işlem öncesi ve iyileşme sonrası ΔDT (ms) değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir (p>0,05).

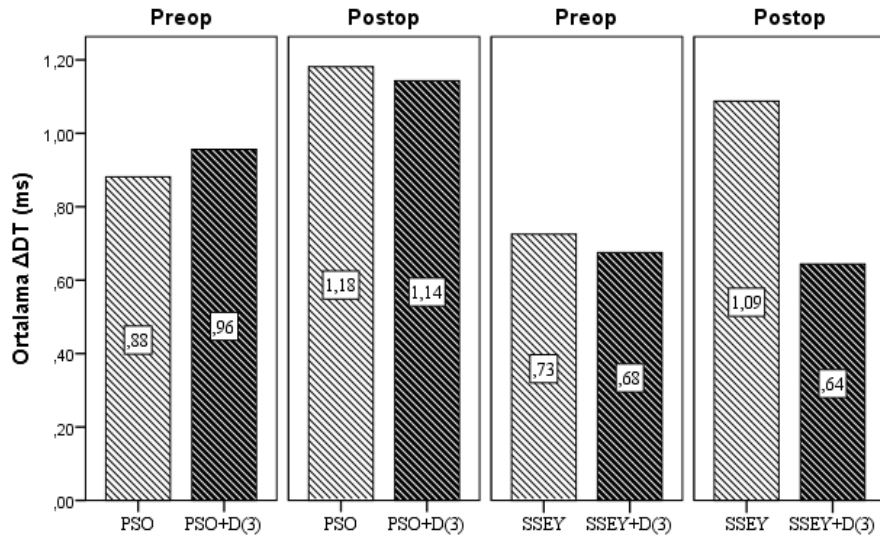
Tablo.5. İşlem Öncesi- İyileşme Sonrası SSEY Gruplarında Δ DT (ms) Değerlendirmesi

Δ DT (ms)	Preop	Postop	p
	Min-Max Ort. \pm SS. (Medyan)	Min-Max Ort. \pm SS. (Medyan)	
SSEY	(0,4-1,0) 0,73 \pm 0,27 (0,70)	(0,50-2,25) 1,09 \pm 0,51 (1,00)	0,173
SSEY+D ₃	(0,45-0,90) 0,68 \pm 0,16 (0,70)	(0,25-2,00) 0,64 \pm 0,60 (0,45)	0,482
Grup içi p**	0,120	0,032	

* p<0,05;p<0,001

** Wilcoxon Rank Testi kullanıldı; Grup içi p: Mann Whitney U Testi kullanıldı

Ratlardan alınan elektrofizyolojik ölçümler sonucunda oluşan Δ DT (ms) değerleri Tablo.5’da yer almaktadır. Ölçüm sonuçlarına göre, işlem öncesi SSEY ve SSEY+D₃ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark hesaplanamamıştır (p>0,05). Ancak iyileşme sonrası SSEY ve SSEY+D₃ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark hesaplanmıştır (p<0,05). İyileşme sonrası SSEY grubunun Δ DT (ms) ortalamasının SSEY+D₃ Δ DT (ms) ortalamasından daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Aynı zamanda SSEY ve SSEY+D₃ gruplarının kendi içlerinde işlem öncesi ve iyileşme sonrası Δ DT (ms)değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir (p>0,05).



Şekil.21. İşlem Öncesi-İyileşme Sonrası ve PSO-SSEY Gruplarında ΔDT (ms)

Dağılımı

Tablo.6. İşlem Öncesi- İyileşme Sonrası PSO Gruplarında ΔRT (ms)

Değerlendirmesi

ΔRT (ms)	Preop	Postop	p
	Min-Max Ort.±SS. (Medyan)	Min-Max Ort.±SS. (Medyan)	
PSO	(0,9-2,5) 1,48±0,57 (1,35)	(1,5-4,8) 3,13±1,11 (3,13)	0,028*
PSO+D ₃	(0,7-3,0) 1,51±0,84 (1,10)	(1,5-7,5) 4,93±2,03 (5,00)	0,028*
Grup içi p**	0,791	0,054	

* p<0,05;p<0,001

** Wilcoxon Rank Testi kullanıldı; Grup içi p: Mann Whitney U Testi kullanıldı

ΔRT: Repolarizasyon süresi

Ratlardan alınan elektrofizyolojik ölçümler sonucunda oluşan ΔRT (ms) değerleri Tablo.6'da yer almaktadır. Ölçüm sonuçlarına göre, işlem öncesi ve iyileşme sonrası içinde PSO ve PSO+D₃ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark hesaplanamamıştır (p>0,05). Ancak PSO ve PSO+D₃ gruplarının kendi içlerinde işlem öncesi ve işlem sonrası ΔRT (ms) değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir (p<0,05). Her iki grupta da iyileşme sonrası ΔRT (ms) değerleri işlem öncesi ΔRT (ms) değerlerine göre yüksek hesaplanmıştır.

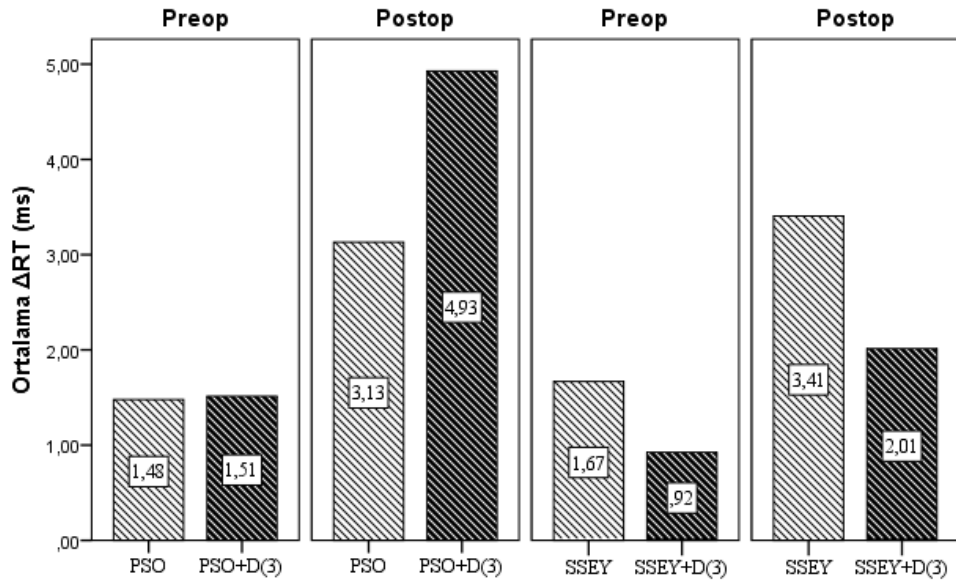
Tablo.7. İşlem Öncesi- İyileşme Sonrası SSEY Gruplarında Δ RT (ms)Değerlendirmesi

Δ RT (ms)	Preop	Postop	p
	Min-Max Ort. \pm SS. (Medyan)	Min-Max Ort. \pm SS. (Medyan)	
SSEY	(0,7-3,7) 1,67 \pm 1,26 (0,95)	(1,25-5,00) 3,41 \pm 1,41 (3,88)	0,069
SSEY+D ₃	(0,6-2,0) 0,92 \pm 0,45 (0,82)	(0,6-5,0) 2,01 \pm 1,44 (1,38)	0,017*
Grup içi p**	0,139	0,080	

* p<0,05;p<0,001

** Wilcoxon Rank Testi kullanıldı; Grup içi p: Mann Whitney U Testi kullanıldı

Ratlardan alınan elektrofizyolojik ölçümler sonucunda oluşan Δ RT (ms) değerleri Tablo.7’da yer almaktadır. Ölçüm sonuçlarına göre, işlem öncesi ve iyileşme sonrası içinde SSEY ve SSEY+D₃ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark hesaplanamamıştır (p>0,05). Aynı zamanda SSEY ve SSEY+D₃ gruplarının kendi içlerinde işlem öncesi Δ RT (ms) değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir (p>0,05). Ancak iyileşme sonrası Δ RT (ms) değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir (p<0,05). İyileşme sonrası Δ RT (ms) değerleri işlem öncesi Δ RT (ms) değerlerine göre yüksek hesaplanmıştır.



Şekil.22. İşlem Öncesi- İyileşme Sonrası ve PSO-SSEY Gruplarında Δ RT (ms) Dağılımı

Tablo.8. İşlem Öncesi-İyileşme Sonrası PSO Gruplarında Δ DT (ms)+ Δ RT (ms) Değerlendirmesi

Δ DT (ms)+ Δ RT (ms)	Preop Min-Max Ort. \pm SS. (Medyan)	Postop Min-Max Ort. \pm SS. (Medyan)	p
PSO	(1,8-3,5) 2,36 \pm 0,73 (1,98)	(2,5-5,0) 4,31 \pm 1,13 (5,00)	0,025*
PSO+D ₃	(1,00-3,75) 2,47 \pm 1,00 (2,75)	(2,5-8,5) 6,07 \pm 2,11 (6,00)	0,028*
Grup içi p**	0,845	0,050	

* p<0,05;p<0,001

** Wilcoxon Rank Testi kullanıldı; Grup içi p: Mann Whitney U Testi kullanıldı

Ratlardan alınan elektrofizyolojik ölçümler sonucunda oluşan Δ DT (ms)+ Δ RT (ms) değerleri Tablo.8'da yer almaktadır. Ölçüm sonuçlarına göre, işlem öncesi ve iyileşme sonrası içinde PSO ve PSO+D₃ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark hesaplanamamıştır (p>0,05). Ancak PSO ve PSO+D₃ gruplarının kendi içlerinde işlem öncesi ve iyileşme sonrası Δ DT (ms)+ Δ RT (ms) değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir (p<0,05). Her iki grupta da işlem sonrası Δ DT (ms)+ Δ RT (ms) değerleri işlem öncesi Δ DT (ms)+ Δ RT (ms) değerlerine göre yüksek hesaplanmıştır.

Tablo.9. İşlem Öncesi-İyileşme Sonrası SSEY Gruplarında Δ DT (ms)+ Δ RT (ms) Değerlendirmesi

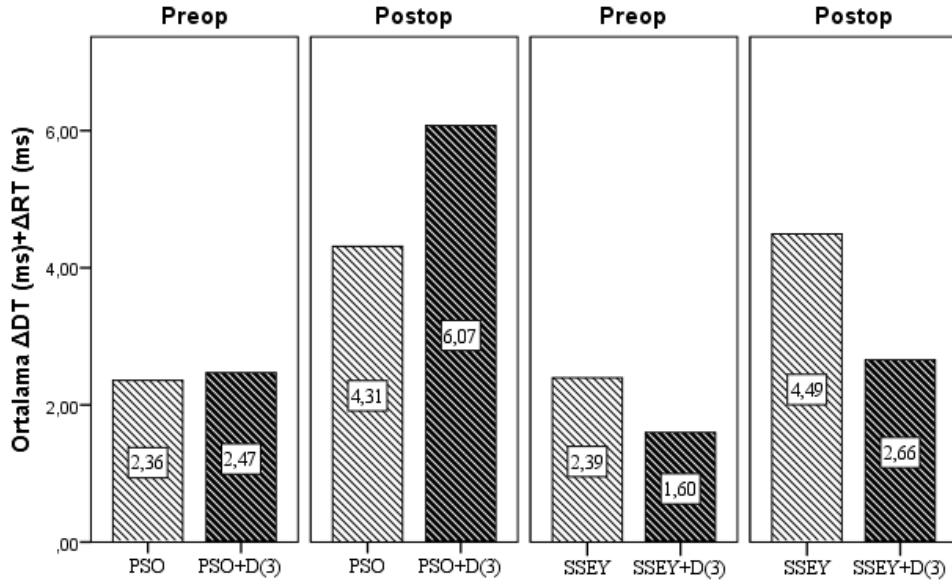
Δ DT (ms)+ Δ RT (ms)	Preop Min-Max Ort. \pm SS. (Medyan)	Postop Min-Max Ort. \pm SS. (Medyan)	p
SSEY	(1,1-4,6) 2,39 \pm 1,40 (1,90)	(2,25-6,20) 4,49 \pm 1,18 (4,75)	0,036*
SSEY+D ₃	(1,3-2,9) 1,60 \pm 0,55 (1,35)	(1-7) 2,66 \pm 2,00 (1,88)	0,208
Grup içi p**	0,055	0,027	

* p<0,05;p<0,001

** Wilcoxon Rank Testi kullanıldı; Grup içi p: Mann Whitney U Testi kullanıldı

Ratlardan alınan elektrofizyolojik ölçümler sonucunda oluşan Δ DT (ms)+ Δ RT (ms) değerleri Tablo.9'da yer almaktadır. Ölçüm sonuçlarına göre, işlem öncesi SSEY ve SSEY+D₃ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark hesaplanmamıştır

($p>0,05$). Ancak iyileşme sonrası SSEY ve SSEY+D₃ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark hesaplanmıştır ($p<0,05$). İşlem sonrası SSEY grubunun ΔDT (ms)+ ΔRT (ms) ortalamasının SSEY+D₃ ΔDT (ms)+ ΔRT (ms) ortalamasından daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Aynı zamanda SSEY grubunda kendi içlerinde işlem öncesi ve iyileşme sonrası ΔDT (ms)+ ΔRT (ms) değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir ($p<0,05$). SSEY grubunda iyileşme sonrası ΔDT (ms)+ ΔRT (ms) değerleri işlem öncesi ΔDT (ms)+ ΔRT (ms) değerlerine göre yüksek hesaplanmıştır. İyileşme sonrası ΔDT (ms)+ ΔRT (ms) değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir ($p>0,05$).



