

T.C.
KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
İZMİR ATATÜRK EĞİTİM ARAŞTIRMA HASTANESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ KLİNİĞİ

**PERİFERİK SİNİR LEZYONLARINDA EXENATİD(GLP-1
ANALOĞU)'İN SİNİR İYİLEŞMESİ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
FONKSİYONEL(MOTOR TEST), ELEKTROFİZYOLOJİK,
STEREOMİKROSKOBİK VE HİSTOLOJİK OLARAK
İNCELENMESİ**
(DENEYSEL ÇALIŞMA)

Dr. ERSİN KUYUCU

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. OSMAN ARSLAN BORA

T.C.
KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
İZMİR ATATÜRK EĞİTİM ARAŞTIRMA HASTANESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ KLİNİĞİ

**PERİFERİK SİNİR LEZYONLARINDA EXENATİD(GLP-1
ANALOĞU)'İN SİNİR İYİLEŞMESİ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
FONKSİYONEL(MOTOR TEST), ELEKTROFİZYOLOJİK,
STEREOMİKROSKOBİK VE HİSTOLOJİK OLARAK
İNCELENMESİ**
(DENEYSEL ÇALIŞMA)

Dr. ERSİN KUYUCU

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. OSMAN ARSLAN BORA

İZMİR-2012

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

TEŞEKKÜR.....	iv
KISALTMALAR	v
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
GEREÇ VE YÖNTEM	25
<i>ÇALIŞMA PLANI</i>	<i>27</i>
<i>ALT EKSTREMİTE KASLARI MOTOR YANIT DEĞERLENDİRME</i>	<i>28</i>
<i>ELEKTROFİZYOLOJİK DEĞERLENDİRME</i>	<i>29</i>
<i>CERRAHİ İŞLEM</i>	<i>33</i>
<i>STEREOMİKROSKOBİK DEĞERLENDİRME</i>	<i>37</i>
<i>HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME</i>	<i>37</i>
<i>İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME</i>	<i>38</i>
BULGULAR	38
<i>MOTOR TEST</i>	<i>38</i>
<i>AĞIRLIK ÖLÇÜMLERİ</i>	<i>40</i>
<i>KAN ŞEKERİ DEĞERLERİ.....</i>	<i>41</i>
<i>ELEKTROFİZYOLOJİK DEĞERLENDİRME</i>	<i>42</i>
<i>STEREOMİKROSKOBİK DEĞERLENDİRME</i>	<i>46</i>
<i>HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME</i>	<i>59</i>
TARTIŞMA VE SONUÇ	64
REFERANS	71

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince en iyi şekilde yetiştirilebilmem için bilgi, deneyim ve desteğini esirgemeyen değerli hocalarım **Prof .Dr.O.Arslan Bora** ve **Uzm.Dr. Recep Gür Ustaoglu**'na,

Eğitim sürecinin her aşamasında hoşgörü ve bilgilerini esirgemeyen eğitim sorumlumuz **Prof Dr Muhittin Şener**'e,

Asistanlığım süresince birlikte çalışmaktan onur duyduğum, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, çok değerli uzman ağabeylerim **Dr.Kemal Özkaya, Dr. Hüseyin Durmaz, Dr.Ali M.Dülgeroğlu, Dr.Mehmet Özdemir, Dr.Zeki Sertöz ve Dr.Fırat Seyfettinoğlu** 'na,

İyi kötü günlerimi, gecelerimi paylaştığım sevgili asistan arkadaşlarıma, özellikle kliniğe geldiğim ilk günden itibaren tüm sevinçleri ve üzüntüleri birlikte paylaştığım, tezimin her aşamasında benim yanımda olan, eş-kıdemim, kardeşim **Dr. Bilal Gümüş** 'e ,

Tüm hayatım boyunca olduğu gibi asistanlığım süresince ilgi, sevgi, anlayış ve desteklerini esirgemeyen, bugünlere gelmemi sağlayan canım aileme,

Tüm anlayışı, hoşgörüsü, ilgisi, desteği ve sevgisiyle hep yanımda olan sevgili eşime,

Sonsuz sevgi ve saygılarımla

Dr. Ersin KUYUCU

KISALTMALAR

MÖ milattan önce

MS milattan sonra

GLP-1 glukagon like peptid-1

EMGelektromyografi

Mm milimetre

m/ sn metre/ saniye

µm mikrometre

mm/gün milimetre/gün

msn..... milisaniye

GİRİŞ VE AMAÇ

Periferik sinirler, omurilik ön boynuzdaki motor nöronların, dorsal ganglionlardaki duysal nöronların ve sempatik ganglionlardaki sempatik nöronların, destek bağ doku ile çevrili aksonal uzantılarından oluşan ve sonlandıkları hedef organa göre motor, duyu ya da otonomik fonksiyonları olan yapılardır (1, 2).