Şekil.23. İşlem Öncesi- İyileşme Sonrası PSO-SSEY Gruplarında ΔDT (ms)+ ΔRT (ms) Dağılımı

4.2.Fonksiyonel Değerlendirme Bulguları

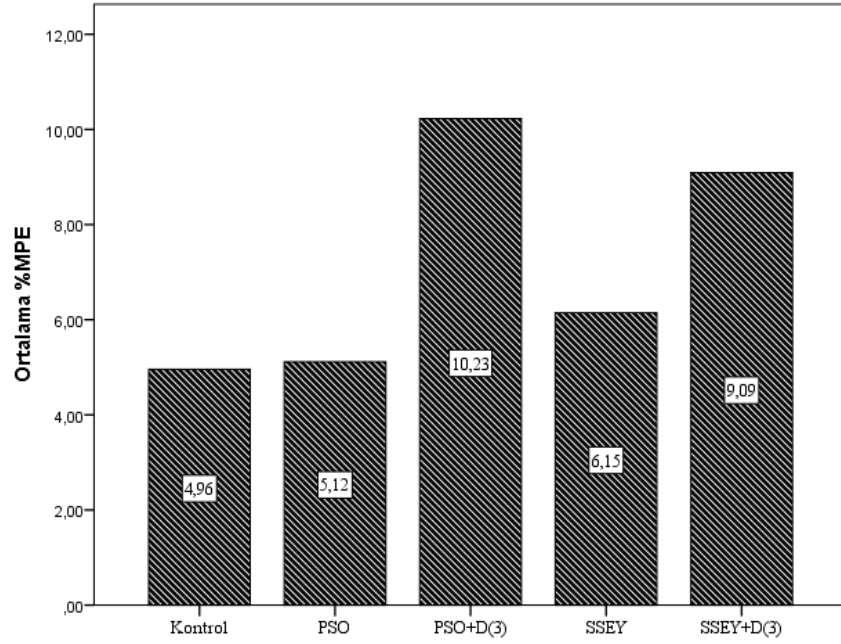
Tablo.10. Hot Plate Testi Ölçümlerinin Gruplara Göre Değerlendirmesi

%MPE	Min-Max Ort.±SS. (Medyan)	p**	Post-Hoc p**
Kontrol	(6,1-7,9) 7,00±0,65 (7,00)		
PSO	(6,4-8,2) 7,04±0,56 (6,90)		3>1 3>2
PSO+D ₃	(7,1-9,1) 8,28±0,63 (8,40)	0,001*	3>4 5>1
SSEY	(6,1-8,2) 7,29±0,87 (7,30)		5>2 5>4
SSEY+D ₃	(7,1-8,9) 8,00±0,72 (8,00)		

* p<0,05; p<0,001

** Kruskal Wallis testi kullanıldı; Post-Hoc(p): Mann Whitney U Testi kullanıldı

Ratlardan alınan ağrı analjezi ölçümleri sonucunda oluşan %MPE değerleri Tablo.10'da yer almaktadır. Ölçüm sonuçlarına göre, çalışmaya dahil edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görülmektedir (p<0,05). Farkın olduğu grupları ortaya çıkarmak amacıyla yapılan analizde; D₃ eklenmiş grupların PSO ve SSEY gruplarının kendi aralarında %MPE ortalaması farklı değildir (p>0,05), ancak D₃ eklenmiş gruplar ile eklenmemiş gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık hesaplanmıştır (p<0,05). PSO+D₃ grubu %MPE değeri Kontrol, PSO ve SSEY gruplarının %MPE ortalamalarından daha yüksektir. Benzer şekilde, SSEY+D₃ grubu %MPE değeri Kontrol, PSO ve SSEY gruplarının %MPE ortalamalarından daha yüksektir.

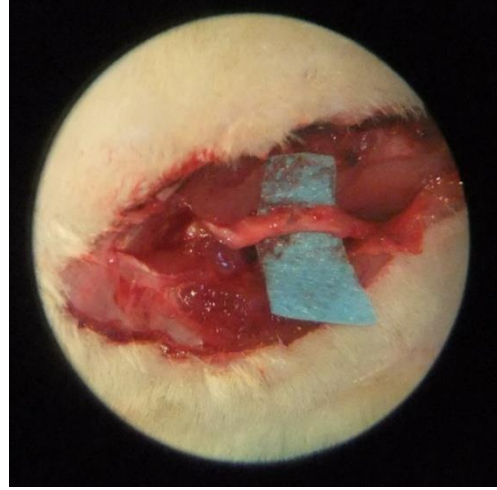


Şekil.24. Hot Plate testi Ölçümlerinin Gruplara Göre Dağılımı

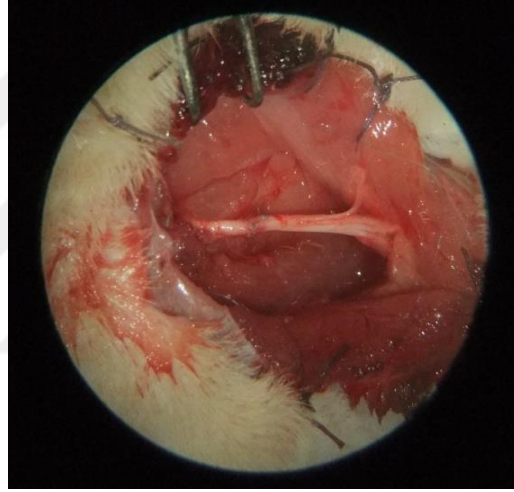
4.3.Histopatolojik Değerlendirme Bulguları

Makroskobik inceleme:

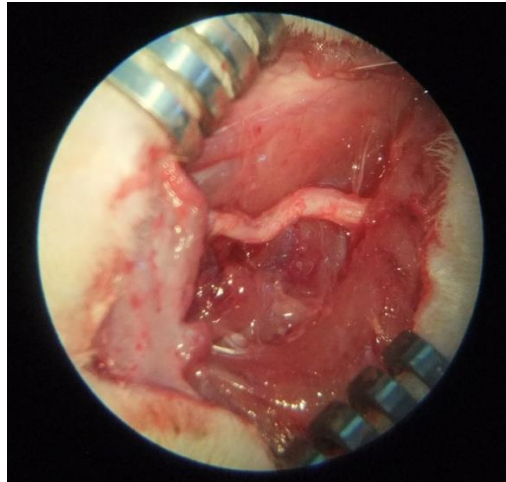
Cilt üzerindeki sütür hatlarında, yara iyileşmesinde ve onarım yapılan kaslarda problem gözlemlenmedi. Siyatik sinir eksplorasyonu yapıldığında anastomoz yapılan grupların sinirlerinin intakt olduğu görüldü. Hiçbir grupta koaptasyon ve ezilme hattında nöroma formasyonu ve çevre dokulara yapışıklık görülmedi. Sonrasında mikroskobik inceleme için koaptasyon ve ezilme hattının 1'er cm proksimal ve distalini içerecek şekilde sinir dokusu eksize edildi, sonrasında % 10 luk formaldehitte en az 24 saat bekletilen doku örnekleri doku takip işlemine alındı.



Şekil.25. PSO grubu- 12.haftada iyileşme sonrası mikroskopik görünümü



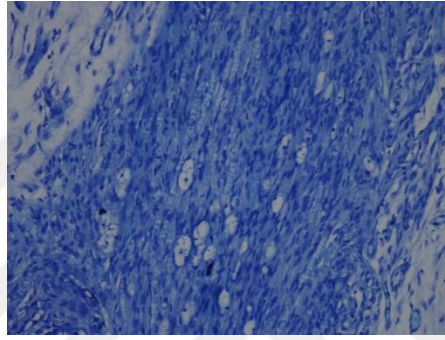
Şekil.26. PSO+D₃ grubu- 12.haftada iyileşme sonrası mikroskopik görünümü



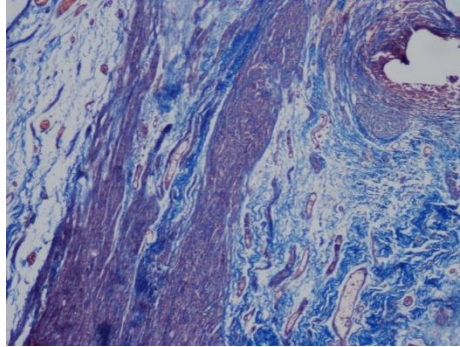
Şekil.27. SSEY+ D₃ grubu- 12.haftada iyileşme sonrası mikroskopik görünümü

Mikroskopik İnceleme:

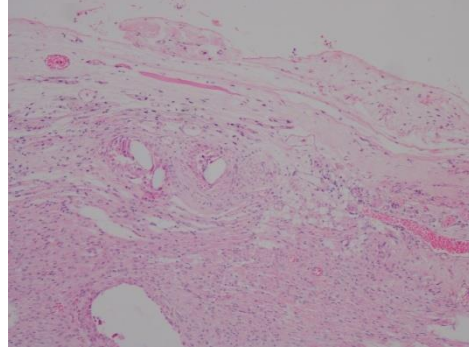
Siyatik sinir kesitlerinin mikroskopik incelenmesinde, sinirin, epinörium ile çevrili olduğu gözlemlendi. Köpük hücreleri (makrofajlar), nodül oluşumu varlığı (nöromanın başlangıcı olarak kabul edildi), kollajen varlığı değerlendirildi. Bazı gruplarda Schwann hücrelerinde çap artışı gözlemlendi ve çap artışı görülen Schwann hücrelerinin ortamdaki yüzdeleri $\leq\%10$, $\%10-50$, $\geq\%50$ olarak gruplandırıldı. Akson çap artışı olan gruplarda, ortamdaki yüzdelerine göre $\leq\%10$, $\%10-50$, $\geq\%50$ olarak gruplandırıldı.



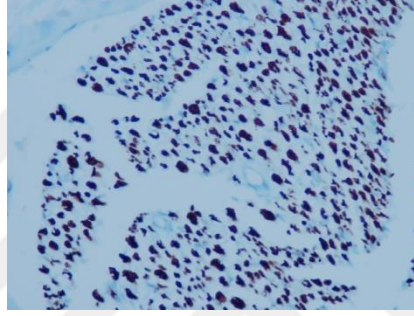
Şekil.28. Toluidin Blue ile boyama sonrası mikroskop altında mast hücrelerinin değerlendirilmesi (X400)



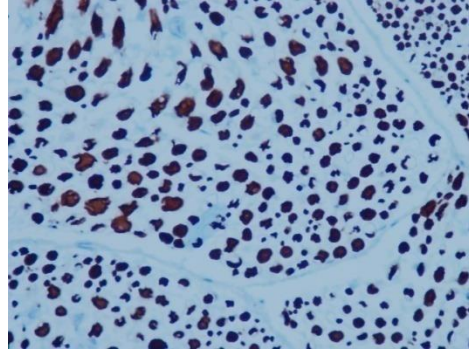
Şekil.29. Masson Trikrom boyama sonrası mikroskop altında kollajen varlığının değerlendirilmesi (X400)



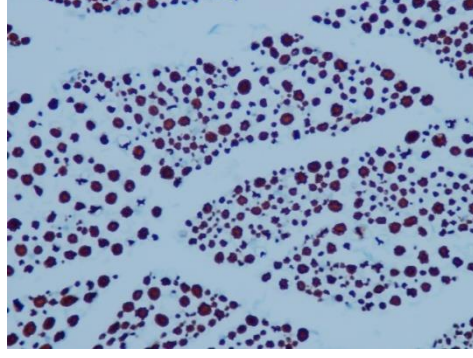
Şekil.30. Hemotoksilen-Eozin ile boyama sonrası mikroskop altında köpük hücrelerin değerlendirilmesi (X400)



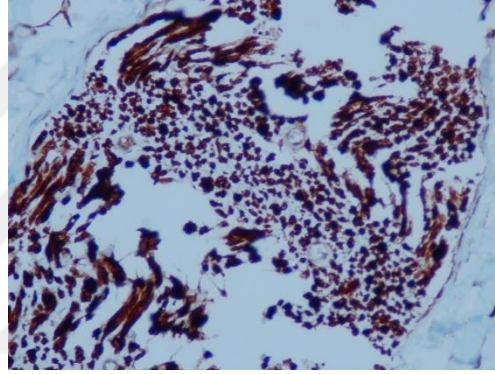
Şekil.31. Nöroflaman ile boyama sonrası mikroskop altında çap artışı gösteren aksonların %10 olarak dağılımı (X400)



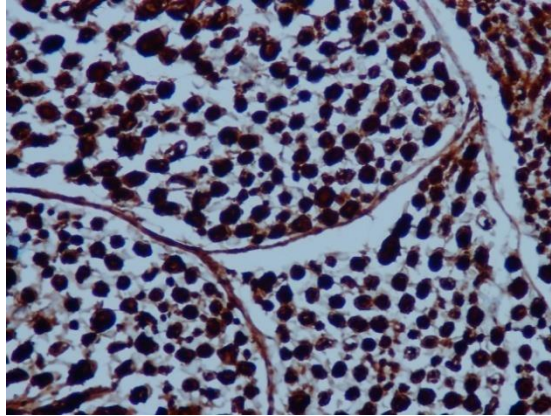
Şekil.32. Nöroflaman ile boyama sonrası mikroskop altında çap artışı gösteren aksonların %10 -50 olarak dağılımı (X400)



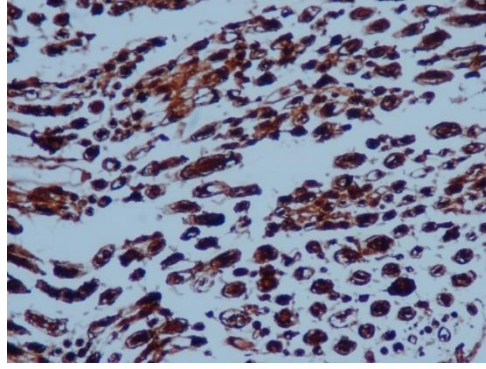
Şekil.33. Nöroflaman ile boyama sonrası mikroskop altında çap artışı gösteren aksonların %50 olarak dağılımı (X400)



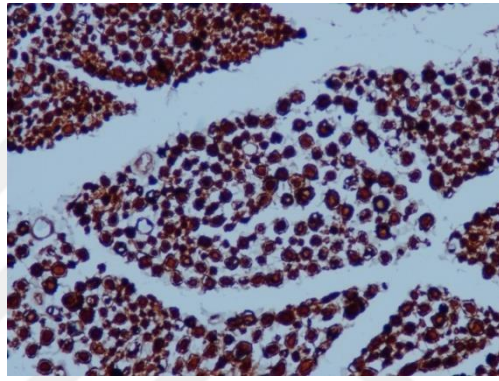
Şekil.34. S-100 ile boyama sonrası mikroskop altında çap artışı gösteren Schwann hücrelerinin uniform olarak dağılımı (X400)



Şekil.35. S-100 ile boyama sonrası mikroskop altında çap artışı gösteren Schwann hücrelerinin %10 olarak dağılımı (X400)



Şekil.36. S-100 ile boyama sonrası mikroskop altında çap artışı gösteren Schwann hücrelerinin %10-50 olarak dağılımı (X400)



Şekil.37. S-100 ile boyama sonrası mikroskop altında çap artışı gösteren Schwann hücrelerinin %50 olarak dağılımı (X400)

Tablo 11. PSO ve PSO+D₃ Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları Çapraz Tablosu ve Fark Analizi Sonuçları

Patoloji	Kategori	PSO		PSO+D ₃		p
		n	%	n	%	
Nöroma	yok	5	62,5%	6	75,0%	0,590
	var	3	37,5%	2	25,0%	
KH	yok	1	12,5%	1	12,5%	0,999
	var	7	87,5%	7	87,5%	
Kollojen	yok	3	37,5%	1	12,5%	0,248
	var	5	62,5%	7	87,5%	
Schwann	uniform	7	87,5%	0	0,0%	0,003
	≤%10	1	12,5%	1	12,5%	
	% 10-50	0	0,0%	5	62,5%	
	≥%50	0	0,0%	2	25,0%	
Akson	≤%10	5	62,5%	2	25,0%	0,131
	≥%50	3	37,5%	6	75,0%	

Nöroma: nodül oluşumu görülüp nöroma başlangıcı olarak değerlendirilenler , **KH:** Köpük Hücre, **Schwann:** Çap artışı olan Schwann hücrelerinin yüzdesi, **Akson:** Çap artışı olan aksonların yüzdesi , **Uniform:** Çap değişikliği yok

Tablo11’de PSO ve PSO+D₃ gruplarından ölçülen patoloji sonuçlarının farklılık gösterip göstermediği incelenmiştir. Bu hipotezin ispatlanması amacıyla Ki-Kare analizi kullanılmıştır. Tablo 11 incelendiğinde çap artışı olan Schwann hücresi yüzde ölçümü (p<0,05) dışında herhangi bir patolojik parametrede istatistiksel olarak anlamlı farklılık hesaplanamamıştır (p>0,05). Schwann hücresi yüzde ölçümündeki farklılık; PSO grubundaki “uniform” kategorisinin fazla (%87,5), ancak PSO+D₃ grubunda ise %10-50 (%62,5) ve ≥%50 (%25,0) kategorilerinin fazla olmasından kaynaklanmaktadır.

Tablo.12.İntakt ve İntakt +D₃ Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları Çapraz Tablosu ve Fark Analizi Sonuçları

Patoloji	Kategori	İntakt		İntakt+ D ₃		p
		n	%	n	%	
Kollojen	yok	6	75,0%	7	87,5%	0,552
	var	2	25,0%	1	12,5%	
Schwann	≤%10	3	37,5%	4	50,0%	0,180
	% 10-50	5	62,5%	2	25,0%	
	≥%50	0	0,0%	2	25,0%	
Akson	≤%10	0	0,0%	1	12,5%	0,449
	% 10-50	2	25,0%	3	37,5%	
	≥%50	6	75,0%	4	50,0%	

Tablo12’de İntakt ve İntakt + D₃ gruplarından ölçülen patoloji sonuçlarının farklılık gösterip göstermediği incelenmiştir. Bu hipotezin ispatlanması amacıyla Ki-Kare analizi kullanılmıştır. Tablo 12 incelendiğinde herhangi bir patolojik parametrede istatistiksel olarak anlamlı farklılık hesaplanamamıştır (p>0,05). Böylelikle, patoloji sonuçlarının İntakt ve İntakt + D₃ gruplarında benzer olduğu söylenebilmektedir.

Tablo.13.SSEY ve SSEY+D3 Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları Çapraz Tablosu ve Fark Analizi Sonuçları

Patoloji	Kategori	SSEY		SSEY+ D ₃		p
		n	%	n	%	
Nöroma	yok	7	87,5%	8	100,0%	0,302
	var	1	12,5%	0	0,0%	
KH	yok	8	100,0%	7	87,5%	0,302
	var	0	0,0%	1	12,5%	
Kollojen	yok	4	50,0%	8	100,0%	0,021
	var	4	50,0%	0	0,0%	
Schwann	≤%10	2	25,0%	7	87,5%	0,034
	% 10-50	3	37,5%	1	12,5%	
	≥%50	3	37,5%	0	0,0%	
Akson	≤%10	1	12,5%	0	0,0%	0,022
	% 10-50	0	0,0%	5	62,5%	
	≥%50	7	87,5%	3	37,5%	

Tablo13'de SSEY ve SSEY+ D₃ gruplarından ölçülen patoloji sonuçlarının farklılık gösterip göstermediği incelenmiştir. Bu hipotezin ispatlanması amacıyla Ki-Kare analizi kullanılmıştır. Tablo13 incelendiğinde Kollojen, Schwann ve Akson patolojik parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık hesaplanmıştır ($p<0,05$). Kollojen ölçümündeki farklılık şu şekilde açıklanmaktadır; SSEY+ D₃ grubunun tamamında kollojen görülmezken SSEY grubunda kollajen görülmesi %50 olarak hesaplanmıştır. Çap artışı olan Schwann hücresi yüzde ölçümündeki farklılık; SSEY grubundaki %10-50 (%37,5) ve ≥%50 (%37,5) kategorisinin fazla, ancak SSEY+ D₃ grubunda ise ≤%10 (%87,5) kategorisinin fazla olmasından kaynaklanmaktadır. Çap artışı olan aksonların yüzde ölçümünde ise SSEY grubunda ≥%50 kategorisinde yoğunlaşma (%87,5) görülürken SSEY+ D₃ grubunda %10-50 kategorisinde (%62,5) benzer yoğunlaşmaya rastlanılmaktadır.

Tablo.14. İntakt ve PSO Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları Çapraz Tablosu ve Fark Analizi Sonuçları

Patoloji	Kategori	İntakt		PSO		p
		n	%	n	%	
Nöroma	yok	8	100,0%	5	62,5%	0,055
	var	0	0,0%	3	37,5%	
KH	yok	8	100,0%	1	12,5%	<0,001
	var	0	0,0%	7	87,5%	
Kollojen	yok	6	75,0%	3	37,5%	0,131
	var	2	25,0%	5	62,5%	
Schwann	uniform	0	0,0%	7	87,5%	0,002
	≤%10	3	37,5%	1	12,5%	
	% 10-50	5	62,5%	0	0,0%	
Akson	≤%10	0	0,0%	5	62,5%	0,018
	% 10-50	2	25,0%	0	0,0%	
	≥%50	6	75,0%	3	37,5%	

Tablo 14’de İntakt ve PSO gruplarından ölçülen patoloji sonuçlarının farklılık gösterip göstermediği incelenmiştir. Bu hipotezin ispatlanması amacıyla Ki-Kare analizi kullanılmıştır. Tablo 14 incelendiğinde KH, Schwann ve Akson ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık hesaplanmıştır ($p < 0,05$). KH ölçümündeki farklılık; İntakt grubunun tamamında KH görülmezken PSO grubunun çoğunluğunda (%87,5) görülmesinden kaynaklanmaktadır. Çap artışı gösteren Schwann hücresi yüzde ölçümündeki farklılık; İntakt grubundaki %10-50 (%62,5) kategorisinin fazla, ancak PSO grubunda ise “uniform” (%87,5) kategorisinin fazla olmasından kaynaklanmaktadır. Akson ölçümünde ise İntakt grubunda %50 kategorisinde yoğunlaşma (%75,0) görülürken PSO grubunda %10 kategorisinde (%62,5) benzer yoğunlaşmaya rastlanılmaktadır.

Tablo.15.İntakt ve SSEY Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları Çapraz Tablosu ve Fark Analizi Sonuçları

Patoloji	Kategori	İntakt		SSEY		p
		n	%	n	%	
Nöroma	yok	8	100,0%	7	87,5%	0,302
	var	0	0,0%	1	12,5%	
Kollojen	yok	6	75,0%	4	50,0%	0,302
	var	2	25,0%	4	50,0%	
Schwann	≤%10	3	37,5%	2	25,0%	0,157
	% 10-50	5	62,5%	3	37,5%	
	≥%50	0	0,0%	3	37,5%	
Akson	≤%10	0	0,0%	1	12,5%	0,215
	% 30	2	25,0%	0	0,0%	
	≥%50	6	75,0%	7	87,5%	

Tablo15’de İntakt ve SSEY gruplarından ölçülen patoloji sonuçlarının farklılık gösterip göstermediği incelenmiştir. Bu hipotezin ispatlanması amacıyla Ki-Kare analizi kullanılmıştır. Tablo 15 incelendiğinde herhangi bir patolojik ölçümde istatistiksel olarak anlamlı farklılık hesaplanamamıştır ($p>0,05$). Böylelikle, patoloji sonuçlarının İntakt ve SSEY gruplarında benzer olduğu söylenebilmektedir.

Tablo.16.İntakt+D₃ ve PSO+ D₃ Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları Çapraz Tablosu ve Fark Analizi Sonuçları

Patoloji	Kategori	İntakt+D ₃		PSO+ D ₃		p
		n	%	n	%	
Nöroma	yok	8	100,0%	6	75,0%	0,131
	var	0	0,0%	2	25,0%	
KH	yok	8	100,0%	1	12,5%	<0,001
	var	0	0,0%	7	87,5%	
Kollojen	yok	7	87,5%	1	12,5%	0,003
	var	1	12,5%	7	87,5%	
Schwann	≤%10	4	50,0%	1	12,5%	0,264
	% 10-50	2	25,0%	5	62,5%	
	≥%50	2	25,0%	2	25,0%	
Akson	≤%10	1	12,5%	2	25,0%	0,155
	% 10-50	3	37,5%	0	0,0%	
	≥%50	4	50,0%	6	75,0%	

Tablo 16’de İntakt+D₃ ve PSO+ D₃ gruplarından ölçülen patoloji sonuçlarının farklılık gösterip göstermediği incelenmiştir. Bu hipotezin ispatlanması amacıyla Ki-

Kare analizi kullanılmıştır. Tablo 16 incelendiğinde KH ve Kollojen ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık hesaplanmıştır ($p < 0,05$). KH ölçümündeki farklılık; İntakt+ D₃ grubunun tamamında KH görülmezken PSO+ D₃ grubunun çoğunluğunda (%87,5) görülmesinden kaynaklanmaktadır. Benzer şekilde, Kollojen ölçümündeki farklılık; İntakt + D₃ grubunun tamamında kollojen görülmezken PSO+ D₃ grubunun çoğunluğunda (%87,5) görülmesinden kaynaklanmaktadır.

Tablo.17.İntakt+ D₃ ve SSEY+ D₃ Gruplarına Göre Patoloji Sonuçları Çapraz Tablosu ve Fark Analizi Sonuçları

Patoloji	Kategori	İntakt+ D ₃		SSEY+ D ₃		P
		n	%	n	%	
KH	yok	8	100,0%	7	87,5%	0,302
	var	0	0,0%	1	12,5%	
Kollojen	yok	7	87,5%	8	100,0%	0,302
	var	1	12,5%	0	0,0%	
Schwann	≤%10	4	50,0%	7	87,5%	0,207
	% 10-50	2	25,0%	1	12,5%	
	≥%50	2	25,0%	0	0,0%	
Akson	≤%10	1	12,5%	0	0,0%	0,440
	% 10-50	3	37,5%	5	62,5%	
	≥%50	4	50,0%	3	37,5%	

Tablo 17’de İntakt+ D₃ ve SSEY+ D₃ gruplarından ölçülen patoloji sonuçlarının farklılık gösterip göstermediği incelenmiştir. Bu hipotezin ispatlanması amacıyla Ki-Kare analizi kullanılmıştır. Tablo 17 incelendiğinde herhangi bir patolojik ölçümde istatistiksel olarak anlamlı farklılık hesaplanamamıştır ($p > 0,05$). Böylelikle, patoloji sonuçlarının İntakt+ D₃ ve SSEY+ D₃ gruplarında benzer olduğu söylenebilmektedir.

5.TARTIŞMA

Periferik sinir sistemi kişinin çevresiyle olan iletişimini santral sinir sistemine iletmesi için önemli bir aracıdır. Kişinin çevreyi ve kendisini algılaması, hareket etmesi, tehlikelerden korunması, duyu işlevlerini yerine getirmesi için; periferik sisteminin sağlam olması ve iletileri uygun bir şekilde SSS'ne iletmesi gerekir. Periferik sinir hasarları birçok nedenle oluşabilmekteyken, en sık neden travmadır. Yapılan birçok çalışma ve cerrahi tekniklerde oluşan gelişmelere rağmen sinir onarımlarında elde edilen fonksiyonel kazanımlar halen yüz güldürücü değildir. Sinir yaralanmalarının % 33 den fazlasında yetersiz fonksiyonel geri dönüş bildirilmiştir (121-123). Yetersiz iyileşme hastada ağrı, soğuk intoleransı, motor fonksiyon kaybına neden olabilirken, nöromalar görülebilmektedir (121-124). Periferik sinir onarımlarında daha iyi fonksiyonel sonuç elde etmek için son yıllarda birçok araştırmacı farklı ajanların sinir iyileşmesi üzerine etkilerini çalışmıştır (125-127)

D vitamini esas olarak kalsiyum ve fosfor metabolizmasını düzenleyen steroid bir hormon ve yağda çözünen bir vitamindir (20). Son yıllarda D vitamini ile yapılan çalışmalarda bu bilinen klasik etksi dışında Multiple Skleroz, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, ateroskeroz, diabet, otoimmün hastalıklar gibi birçok hastalıkla ilişkisi gösterilmiştir (87,128,129). Bunun yanında D vitamini santral sinir sistemi (19) ve spinal kord yaralanmalarında da kullanılmıştır (130). Malcok ve arkadaşları diffüz aksonal hasarda D₃ vitamininin iyileştirici etkisini rat modelinde araştırmışlardır. Çalışmada D₃ vitamininin sistemik olarak uygulanmasının, beyin travmasını takiben aksonlarda oluşan sekonder aksotomiden koruyucu etkisi olduğunu göstermişlerdir (19).

Çelik ve arkadaşları ise deneysel rat modelinde spinal kord yaralanmalarında intraperitoneal D₃ vitamini kullanmışlar ve klinik olarak iyileşme sürecine olumlu etkileri olduğunu saptamışlardır (130).

D vitamininin sinir sistemi üzerine birçok etkisi mevcuttur. D vitamini NGF, NT- 3 ve GDNF'yi artırırken NT- 4 ekspresyonu azaltır. Aynı zamanda D vitamini nöroaktif bir substrat olarak kalsiyum bağlayıcı proteinleri regüle ederken indüklenebilir Nitrik Oksit sentaz (iNOS)'ı inhibe eder (20). Miyelinize hücre

kültürüne D₃ vitamini eklendiğinde DVR ve NGF reseptör transkripsiyon kodlamasında up regülasyon oluşmaktadır (131,132).

NGF ilk tanımlanan nöral büyüme faktörüdür. NGF'den sonra NT--3 ve NT-4/5 tanımlanmıştır (133). Sinir Büyüme Faktörü (NGF), hedef dokulardan ve distal güdükteki

Schwann hücrelerinden üretilen nörotrofik etkileri olan bir proteindir (134). Yapılan çalışmalar, NGF'nin periferik sinir lezyonları sonrası duyuşal ve motor nöronların yenilenmesinde rol oynadığını göstermektedir (135,136). 1997 de Golden ve arkadaşları yaptığı çalışmada NGF kaybının duyuşal sinirlerin yenilenmesinde başlangıç sinyali olduğunu göstermişlerdir (137). Motor nöronlarda aksonotomi sonrası endojen NGF ve düşük afiniteli reseptörleri birlikte artmaktadır. (136,138). Öte yandan, düşük afiniteli NGF reseptörü, NGF yokluğunda hücre ölümüne neden olur.(139) Yapılan çalışmalarda dışarıdan verilen NGF'nin sinir iyileşmesine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (140-143).

NT-3 ve NT-4/5 in tanıdıkları reseptörlerin dağılımına bağılı olarak farklı, kısmen örtüşen nöronal alt popülasyonlar üzerinde etkili olduğu bulundu (133). NT-3'ün kas iğlerini ve Golgi tendon organlarını inerve eden kas duyuşal nöronlarının bir alt popülasyonu üzerinde etkili olduğu gösterilmiş olup kutanöz afferentlerin bir alt popülasyonu üzerinde etkisi olduğu düşünülmektedir (144-146). Ayrıca NT-3'ün, motor sinir rejenerasyonu üzerinde çeşitli etkileri gösterilmiştir (147).

NT-4, nöron sağ kalımı için kritik öneme sahip olan bir nörotrofik faktördür. Yaralanmış siyatik sinir güdüğünde ilk önce up regülasyona sonra down regülasyona uğradığı bildirilmiştir. Ayrıca NT-4'ün Schwann hücrelerinin miyelinasyonuna ve rejenerere aksonların başarılı erken büyümesine katıldığı söylenmektedir (148).

Nitrik Oksit (NO) nöromodülatör bir moleküldür. Yapılan bir çalışmada İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS) ve Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (nNOS) ın Wallerian dejenerasyonu ve periferik sinir rejenerasyonu üzerine olumlu etkileri olduğu ve NO in periferik sinir hasarı sonrası yanlış yönde yönlendirilmiş aksonların çıkarılmasını desteklediği gösterilmiş (149). D₃ vitamininin mikroglialarda NO

sentezini azalttığı, yine başka bir çalışmada iNOS u inhibe ettiği gösterilmiştir. (150,151)

iNOS aktivitesi gen transkripsiyonu ile düzenlenir. D vitamini doğrudan nükleer D vitamini reseptörü üzerinden (DVR) gen transkripsiyonunu regüle ederek ya da hücre membranı üzerindeki DVR üzerinden genellikle geçici olan Ca^{++} , Cl^{-} transmembran geçişini değiştirerek veya hücre içi sinyal yolak aktivitelerini aktive ederek etkisini gösterir. Yapılan gen ekspresyon çalışmalarında D vitamininin total genomun %0,8-5'ini regüle ettiği gösterilmiştir, bu da D vitamininin DNA onarımı, adezyon, apoptozis, hücre büyümesinin düzenlenmesi ve oksidatif stres gibi birçok olayda görev almasını açıklar (92).

Yapılan çalışmalarla tek bir Nörotrofik faktörden ziyade çoklu nörotrofik faktörlerin uygulanmasının daha büyük terapötik başarılar gösterebileceği vurgulanmaktadır (152-155). Bu nedenle tek bir nörotrofik faktörün kullanılmasından ziyade birçok Nörotrofik faktörün sentez ve regülasyonunu etkileyen ajanların kullanılmasının daha iyi sinir iyileşmesi sağladığı öngörülebilir.

D vitamininin periferik sinir iyileşmesine olan etkileri ile ilgili yapılan çalışmalarda D_2 ve D_3 vitaminleri ayrı ayrı çalışılmış ve birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Chabas ve arkadaşları 2008 yılında D_2 vitamininin sinir iyileşmesine olan etkisini araştırdıkları çalışmada D_2 vitamininin akson koruyucu ve rejenerasyonunu desteklediği ve fizyolojik maturasyonu artırdığını göstermişlerdir. Ayrıca D_2 vitamininin akson çapını artırdığını tespit etmişlerdir (20).

Yine Chabas ve arkadaşlarının 2013 yılında D_3 vitamininin periferik sinir sistemi iyileşmesi üzerine etkilerini D_2 vitamini ile karşılaştırarak araştırmışlardır. Sonuçta D_3 vitamininin toksik olmayan yüksek dozda sinir iyileşmesine olan etkisinin D_2 vitamininden daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada kalsitriol tarafından regüle edilen genlerin aksonogenezis ve myelinizasyonda rolleri olduklarını gün ışığına çıkarmışlardır (21).

Montava ve arkadaşları 2014 yılında tavşan fasiyal sinir yaralanmasına D_3 vitamininin etkisi üzerine yaptıkları çalışmada haftalık 200 IU/kg/gün D_3 vitamini

bolus verilmiş olup, 12 haftalık tedaviden sonra fonksiyonel iyileşmeyi ve miyelinasyonu önemli ölçüde arttırdığını göstermişlerdir (22).

Biz çalışmamızda sinir iyileşmesinin değerlendirilmesinde elektrofizyolojik değerlendirmede akson potansiyeli, repolarizasyon süresi, depolarizasyon süresi ve Hot Plate testini kullandık.

Bir periferik sinirin elektriksel uyarımı üzerine, bir sinirin fonksiyonel durumunu incelemek için yaygın olarak kullanılan prosedür olan bir bileşik aksiyon potansiyeli (BAP) kaydedilebilir. BAP, aktif miyelinli liflerin sayısı ve bunların yayılma hızları gibi parametreler hakkında önemli bilgiler sağlar (156). Sinirde bir sinyal başlatıldığında, her bir sinir lifi boyunca lifin çapı ile ilişkili bir hız ile hareket eden bir hareket potansiyeli (tek lifli aksiyon potansiyeli (TLAP) yoluyla iletilir. TLAP'lerin ilave süperpozisyonu, BAP'ı oluşturur (157). BAP, sinir lezyonlarının ciddiyetini değerlendirmek için pratik bir yöntemdir (akson kaybı) (158).

Bizim çalışmamızda D₃ vitamini sinir onarımı sonrası aksiyon potansiyelleri göz önünde bulundurulduğunda, sinir iyileşmesine istatistiksel bir iyileşme yapmadığı tespit edildi. Ancak sayısal değerlere bakıldığında PSO+ D₃ vitamini grubunun ortalama aksiyon potansiyel değerinin PSO grubundan daha yüksek olduğu görüldü. Bu da PSO + D₃ grubunda daha fazla sinir lifinin iyileştiğini göstermektedir. Ancak yapılan histopatolojik incelemede sinirde çapı artan akson yüzdesinde bir fark izlenmezken, çapı artmış Schwann hücrelerindeki yüzde artışı D₃ vitamini uygulanan grupta daha fazla olarak izlendi. Bu durum Chabas ve arkadaşlarının sonuçlarında vurguladıkları gibi D₃ vitamininin myelinizasyon üzerindeki etkisine bağlı olabilir.(21)

Sağlam sinirlerle, D₃ vitamini takviyesi yapılan sağlam sinirlerin histopatolojik analizleri sonrasında çalışmada kullanılan doz ve uygulama şeklinde D₃ vitamininin histopatolojik sonuçlara herhangi bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir.

Ezilme yaranmasının iyileşmesine ise D₃ vitamininin aksiyon potansiyelleri göz önünde bulundurulduğunda istatistiksel olarak negatif etkisi olduğu tespit edildi. SSEY grubundaki hayvanlarda 12 haftalık iyileşme sonrası ölçülen aksiyon potansiyeli değerlerin SSEY+D₃ vitamini grubunun ortalama değerinden daha yüksek

olduğu görüldü. Aynı zamanda histopatolojik incelemelerde ezilme yaralanmalarında D₃ vitamininin sinir iyileşmesinde kollajen sentezini ve myelinizasyonu azalttığı, aynı zamanda da çapı artan akson yüzdesinde azalttığı tespit edilmiştir. Bu durumda ezilme tipi yaralanmalarda, D₃ vitamininin iyileşmeyi olumsuz yönde etkilediği sonucuna varılabilir.

Ağrı duyusunun, ağrı reseptörleri tarafından alınıp beyine iletiildiği düşünülmektedir. Ağrı hissi yüzeysel, derin ve visseral dokularda bulunan miyelini ve miyelinsiz sinir lifleri tarafından iletilmektedir. Mekanik, termal, kimyasal ve elektriksel uyaranlar sinir liflerini uyaran temel enerji tipleridir.

Hot Plate testi, akut ağrı ölçüm modelleri içinde termal uyarı kullanılan bir testtir. Reaksiyon süresinin bireysel değişkenlik göstermesi testin en büyük dezavantajıdır. Bu teste verilen cevaplar ağrının merkezi ve periferik mekanizmalarının bir birleşimidir (117,119).

Çalışmamızda duyu liflerinin iyileşmesini değerlendirmek için Hot Plate testini kullandık. D₃ vitamini takviyesi verilen her iki grupta iyileşme sonrası Hot Plate testi sonucu elde edilen değerler D₃ vitamini verilmeyen gruplardan daha uzundu. Bu durumda D₃ vitamini ya duyu iyileşmesini olumsuz yönde etkilemekte ya da ağrı toleransını artırmaktadır.

D vitamininin potansiyel bir ağrı kesici olarak değerlendirilmesinin temeli, enflamatuar ve immünomodülatör etkilerinden kaynaklanmaktadır (159,160). D vitamini eksikliğinin çeşitli şekillerde kronik ağrı ile ilişkili olduğu söylenmektedir (161-163). Poisbeau ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada D₃ vitamini takviyesinin, monartritik hayvanlarda mekanik nosiseptif eşikleri değiştirdiği ve bir mononöropati modelinde mekanik hiperaljezi ve soğuk alodininin azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca nosisepsiyon, alodini ve opioid ile ilişkili genlerin bazılarının, D vitamini metabolizması ile ilişkili olabileceğini vurgulamışlardır. Opioid sinyalinin düzenlenmesinde D₃ vitamininin etkili olduğu söylenmektedir (164). D₃ vitamininin takviyesine cerrahi sonrası 1. günde başladığında, soğuk alodoni ve sıcak hiperanaljezi algısını azaltığı nöropatik ağrılı sıçan modelinde gösterilmiştir (165). Sıçan dorsal kök duyu ganglionlarındaki miyelinsiz, peptiderjik nöronların nükleer,

membran ve sitoplazmik DVR'leri eksprese ettikleri bildirilmiştir. Ağrıya duyarlı bu nöronların aktif D vitamini metabolitlerini ürettiği ve bunlara cevap verdiği gösterilmiştir (166).

Ayrıca D vitamini düşüklüğü ağrı hissi taşıyan ve varolan bir patolojiye bağlı artmış ağrı algısına neden olan sinir liflerinde aşırı uyarılma ve aşırı duyarlılığa neden olabilmektedir (167).

Başka bir çalışmada ise D vitamini eksikliğinin mekanik derin kas hipersensivitesine neden olduğu ancak ciltte böyle bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir (168).

Kuru ve arkadaşları, randomize seçilmiş 83 kronik yaygın ağrılı kadın hasta ile yaptıkları çalışmada, hastaları D vitamini seviyelerine göre iki gruba ayırmışlar. Serum D vitamini seviyesi 20 ng /ml üstü olan hastaların yeterli D vitamini seviyesine sahip olduklarını kabul etmişler. 20 ng / ml altında olan hastaları ise D vitamini eksikliği olarak kabul etmişler. Yaptıkları sinir iletim çalışmalarında, hipovitaminoz D grubunda median, ulnar ve tibial sinirlerin motor sinir amplitüdlerinde artış izlenirken, ulnar ve tibial sinir latansında gecikme gözlenmiştir. Yine aynı çalışmada ulnar ve peroneal motor sinir iletim hızlarında azalma izlenmiştir. Bu çalışmanın en önemli bulguları motor sinirler üzerine yukarıdaki etkiler gözlenirken, duyu sinirler üzerinde herhangi bir etki tespit edilmemiş (169).

Farklı tür ve alt tiplerdeki nöronlar, farklı NTF ile kendine özgü etkileşimlere sahiptir ve bu NTF'lere karşı farklı etkiler gösterirler. Yaralanma distalindeki sinirdeki Schwann hücreleri, yaralanma sonrası bir dizi nörotrofik faktör salgılar. Bunların birçoğu, duyu ve motor sinirlerde Schwann hücrelerinde farklı olarak eksprese edilir (170-172). Kutanöz duyu dallarının denervasyonu sonrası sadece nörotrofin NGF ve BDNF'yi değil aynı zamanda IGF-1, HGF ve VEGF'de sinirde yüksek konsantrasyonda eksprese edilirken motor nöronları içeren ventral kökte bu faktörlere minimal düzeyde rastlanır. Bu beş büyüme faktörünün aksine, GDNF ve PTN (pleiotrophin) benzer şekilde, denerve ventral kök ve kutanöz sinirlerde up regülasyona uğrar, bu da hem motor hem de duyu akson rejenerasyonunda olası bir rolü olduklarını gösterir. PTN ekspresyonu ventral kökte 100 kat, GDNF ekspresyonu

kütanöz sinirde 10 kat daha yükselir (173). Ayrıca üç boyutlu çalışmalarda duysal sinirler için yol gösterici olarak NGF kullanılırken, bu faktör motor sinirler için GDNF'dir. Böylece motor ve duyu sinirlerine farklı ekspresyon profili verilmiş olur (174). Yine sinir onarımları için bir seçenek olan sinir greftleri ile yapılan çalışmalarda motor sinir greftlerinin duyu sinirleri ile yapılan greftlemelere göre daha iyi sonuçlar elde edildiği tespit edilmiştir. Bu durum sadece nörotropik maddelerle açıklanamaz. Rejenere aksonlarda Schwann hücreleri bazal lamina tüpleri boyunca büyürler. Duyusal sinirler daha yüksek bir lif sayısına sahiptir, bu da daha fazla Schwann hücre bazal lamina tüpünün mevcut olduğu anlamına gelir. Bununla birlikte, sinir lifleri bir endonöral tüp seçerken Schwann hücre bazal lamina tüplerinin büyüklüğü önemli bir faktör gibi görünmektedir. Greft olarak kullanılan duysal sinir segmentlerinin elektron mikroskopisinde motor grubunda görülmeyen çok sayıda boş küçük kalibreli Schwann hücre bazal lamina tüpü olduğu görülmüştür. Muhtemel bir açıklama, bu duysal Schwann hücre bazal lamina tüplerinin, rejenere olarak karşıya geçmeleri için küçüktür ve bu da rejenerasyon için bir bariyer oluşturuyor olabilir (175).

Bu bilgiler ışığında muhtemelen motor lifler ile duyu lifler iyileşme sürecinde de ayrı dinamiklere sahiptirler. Sinir iyileşmesinde kullanılan bir madde hem motor hem de duyu liflerinde aynı derece iyileştirici etkiye sahip olmuyor olabilir. Bizim çalışmamızda karşımıza çıkan Hot Plate testindeki uzamanın D₃ vitamininin duyu dalların üzerine yaptığı olumsuz etkiden mi yoksa ağrı eşiklerine olan etkisine bağlı mı ortaya çıktığının ayrımını yapmak bu aşamada çok mümkün değildir. Bunun için ek çalışmalar gerektiği aşikardır.

Aksotomi, avülsiyon veya ezilme gibi oluşan sinir yaralanma mekanizmaları, etkilenen nöronlar üzerinde farklı etkiler yaratabilir. Ezilme yaralanmalarının oluş mekanizması direkt kesilerden farklıdır. Burada sinire uygulanan bir dış basınç söz konusu olup sinir yaralanmasına eşzamanlı olarak meydana gelen vasküler değişiklikler iskemik olaylar, vasa nervorum kaynaklı arterlerin obliterasyonu ve sinir kılıflarında kanamaya neden olabilir. Bu durum travmanın şiddetine göre epinöral damar geçirgenliğinde artış, endonöral damarlarda ödem ve intrafasiküler lezyonlara neden olabilir. Bu değişiklikler sadece sinirde hipoksi oluşturmanın yanında nöropatik ağrı oluşmasına neden olabilir, hemoraji ve ödemde aksonal kompresyona neden olup

hasarı artırabilir (176-178) . Ratların fasiyal sinirinde yapılan çalışmada NGF reseptör mRNA'sının ezilme yaralanması yapılan ratlarda kesi yapılan gruba göre hasarın 3 ila 14. günlerde daha yüksek olduğu görülmüştür (179). Yine fasiyal sinirde ezilme ve kesi hasarının karşılaştırıldığı başka bir çalışmada sinir ezilme grubunda azalmış CNTF seviyeleri sinir kesimi grubuna göre istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu tespit edilmiştir (180).

Ezilme yaralanmalarından sonra fonksiyonel iyileşme, sinir kesisini takiben sinir onarımından sonra elde edilen iyileşmeden çok daha iyidir. Ezilme yaralanmasında, aksonların distal güdük içinde görüldüğü latent dönem de daha kısadır (181,182). Bu farklılıkların açıklaması muhtemelen yaralanma bölgesindeki mevcut koşullarla ilişkili olabilir. Kesi ve onarımın ardından, rejenerasyon aksonlarının önemli ölçüde birbirine geçmesi, dikiş hattında meydana gelir, bu nedenle birçok lif distal güdük içinde uygun endonöral tüplere giremez (182).

Ezilme yaralanmasından sonra endonöral kılıfların ezilmiş bölgede varlığını sürdürdüğü ve rejenerasyon aksonlarını sinirin hasarlı kısmı boyunca yönlendiren ve böylece eski periferik bağlantılarına erişecekleri yollar sağladıkları varsayılmıştır (182,183).

Periferik sinir hasarlarının oluşma mekanizmalarının rejenerasyon sürecine olan etkilerini araştıran sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bu etkiler tam olarak ortaya konulamamıştır. Bizim çalışmamızda ezilme yaralanmalarında D₃ vitamininin yaralanmayı olumsuz yönde etkilediği görülmüştür. Bu durum yukarıda anlatılan mekanizmalar ve nörotropik faktörlerin ekspresyonu veya mekanizmalarında oluşan farklılardan kaynaklanıyor olabilir. Bu durumun açıklanabilmesi için bu konuyla ilgili mekanizma çalışmalarına ihtiyaç vardır.

Depolarizasyon süresi voltaj bağımlı Na⁺ kanallarının aktivasyonunu gösterir. Periferik sinir onarımı uygulanan gruplarda depolarizasyon süresindeki değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bu durumda sinir kesisi sonrası yapılan primer sinir onarımlarının depolarizasyon süresini yani voltaj bağımlı Na⁺ kanal aktivasyonunu etkilemediğini söyleyebiliriz. Onarım sonrası D₃ vitamini takviyesinin de Voltaj Bağımlı Na⁺ kanallarını etkilemediğini söyleyebiliriz. Ancak kesi sonrası

onarımlarda hem D₃ vitamini takviyesi alan hem de D₃ vitamini takviyesi almayan gruplarda repolarizasyon süresinde uzama izlenmiştir. Bu durumda sinir kesisi onarımları sonrası daha düşük aksiyon potansiyeli oluşturan sinir, bir mekanizma ile voltaj bağımlı K⁺ kanallarını olumsuz yönde etkileyerek daha uzun sürede repolarize olmaktadır.

Ancak ezilme yaralanması uygulanan grubun iyileşme sonrası depolarizasyon süreleri değerlendirildiğinde D₃ vitamini takviyesi yapılan grupta yapılmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı ve daha kısa olduğu görüldü. D₃ vitamininin ezilme yaralanması sonrası takviyesi yapılan grupta hem aksiyon potansiyelleri düşük olarak ölçülmüş hem de depolarizasyon süresinin kısaldığı görülmüştür. Bu durum repolarizasyon için bakıldığında D₃ vitamin takviyesi verilen grupta hasar öncesi ve iyileşme sonrası repolarizasyon süreleri karşılaştırıldığında iyileşme sonrası bu sürenin uzadığı görülmüştür. Bu durum D₃ vitamini takviyesi yapılmayan grup için geçerli değildi. Bu nedenle oluşan uzama yaralanma tipine bağlı olmayabilir.

Bilindiği gibi membran potansiyeli -45 mV civarında bir “eşik” değerine depolarize olursa, tüm voltaj bağımlı Na⁺ kanalları aktive olarak hızlı depolarize fazını oluştururlar. Bu durumda ezilme tipi yaralanmalarda D₃ vitamini kullanımı iletilinin yaralanma boyunca olan iletiminde oluşan azalma, Na⁺ kanallarının aktifleşmesinde oluşan azalmaya bağlı olabilir. Ezilme yaranmasında görülen bu depolarizasyon süresindeki uzama D₃ vitamini verilmeyen grupta yaralanma öncesi ve iyileşme sonrası değerler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olarak kısa olduğu görüldü. Bu etkinin yaralanma tipine bağlı D₃ vitamininin etkisi olduğu düşünülmektedir.

6.SONUÇ

Biz Çalışmamızda direkt aksiyon potansiyeli ölçerek D₃ vitamininin sinir üzerindeki etkilerini direkt olarak ölçmeyi hedefledik. Elde ettiğimiz sonuçlarda kesi onarımı sonrası D₃ vitamini takviyesinin myelinizasyonu artırması dışında istatistiksel bir iyileşme tespit etmesek de D₃ vitamini takviyesi yapılan grupta aksiyon potansiyel ortalamasını, verilmeyen gruptan daha yüksek olarak hesapladık. Bu da bize daha fazla lifin iyileştiğini gösterir. Ancak D₃ vitamininin hem histolojik hem de elektrofizyolojik çalışmalarda ezilme tipi sinir yaralanmalarına olumsuz etkileri olduğunu tespit ettik. Diğer D₃ vitaminin periferik sinir yaralanmalarına etkilerini inceleyen çalışmalarda, D₃ vitamininin fonksiyonel olarak olumlu etkileri vurgulanmaktadır. Bu doz ya da süre bağımlı olabilir. Bizim vitamin takviyemiz akut dönemle sınırlı olup diğer çalışmalarda 12 hafta boyunca düzenli takviye yapılmıştır. Bu nedenle D vitamininin sinir kesi onarımı sonrası sinir iyileşmesine optimal katkı sağlayabilmek için uzun süreli takviyesi gerekiyor olabilir. D vitamininin sağlam sinir aksiyon potansiyelleri, depolarizasyon, repolarizasyon ve aktivasyon sürelerine etkisi tam olarak bilinmediği için iyileşme süreci sonrası oluşan değişikliklerin nedeni tam olarak açıklanamamıştır. Bu konuda ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

7.KAYNAKLAR

- 1- Franjic S. In Shortly About Nervous System, Cientific Journal of Neurology (CJNE). 1(2):15-18, 2019
- 2- Mackinnon SE, Dellon AL, et al. Nerve Regeneration Through A Pseudosynovial Sheath In A Primate Model, Plast. Reconstr. Surg. 75(6):833-41, 1985
- 3- Robinson LR. Traumatic Injury to Peripheral Nerves, Muscle Nerve In R. Rosenbaum (Ed.),23:863-873, 2000
- 4- Sunderland S. The Anatomic Foundation of Peripheral Nevre Repair Techniques. Orthopaedic Linics of North America 12:245,1981
- 5- Mafi P, Hindocha P. Advances of Peripheral Nerve Repair Techniques to Improve Hand Function: A Systematic Review of Literature, Open Orthop J., 6:60-6, 2012
- 6- Kanje M, Skottner A, Effects of Growth Hormone Treatment on the Regeneration of Rat Sciatic Nevre, Brain Res. , 475: 254-8,1988
- 7- Koszykowska, M., Wojtkiewicz J., et al., Effect of Steroid Hormones on the Peripheral Nervous System, J. Anim. Feed Sci. ; 17: 3–18,2008
- 8- Modrak M. Sundem L., Erythropoietin Enhanced Recovery After Peripheral nerve injury, Neural Regen Res., 8, 1268–1269, 2017
- 9- Strand, FL, Rose KJ, et al., ACTH Modulation of Nerve Development and Regeneration. Progress in Neurobiology, 33(1), 45–85, 1989
- 10- Okada K, Tanaka H, et al., Methylcobalamin Increases Erk1/2 and Akt Activities Through the Methylation Cycle and Promotes nerve Regeneration in a Rat Sciatic Nerve Injury Model, Exp Neurol. ,222: 191–203, 2010
- 11- Onger ME, Kaplan S, et al., Possible Promoting Effects of Melatonin, Leptin and Alcar on Regeneration of the Sciatic Nevre, J Chem Neuro Anat. 81:34–41, 2017

- 12- Mohammadi R, Saadati A., Influence of Insulin-Like Growth Factor I on Nerve Regeneration Using Allografts: a Sciatic Nerve Model, *J Craniofac Surg.* 25:1510–1514, 2014
- 13- Sundem L, Chris Tseng K-C. et al., Erythropoietin Enhanced Recovery After Traumatic Nerve Injury: Myelination and Localized Effects, *J Hand Surg Am.* ,41:999–1010, 2016
- 14- Tuffaha SH, Budihardjo JD, et al., Growth Hormone Therapy Accelerates Axonal Regeneration, Promotes Motor Reinnervation, and Reduces Muscle Atrophy Following Peripheral Nerve Injury, *PlastReonstr Surg.* ,137:1771–1780,2016
- 15- Cantorna MT, Hayes CE, et al., 1,25-Dihydroxyvitamin D3 Reversibly Blocks The Progression of relapsing Encephalomyelitis, A Model of Multiple Sclerosis, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.*93(15):7861-4, 1996
- 16- Gianforcaro A, Hamadeh MJ., Vitamin D as a Potential Therapy In Amyotrophic Lateral Sclerosis. *CNS neuroscience & therapeutics.*20(2):101-11, 2014
- 17- Li F, Liu P, et al., 1,25(OH)2D3-Mediated Amelioration Of Aorticinjury in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats., *Inflammation.*36(6):1334-43, 2013
- 18- Prasad P, Kochhar A., Interplay of Vitamin D and Metabolic Syndrome: A Review *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews,* 0(2):105-12,2015
- 19- Malcok UA, Sengul G, Kadioglu HH, Therapeutic Effect of Vitamin D3 in a Rat Diffuse Axonal Injury Model *The Journal of International Medical Research.*33: 90 – 95, 2005
- 20- Chabas, JF, Alluin O, Vitamin D2 Potentiates Axon Regeneration. *Journal of Neurotrauma,* 1247-1256, 2008

- 21- Chabas JF, Stephan D. Cholecalciferol(Vitamin D3) Improves Myelination and Recovery after Nerve Injury. 5:PLoS ONE,2013
- 22- Montava M, Garcia S, Mancini J, Jammes Y, Courageot J, Lavieille JP, Feron F, Vitamin D3 Potentiates Myelination and Recovery After Facial Nerve Injury Eur Arch Otorhinolaryngol.European Archives of Oto-Rhino-Laryngology 272(10): 2815–2823, 2014
- 23- Thau L, Singh P. ,Anatomy, Central Nervous System. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542179/>
- 24- Catala M. Kubis N., Handbook of Clinical Neurology In Said G.& Krarup C.(Eds), Gross Anatomy And Development of The Peripheral Nervous System, 115(3),Paris,29-40, 2013
- 25- Snell RS. Clinical Neuroanatomy for Medical Students. Seventh edition. Little Brown and Company, Boston, p:176, 2010
- 26- Onger M.E.,Türkmen A.P.,Emriyology of the Peripheral Nerves, IN R.S. Tubbs& E.Rizk(Eds.), Nerves and Nerve Injuries,Vol:1,Chapter:3,Elsevier,London,37-39, 2015
- 27- Sadler TW, ed. Langman's Medical Embryology, 10 Ed. Lippincott Williams and Wilkins :433-480, 2006
- 28- Battista A.F., Lusskin R., The Anatomy and Physiology of the Peripheral Nerve, Foot & Ankle, Vol:7, New York, 66,1986
- 29- Snell RS. Clinical Neuroanatomy for Medical Students. Seventh edition. Little Brown and Company, Boston, 2010, 61-77, 2010
- 30- Berry M, Bannister LH, Standring SM. Nervous system.38th ed. Williams P.L. Churchill Livingstone, Edingburgh. Gray's anatomy, 904, 1995
- 31- Barrett K.M.,Brooks H.(Eds), Ganong's Review of Medical Physiology, a LANGE medical book,New York, 23(4): 80-81, 2010

- 32- Muir D.,The Potentiation of Peripheral Nerve Sheaths in Regeneration And Repair,Experimental Neurology,102;102-111, 2010
- 33- Garbay B, Heape AM, Sargueil F, et al. Myelin Synthesis in Peripheral Nervous System. Prog Neurobiol., 61, 267-304, 2000
- 34- Snell RS. Clinical Neuroanatomy for Medical Students. Seventh edition. Little Brown and Company, Boston, 130, 2010
- 35- Waxman SG. Determinants of Conduction Velocity in Myelinated Nerve Fibers. Muscle nerve, 3(2), 141-50, 1980
- 36- Maggi SP, Lowe JB 3rd, Mackinnon SE. Pathophysiology of Nerve Injury. Clin Plast Surg.;30(2):109–26, 2003
- 37- Lundborg G. Nerve Regeneration and Repair. A Review. Acta Orthop Scand.;58:145–69.,1987
- 38- Fujii K., Tsuji M., Murota K., Isolation of Peripheral Nerve Collagen, Neurochemical Research; 11: 1439-46.,1986
- 39- Eather T.F., Pollock M., Collagen Synthesis in Axotomized Peripheral Nerve Evidence against Schwann Cell Involvement, Experimental Neurology ; 96: 214-8.,1987
- 40- Luque E.H., Angulo E., Montes G.S., A Histochemical and Electron Microscopic Study on the Collagen of Nerves in the Domestic Fowl, Journal of Anatomy ; 137: 171-6., 1983
- 41- Normal periferik sinir anatomisi (Bayramiçli M: Sinirde Mikrocerrahi Çalışması: Deneysel Mikrocerrahi. 1. Baskı. Argos, İstanbul, S: 340, 2005
- 42- Lundborg G, Dahlin LB, Danielsen N, Hansson HA, Johannesson A, Longo FM, Varon S. Nerve Regeneration Across an Extended Gap: A Neurobiological View Of Nerve Repair and The Possible Involvement Of Neuronotrophic Factors. J Hand Surg (Am); 7: 580-7, 1982

- 43- Winograd JM, Mackinnon SE. Peripheral nerve injuries: Repair and Reconstruction. In: Mathes SJ, editor. Plastic Surgery. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 7: 47–514.,2006
- 44- Lundborg G. Intra-neural Microcirculation. Gary K. Frykman Editor. The Orthopedic Clinics of North America; 19: 1-12.,1988
- 45- Myers RR, Heckman HM: Effect of Local Anesthetics on Nerve Blood Flow: Studies Using Lidocaine with and Without Epinephrine. Anesthesiology; 71:757-62, 1989
- 46- Selander D, Mansson LG, Karlsson L, Svanik J: Afferent Vasoconstriction in Peripheral Nerves of the Rabbit. J Anesthesiology; 62:6-10.,1985
- 47- Lundborg G., Dahlin LB., Structure and function of peripheral nerve, Operative Nerve Repair and Reconstruction. Ed: Gelberman RH. JB Lippincott, Philadelphia, 3-15, 1991
- 48- Myers RR., Morphology of The Peripheral Nervous System and Its Relationship to neuropathic pain. Anesthesia, Biologic Foundations, eds: Yaksh TL., Lynch III C., Zapol WM., Maze M., Biebuyck JF., Saidman LJ., Lippincott Raven, Philadelphia, 483- 514, 1998
- 49- Campbell WW. Evaluation and Management of Peripheral Nerve Injury. Clinical Neurophysiology. 119(9):1951-65, 2008
- 50- Kaya Y, Sarikcioglu L. Sir Herbert Seddon (1903–1977) and His Classification Scheme for Peripheral Nerve Injury. Child's Nervous System, 31(2): 177-180, 2015
- 51- Seddon HJ. Three types of nerve injuries. Brain.66:237, 1943
- 52- Pan YA, Misgeld T, et al. Effects of Neurotoxic and Neuroprotective Agents on Peripheral Nerve Regeneration Assayed by Time-Lapse Imaging in Vivo,” Journal of Neuroscience ,23(36):11479–11488,2003.

- 53- Magge D. Orthopedic Physical Assessment. 2nd ed. Saunders WB. Philadelphia ,66-80, 1992
- 54- Sunderland S, A classification of Peripheral Nerve Injuries Producing Loss of Function. Brain. ;74(4):491-516, 1951
- 55- Mackinnon SE, Dellon AL: Surgery of the Peripheral Nerve. New York, Thieme,89-129, 1988.
- 56- Snell R.S., Clinical Neuroanatomy for Medical Students, Little Brown and Company, Boston.: 87-114.,1982
- 57- Hirata Kazuho and Kawabuchi Masaru. Myelin Phagocytosis by Macrophages and Nonmacrophages During Wallerian Degeneration. Microscopy Research and Technique; 57:541-7, 2002
- 58- Stacey E. Mills ed. Histology for pathologists. 3rd ed. Lippincott Williams&Wilkins :245-8, 2004
- 59- Verdu E, Ceballos D, Vilches Jj, Navarro X. Influence of aging on Peripheral Nerve Function and Regeneration,]. Peripher. Nerv. Syst., 5,191-208, 2000.
- 60- Perry VH, Brown MC, Gordon S. The Macrophage Response to Central and Peripheral Nerve Injury. A Possible Role for Macrophages in Regeneration, J Exp. Med.,165, 1218-1223, 1987.
- 61- Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of Peripheral Nerve Injury: A Brief Review. Eurosurg Focus. 2004, 16(5): 15.,2004
- 62- Dahlin LB. The Biology of Nerve Injury and Repair. J Am Soc Surg Hand. 4(3), s. 143- 55.,2004
- 63- Brushart TM. Nerve repair and grafting. In. Green DP, Hotchkiss RN, Pederson WC, Editors.4th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, Volume 2;. Green's Operative Hand Surgery., 1381- 403.,1999
- 64- Hall SM. Regeneration in the Peripheral Nervous System. Neuropathol Appl Neurobiol. 15(6): 513-29.,1989

- 65- Frostick SP, Yin Q, Kemp GJ. Schwann cells, Neurotrophic Factors, and Peripheral Nerve Regeneration. *Microsurgery.*;18(7):397–405., 1998
- 66- Gordon T. The Physiology of Neural Injury and Regeneration: The Role of Neurotrophic Factors. *J Commun Disord.*, 43(4), s. 265-73.,2010
- 67- Johnson EO, Charchanti A, Soucacos PN. Nerve repair: Experimental and Clinical Evaluation of Neurotrophic Factors in Peripheral Nerve Regeneration. *Injury.*, 39 (3), s. 37-42.,2008
- 68- Mayo-Robson A. W. Nerve Grafting as a Means of Restoring Function in Limbs Paralyzed by Gunshot or Other Injuries, *Br Med J.* 1(2926): 117-118.doi: 10.1136/bmj.1.2926.117, 1917
- 69- Thomas PK, Berthold CH, Ochoa J. *Microscopic Anatomy of The Peripheral Nervous System*, Dyck P. *Peripheral Neuropathy*. 3rd edition. Philadelphia: WB Saunders, s. 28-80,1993.
- 70- Bora FW. Peripheral Nerve Repair in Cats. The Fascicular Stich. *J Bone joint Surg.* 49A, 659,1967
- 71- Terzis JK, Sun DD, Thanos PK. Historical And Basic Science Review: Past, Present and Future of Nerve Repair. *J Reconstr Microsurg.*; 130: 215-225,1997
- 72- Takeshi M. Peripheral Nerve Repair and Grafting Techniques: A Review *Neurol Med Chir*; 40: 187-99, 2000
- 73- Brushart TM. Nerve repair and grafting, *Green's Operative Hand Surgery*. Green DP (ed) Churchill Livingstone. New York vol. II; 1381-403.,1999
- 74- Siemionow M, Brzezicki G., Current Techniques and Concepts in Peripheral Nerve Repair, *International Review of Neurobiology*, Volume 87, Pages 141-172, Chapter 8, Elsevier, [https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(09\)87008-6](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(09)87008-6),2009
- 75- Seckel BR. Current Status of Peripheral Nerve Surgery. *Perspectives in Plastic Surgery.* ; 4: 91-104,1990

- 76- Burgerss LPA, Goode RL. Reanimation of the Paralyzed Face. Stuttgart/New York,13-16,1994
- 77- Terzis JK, Smith KL. Repair and Grafting of the Peripheral Nerve: Plastic Surgery. McCarthy JG (ed), WB Saunders, Philadelphia; 630- 697, 1990
- 78- Nath R.K., Mackinnon S.E., Jensen J.N., Parks W.C., Spatial Pattern of Type I Collagen Expression in Injured Peripheral Nerve, Journal of Neurosurgery; 86: 866-70, 1997
- 79- Ikeda K. Timing and Technique of Peripheral Nerve Repair. Neurol Med Chir (Tokyo). ;20:759-67,1980
- 80- Akyuva Y,Kahraman M,Peroneal Sinir Hasarının Sural Sinir Transplantasyonu ile Tedavi Edilmesi; Olgu Sunumu ve Cerrahi Tekniğin Değerlendirilmesi,Sinir Sistemi Cerrahisi Derg;6(1-2):52-57, 2016
- 81- Lee SK,Wolfe SW.Peripheral Nerve Injury and Repair. J Am Acad Orthop Surg. Jul-Aug;8(4):243-252,2000
- 82- Hochberg Z. Rickets-past and Present. In: Hochberg Z (ed). Vitamin D and Rickets Vol 6 Switzerland: S Karger AG: 1-13,2003
- 83- Wharton B, Bishop N. Rickets. Lancet: 362: 1389-1400, 2003
- 84- Armas LA, Hollis BW, et al., Vitamin D2 in Humans, The Journal Of Clin. Endocrinology and Metabolism, 89, 5387-5391, 2004
- 85- Bikle DD., What's New in Vitamin-D, Current Opinion Rheumatology,19,383-388, 2007
- 86- Üstdal M.,Karaca L., Türköz Y., Testereci H., Kuş S., Paşaoğlu H., Biyokimya. Medipres Matbaacılık Ltd. Şti. Malatya, 2003.
- 87- Holick MF. High Prevalence of Vitamin D Inadequacy and Implications for Health. Mayo ClinProc.;81:353- 373, 2006

- 88- Holick MF. Vitamin D Deficiency Medical Progress. *N Engl J Med*;357:266-81.,2007
- 89- Özkan B., Döneray H., D Vitaminin İskelet Sistemi Dışı Etkileri, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 54,99-119,2011
- 90- Lips P. Vitamin D Physiology. *Progr Biophy Mol Biol* ; 92: 4-8.,2006
- 91- Öngen B, Kabaroğlu C, Parıldar Z. D Vitamini'nin Biyokimyasal ve Laboratuvar Değerlendirmesi. *Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Türk Klinik Biyokimya Dergisi*; 6: 23-31, 2008
- 92- Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a Worldwide Problem with Health Consequences. *Am J Clin Nutr*; 87: 1080S-1086S.,2008
- 93- Cornet, A., Baudet, C., Neveu, I., Baron-Van Evercooren, A., Brachet, P., and Naveilhan, P., 1,25-Dihydroxyvitamin D3 Regulates the Expression of VDR and NGF gene in Schwann cells in vitro. *J. Neurosci. Res.* 53, 742–746, 1998
- 94- Shaw NJ, Pal BR. Vitamin D Deficiency in UK Asian Families: Activating a New Concern. *Arch Dis Child* 2002; 86:147-9. 46. Wharton B, Bishop N. Rickets. *Lancet*; 362:1389-400.,2003
- 95- Jones G, Strugnell S, DeLuca H.F. Current Understanding of the Molecular Actions of Vitamin D. *Physiol Revs.*; 78:1193-8.,1998
- 96- Ladhani S, Srinivasan L, Buchanan C and Allgrove J. Presentation of Vitamin D deficiency. *Arch Dis Child*; 89:781-4, 2004
- 97- Saporito MS, Brown ER, Hartpence KC, Wilcox HM, Vaught JL, et al. Chronic 1,25-Dihydroxyvitamin D3-Mediated Induction Of Nerve Growth Factor mRNA and Protein in L929 Fibroblasts and in Adult Rat Brain. *Brain Res* 633: 189–196,1994
- 98- Neveu I, Naveilhan P, Jehan F, Baudet C, Wion D, et al. 1,25dihydroxyvitamin D3 Regulates the Synthesis of Nerve Growth Factor in Primary Cultures of Glial Cells. *Brain Res Mol Brain Res* 24: 70–76, 1994

- 99- Brown J, Bianco JI, McGrath JJ, Eyles DW. 1,25-dihydroxyvitamin D3 İnduces Nerve Growth Factor, Promotes Neurite Outgrowth and İnhibits Mitosis in Embryonic Rat Hippocampal Neurons. *Neurosci Lett* 343: 139–143,2013
- 100- Naveilhan P, Neveu I, Wion D, Brachet P. 1,25-Dihydroxyvitamin D3, an İnducer of Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor. *Neuroreport* 7: 2171–2175,1996
- 101- Misra M, Pacaud D, Petryk Collett-Solberg PF, Kappy M. Drug and Therapeutics Committee of the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society. Vitamin D Deficiency in Children and Its Management: Review of Current Knowledge and Recommendations. *Pediatrics*; 122: 398-417,2008
- 102- Cannel JJ, Hollis BW, Zasloff M, Heaney RP, Diagnosis and Treatment of Vitamin D Deficiency, *Expert Opin. Pharma Cother.*9(1):107-118,2008.
- 103- Arthur C. Guyton, John E. Hall. *Membran Potansiyelleri ve Aksiyon Potansiyelleri.*(çev.) Hayrünisa ÇAVUŞOĞLU. *Medical Physiology*. 10. Baskı. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company, 5,52-65, 2001
- 104- Kim E Barrett, Scott Boitano, Susan M. Barman, Heddwen L Brooks. *Excitable Tissue: Nerve*. *Ganong's Review of Medical Physiology*. 23rd edition. : Lange ,II,s. 79-92, 2010
- 105- https://en.wikipedia.org/wiki/Action_potential
- 106- International Association for the study of pain (IASP) Taxonomy, 1994.<http://www.iasp-pain.org/Taxonomy#>
- 107- Wu Z, Malihi Z, Stewart AW, Lawes CMM, Scragg R. The Association Between Vitamin D Concentration and Pain: a Systematic Review and meta-Analysis. *Public Health Nutrition* 21(11):2022-2037,2018.
- 108- Ertekin C. *Ağrının nöroanatomi ve Nörofizyolojisi. Ağrı ve tedavisi*. Editör İbrahim Yegül. İzmir: Yapım Matbaacılık, 1-2, 1993

- 109- Guyton AC, Hall JE. (Çeviri: H. Çavuşoğlu). Somatik Duyular.II. Ağrı, Başağrısı ve Termal Duyular, Tıbbî Fizyoloji,10.Basım, Philadelphia: Nobel Tıp Kitabevleri,552-3; 2001
- 110- Morgan GE, Mikhail MG. Pain Management. In: Clinical Anesthesiology, 2 ed. New Jersey: PrenticeHall International, Inc.: 274-316, 1996
- 111- Kayhan Z. Klinik Anestezi. 2. Baskı İstanbul: Logos Yayıncılık, 759-87., 1997
- 112- Türkoğlu M. Ağrının tanımlanması ve Ölçümü. Ağrı ve tedavisi. İbrahim Yegül (ed). İzmir: Yapım Matbaacılık, 19-99, 1993
- 113- Merskey HM, Bogduk N, Classification of Chronic Pain, 2 ed., Seattle: IASP Press, 211-8., 1994
- 114- Ertekin C. Ağrının nöroanatomi ve nörofizyolojisi. Ağrı ve Tedavisi. Editör İbrahim Yegül. İzmir: Yapım Matbaacılık, 1-18 s., 1996.
- 115- Aydın ON, Ağrı ve Ağrı Mekanizmalarına Güncel Bakış, ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi; 3(2) : 37 - 48 ,2002
- 116- Süzer Ö. Opioid Analjezikler ve Antagonistleri, Süzer Farmakoloji. Ankara: Klinisyen Tıp Kitapevleri, s:6-245, 2005.
- 117- Schultes RE. Random thoughts and Queries on the Botany of Cannabis. In: Joyce CRB, Curry SH (ed). The Botany and Chemistry of Cannabis. London: J & A Churchill, 11-38, 1970.
- 118- Kanaan SA, Saade NE, Haddad JJ, et al. Endotoxin-İnducedlocal İnflammation and Hyperalgesia in Rats, A New Model for İnflammatory Pain. Pharmacology; 66:373-9, 1996
- 119- Taşkale P, Topaloğlu İ. The Healing Effects of Vitamin E with Corticosteroid and Vitamin E Alone on Nevre Healing in Rats with Travmatic Facial Palsy KBB İhtis Derg 20(5):255-259,2010
- 120- Bancroft JD, Gamble M, Theory and Practice of Histological Techniques, Hollywood: Churcill Livistone,8:121-473,2007

- 121- Mark L. Wang, b et al. Peripheral Nerve Injury, Scarring, and Recovery, *Journal Connective Tissue Research*,60:3-9,2018
- 122- Noble J, Munro CA, Prasad VS, Midha R, Analysis of Upper and Lower Extremity Peripheral Nerve Injuries in a Population of Patients with Multiple Injuries. *Jtrauma* 45:116–122, 1998
- 123- Atkins S, Smith KG, Loescher AR, Boissonade FM, O’Kane S, Ferguson MWJ, Robinson PP, Scarring Impedes Regeneration at Sites of Peripheral Nerve Repair. *Neuroreport* ,17:1245–1249,2006
- 124- Onix Reyes, Iván Sosa, Damién P. Kuffler Promoting Neurological Recovery following A Traumatic Peripheral Nerve Injury, *P R Health Sci J.* 24(3):215-23, 2005
- 125- Hongzhi Sun,¹ Tao Yang,¹ Qing Li,² Zhitu Zhu,¹ Lei Wang,¹ Guang Bai,¹ Dongsheng Li,¹ Qiang Li,¹ and Wei Wang Dexamethasone and vitamin B12 Synergistically Promote Peripheral Nerve Regeneration in Rats by Upregulating the Expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor *Arch Med Sci.* Nov 9; 8(5): 924–930, 2012
- 126- Evelyn B, Enrione PHD, et al. A vitamin E-deficient Diet Affects Nerve Regeneration in Rats *Nutrition* .15;2140-144, 1999
- 127- Khalaf Al Moutaery, Mohammed Arshaduddin, Mohammad Tariq & Saleh Al Deeb Functional Recovery and Vitamin E Level Following Sciatic Nerve Crush Injury in Normal and Diabetic Rats *Journal International Journal of Neuroscience* .96, 3-4, 1998
- 128- Genç A, Sevim DG ve ark. D Vitamininin Çeşitli Hastalıklardaki Nadir Kullanım Alanları *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 68 (2),2015

- 129- Prietl B, Treiber G, Mader JK, HoellerE, Wolf M, Pilz S, et al. High-dosecholecalciferol supplementationsignificantly increases peripheralCD4(+) Tregs in healthy adults without negatively affecting the frequency of other immune cells. *European journal of nutrition*. 53(3):751-9.2014. PubMed PMID: 23999998.
- 130- Çelik H, Mut S, Deneysel Spinal Kord Yaralanmasında Vitamin D3'ün Motor Fonksiyonlar Üzerine Olan İyileştirici Etkisi, *TJN* 21; 2: 2015
- 131- Baas D, Prufer K, Ittel ME, Kuchler-Bopp S, Labourdette G, et al. Ratoligodendrocytes Express the Vitamin D(3) Receptor and Respond to 1,25-Dihydroxyvitamin D(3). *Glia* 31: 59–68,2000
- 132- Cornet A, Baudet C, Neveu I, Baron-Van Evercooren A, Brachet P, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 Regulates the Expression of VDR and NGF Gene in Schwann cells in vitro. *J Neurosci Res* 53: 742–746,1998.
- 133- G. D. Sternel, R. A. Brown, C. J. Green and G. Terenghi Neurotrophin-3 Delivered Locally via Fibronectin Mats Enhances Peripheral Nerve Regeneration *European Journal of Neuroscience*, 9: 1,1997
- 134- Johnson EM jr, Rich KM, Yip HK. The role of NGF in Sensory Neurons in vivo. *Trends Neurosci*,9:33–7.1986
- 135- Rich KM, Yip HK, Osborne PA, Schimidt RE, Johnson EM. Effect of Nerve Growth Factor in Adult Dorsal Root Ganglia Neurons and Its Response to Injury. *J Comp Neurol*; 230:110–8,1984
- 136- Taniuchi M, Clark HB, Jhonson EM. Induction of Nerve Growth Factor Receptor in Schwann Cells After Axotomy. *Proc Natl Acad Sci USA*; 83:4094–8,1986
- 137- Gold BG. Axonal Regeneration of Sensory Nerves is Delayed by Continuous Intrathecal Infusion of Nerve Growth Factor. *Neuroscience* ;76(4):1153–8,1997

- 138- Heumann R, Korsching S, Bandtlow C, Thoenen H. Changes in Nerve Growth Factor Synthesis in Non-Neuronal Cells in Response to Sciatic Nerve Transection. *J Cell Biol* ;104:1623–31,1987
- 139- Barrett, GL Georgia, A. A Low Affinity Nerve Growth Factor Receptor P75NGFR Mediates Death of PC12 Cells after Nerve Growth Withdrawal, *J Neurosci Res.* ;45(2):117-28,1996
- 140- Rich KM, Alexander TD, Pryor JC, Hollowell JP. Nerve Growth Factor Enhances Regeneration Through Silicone Chambers. *Exp Neurol* 105:162–70,1989
- 141- Pang QJ, Luo YX, et al. Experimental Studies on Peripheral Nerve Regeneration Enhanced by Nerve Growth Factor. *J Tongji Med Univ* ;13:34–9,1993
- 142- Derby A, Engleman VW, Friedrich GE, Neises G, Rapp SR, Roufa DG. Nerve Growth Factor Facilitates Regeneration Across Nerve Gaps: Morphological and Behavioral Studies in Rat Sciatic Nerve. *Exp Neurol* .119:176–91, 1993
- 143- Xavier Santos, Jose' Rodrigo, et al. Evaluation of Peripheral Nerve Regeneration by Nerve Growth Factor Locally Administered with a Novel System *Journal of Neuroscience Methods* 85, 119–127,1998
- 144- Ernfors, P., K.F. Lee, J. Kucera, and R. Jaenisch. 1994. Lack of Neurotrophin-3 Leads to Deficiencies in the Peripheral Nervous System and Loss of Limb Proprioceptive Afferents. *Cell*. 77:503-512.388-1396, 1997
- 145- Tessarollo, L., K.S. Vogel, M.E. Paiko, S.W. Reid, and L.F. Parada. Targeted Mutation in the Neurotrophin-G3 Results in Loss of Muscles Sensory Neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 91:11844-11848, 1994
- 146- Airaksinen M, Koltzenburg G, et al. Specific Subtypes of Cutaneous Echanoreceptors Require Neurotrophin-Following Peripheral Target Innervation *Neuron*1. 6:287-295, 1996

- 147- Averbuch-Heller, L., M. Pruginin, et al. Neurotrophin 3 Stimulates the Differentiation of Motoneurons from Avian Neural Tube Progenitor Cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 91:3247-3251, 1994
- 148- Zhang R, Zhang Y. Identification of Critical Growth Factors for Peripheral Nerve Regeneration, *RSC Advances*, 19, 2019.
- 149- Sandesh Panthi and Kripa Gautam, Roles of Nitric Oxide and Ethyl Pyruvate After Peripheral Nerve Injury. *Inflamm Regen.*37: 20,2017
- 150- Yamasaki K, Edington HD, McClosky C, Tzeng E, Lizonova A, Kovesdi I, Steed DL, Billiar TR. Reversal of Impaired Wound Repair in iNOS-deficient Mice by Topical Adenoviral-Mediated iNOS Gene Transfer. *J Clin Investig.*;101:967,1998
- 151- Sinz EH, Kochanek PM, Dixon CE, Clark RS, Carcillo JA, Schiding JK, Chen M, Wisniewski SR, Carlos TM, Williams D. Inducible nitric oxide synthase is an endogenous neuroprotectant after traumatic brain injury in rats and mice. *J Clin Invest.* ;104:647–56, 1999
- 152- Kelamangalath, L., Tang, X., et al. Neurotrophin Selectivity in Organizing Topographic Regeneration of Nociceptive Afferents. *Exp. Neurol.* 271,262–278, 2015
- 153- Madduri, S., di Summa, P., et al. Effect of controlled co-delivery of Synergistic Neurotrophic Factors on Early Nerve Regeneration in Rats. *Biomaterials* 31, 8402–8409,2010
- 154- Madduri S., Feldman, K, et al. Collagen nerve conduits releasing the neurotrophic factors GDNF and NGF. *J. Control. Release* 143, 168–174, 2010
- 155- Liangliang Huang, Bing Xia, Xiaowei Shi, Jianbo Gao, Yujie Yang, Feng Xu, Fengyu Qi, Chao Liang, Jinghui Huang, and Zhuojing Luo Time-restricted release of multiple neurotrophic factors promotes axonal regeneration and functional recovery after peripheral nerve injury *FASEB J.* Jul;33(7):8600-8613,2019

- 156- Schoonhoven R , Stegeman DF ,Models and analysis of compound nerve action potentials. *Critical Reviews in Biomedical Engineering* Un MK, Kaghazchi H. [01 Jan, 19(1):47-111], 1991
- 157- Determination of Nerve Fiber Diameter Distribution From Compound Action Potential: A Continuous Approach *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng.* ;26(1):77-83, 2018
- 158- Hang J. Lee, MD Compound Nerve Action Potential of Common Peroneal Nerve Recorded at Fibular Neck Its Clinical Usefulness *Am. J. Phys. Med. Rehabil*, 80(2):108-12, 2001
- 159- Colotta F, Jansson B, Bonelli F, Modulation of inflammatory and immune responses by vitamin D. *J Autoimmun* 85:78–97, 2017
- 160- Sassi F, Tamone C, D’Amelio P, Vitamin D: nutrient, hormone, and immunomodulator. *Nutrients* 10(11):1656–1670, 2018
- 161- Plotnikoff GA, Quigley JM (2003) Prevalence of severe hypovitaminosis D in patients with persistent, nonspecific musculoskeletal pain. *Mayo Clin Proc* 78(12):1463–1470, 2003
- 162- Lotfi A, Abdel-Nasser AM, Hamdy A, Omran AA, El-Rehany MA ,Hypovitaminosis D in female patients with chronic lowback pain. *Clin Rheumatol* 26(11):1895–1901, 2007
- 163- Mouyis M, Ostor AJ, Crisp AJ, Ginawi A, Halsall DJ, Shenker N, Poole KE ,Hypovitaminosis D among rheumatology outpatients in clinical practice. *Rheumatology (Oxford)* 47(9):1348, 2008
- 164- Poisbeau, Maya Aouad, Géraldine Gazzo, Adrien Lacaud, Véronique Kemmel, Véréna Landel, Vincent Lelievre, François Feron Cholecalciferol (Vitamin D3) Reduces Rat Neuropathic Pain by Modulating Opioid Signaling *Molecular Neurobiology* 56:7208–7221, 2019

- 165- Banafshe HR, Khoshnoud MJ, Abed A, Saghazadeh M, Mesdaghinia A, Vitamin D Supplementation Attenuates the Behavioral Scores of Neuropathic Pain in Rats. *Nutr Neurosci* 12:1–6, 2018
- 166- Tague SE, Smith PG, Vitamin D Receptor and Enzyme Expression in Dorsal Root Ganglia of Adult Female Rats: Modulation by Ovarian Hormones. *J Chem Neuroanat* 41:1–12, 2011
- 167- Tague SE, Clarke GL, Winter MK, McCarson KE, Wright DE, Smith PG, Vitamin D Deficiency Promotes Skeletal Muscle Hypersensitivity and Sensory Hyperinnervation. *J Neurosci* 31(39):13728–13738, 2011
- 168- Sarah E. Tague, Gwenaelle L. Et al, Vitamin D Deficiency Promotes Skeletal Muscle Hypersensitivity and Sensory Hyperinnervation *The Journal of Neuroscience*, 31(39):13728 –13738, 2011
- 169- Kuru P, Akyuz G et al, Hypovitaminosis D in Widespread Pain: Its Effect on Pain Perception, Quality of Life and Nerve Conduction Studies *Rheumatol Int* 35:315–322, 2015
- 170- Hoke, A. Mechanisms of Disease: What Factors Limit the Success of Peripheral Nerve Regeneration in Humans? *Nat. Clin. Pract. Neurol.*, 2, 448–454, 2006
- 171- Boyd, J.G. & Gordon, T. Neurotrophic Factors and Their Receptors in Axonal Regeneration and Functional Recovery After Peripheral Nerve Injury. *Mol. Neurobiol.*, 27, 277–324, 2003
- 172- Tannemaat M R, Eggers R, et al, Differential Effects of Lentiviral Vector-Mediated Overexpression of Nerve Growth Factor and Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor on Regenerating Sensory and Motor Axons in the Transected Peripheral Nerve *European Journal of Neuroscience*, 28:1467–1479, 2008

- 173- A. Höke, R. Redett, et al, Schwann Cells Express Motor and Sensory Phenotypes That Regulate Axon Regeneration *The Journal of Neuroscience*, September 20, 26(38):9646–9655,2006
- 174- Blake N. Johnson, Karen Z. Et al, 3D Printed Anatomical Nerve Regeneration Pathways *Adv. Funct. Mater*, 25, 6205–6217, 2015
- 175- Moradzadeh A, Borschel G H, Janina P., The Impact of Motor and Sensory Nerve Architecture on Nerve Regeneration *Experimental Neurology* 212 ,370–376,2008
- 176- Lim, T. K., Shi, X. Q., Johnson, J. M., Rone, M. B., Antel, J. P., David, S., & Zhang, J. (2015). Peripheral Nerve Injury Induces Persistent Vascular Dysfunction and Endoneurial Hypoxia, Contributing to the Genesis of Neuropathic Pain.
- 177- Gao, Y., Weng, C., Changes in Nerve Microcirculation Following Peripheral Nerve Compression. *Neural Regeneration Research*, 8(11), 1041–1047, 2013
- 178- Caseiro R A A R, Pedrosa S S, et al., Peripheral Nerve Injury and Axonotmesis: State of the Art and Recent Advances *Cogent Medicine* ,2018
- 179- Saika T, Senba E, Noguchi K, et al. Effects of Nerve Crush and Transection on mRNA Levels for Nerve Growth Factor Receptor in the Rat Facial Motoneurons. *Brain Res Mol Brain Res*;9:157Y60, 1991
- 180- Yetiser S, Kahraman E An Analysis of Time-Dependent Changes of Neurotrophic Factors (BDNF, CNTF) in Traumatic Facial Nerve Injury of a Nerve-Cut and Nerve-Crush Model in Rats *Otology & Neurotology*,.29(3)2008
- 181- Gutmann, E, Guteman, L, et al. Z. The Rate of Regeneration of Nerve. *J. exp. Biol.* 19, 14 44, 1942
- 182- J. Haftek, Thomas P. K., Electron-Microscope Observations on the Effects of Localized Crush Injuries on the Connective Tissues of Peripheral Nerve *J. Anat*, 103, 2: 233-243, 1968

183- Young, J. Z. Factors Influencing the Regeneration of Nerves. Adv. Surg. 1,
165-220,1949



8. ÖZGEÇMİŞ

Kasım 1988 yılında Malatya’da doğdu.1994 yılında 30 Ağustos İlköğretim Okulu’nda başladığı ilköğrenim hayatına daha sonra Sümer İlköğretim Okulunda devam etti. 2002 yılında lise öğrenimine Malatya Fen Lisesi’nde devam ederek 2006 yılında mezun oldu. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde yüksek öğrenime başlayıp, 2012 yılında mezun oldu. 2013 Eylül Tıpta Uzmanlık Sınavı ile Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya hak kazandı.



17.01.2019

Sayı : 65202830-050.04.04-242

Konu : Etik Kurul Kararı.

Sayın Dr.Öğr.Üyesi.Handan DEREBAŞINLIOĞLU
Tıp Fakültesi
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi

Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 17.01.2019 tarihinde Prof.Dr.Haki KARA başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.

Dr.Öğr.Üyesi.Handan DEREBAŞINLIOĞLU'nun yürütücülüğünü yapmış olduğu ve yardımcıları Prof.Dr.Hatice Reyhan EĞİLMEZ Doç.Dr.Ayşe DEMİRKAZIK İstatistik Sorumlusu.Selim ÇAM Arş.Gör.İnanç Doğan ÇİÇEK'in 03.01.2019 tarih ve 187 sayılı "Ratlarda siyatik sinir iyileşmesi üzerine D vitamininin etkisi." isimli Uzmanlık Tezi Projesi Etik Kurulumuzca kabul edilmiştir.

Prof.Dr.İhsan HUBBEZOĞLU
ÜyeProf.Dr.Zübeyda Akın POLAT
ÜyeDr.Öğr.Üyesi.Ahmet Duran ATAŞ
ÜyeDr.Öğr.Üyesi. Cengiz GÜNEY
ÜyeDr.Öğr.Üyesi.Erhan YÜKSEL
ÜyeDr.Öğr.Üyesi.Erkan GÜMÜŞ
ÜyeDr.Öğr.Üyesi.Hakan İŞİDAN
ÜyeDr.Öğr.Üyesi.Mustafa ATABEY
ÜyeDr.Öğr.Üyesi.M.Önder KARAYİĞİT
ÜyeUz.Vet.Hek.Yücel YALMAN
Üye – Başkanvekili

(Katılmadı)

Hilmi GÜL
Sivil ÜyeÖzcan KARATAŞ
Sivil ÜyeProf. Dr. Haki KARA
Başkan