Periferik sinirlerde oluşabilecek hasarlar, fonksiyonlarının kısmen ya da tam olarak ortadan kalkması ile sonuçlanır. Periferik sinir kesisi sonucu yapılan standart cerrahi onarımlara rağmen, çoğu zaman tam bir fonksiyonel iyileşme elde edilmez. Periferik sinir dokusunun tamirden sonra iyileşebilmesi için gerekli olan sürenin oldukça uzun olması, bu esnada ilgili kasın atrofiye gitmesi ve iyileşmenin her zaman tam olmaması sebebiyle, tamire olumlu veya olumsuz etki eden nedenlerin bilinmesi önem kazanmıştır(3,4).

Yeni teknolojilerin gelişimi, cerrahi mikroskop kullanımının yaygınlaşması, epinöral ya da perinöral dikişler ile gerilimsiz ve anatomik olarak sinir uçlarının karşılıklı suture edilebilmeleri, sinir dejenerasyon ve rejenerasyon işlemlerinin moleküler mekanizmalarının aydınlanmaya başlaması ile sinir cerrahisi alanında daha başarılı sonuçlar elde edilmeye başlanmıştır. Buna karşın, bugün halen sinir hasarı sonrası sinir iyileşmesinin, duysal ve fonksiyonel olarak hasar öncesi dönem ile aynı olmasını sağlayabilecek bir tedavi şekli tanımlanamamıştır (1, 5, 6, 7).

Periferik sinir hasarından sonra hasarlı dokuyu ortamdaki uzaklaştırmak, onarım işlemini başlatmak için bir dizi karmaşık olay meydana gelir. Periferik sinirler hasarlandıktan sonra, hasar bölgesi distalindeki tüm myelinli ve myelinsiz sinir lifleri önce Wallerian dejenerasyonu adı verilen bir dejenerasyon sürecine girerler. Bu dejenerasyon sürecini, hücresel onarım mekanizmalarının rol aldığı bir rejenerasyon süreci takip eder ve sinir onarılmaya çalışılır. Sinir hücreleri, vücudun diğer yerlerindeki hücresel onarım cevabı olan hücresel proliferasyon ve mitoz yeteneklerine sahip değildir. Buna karşın, sahip oldukları özel hücresel onarım mekanizmaları ile (tomurcuklanma) orijinal aksoplazmik hacimlerini tekrar sağlamaya çalışırlar. Özellikle hasar alanında rejenere olan aksonların yanlış yöne doğru hareket etmeleri, onarımı sekteye uğratan ana problemlerden biridir. Bu da ilgiyi, aksonal büyümeyi ve büyüme yönünü düzenleyen mikroçevresel faktörlerin önemi üzerine çekmektedir (5.8.9.10).

Yaralanmanın etyolojik nedeninden bağımsız olarak, sinir dokusunda iyileşmenin tam olmaması veya sinirin uygun olmayan rejenerasyonu, sıklıkla fonksiyonel kayıp ve ağrı ile sonuçlanır. Bu nedenle periferik sinir yaralanmalarından sonra tedavideki asıl amaç, sinir bütünlüğünün tekrar sağlanarak iletimin geri dönüşünü ve dolayısıyla kaybolan motor ve duyu fonksiyonlarının restorasyonunu sağlamaktır. Fonksiyonların maksimum şekilde geri dönüşünü sağlayabilmek için, aksonların uygun doğrultuda distal güdüğe yönlencmeleri gereklidir (2, 11, 12).

Nörotrofik faktörler ve büyüme faktörleri, sinir hücrelerinin yaşayabilirliklerini desteklemenin yanı sıra, aksonal büyümeyi de stimüle ederler. Glukagon benzeri peptid(GLP-1) besin alımını takiben ince barsak endokrin hücrelerinden salgılanan sekretin, vazoaaktif intestinal peptid(VİP), gastrik inhibitör polipeptid (GİP) ve büyüme hormonu salgılatan faktör(GHRF) ailesine ait 30 aminoasitten oluşan polipeptid bir hormondur(13). GLP-1'in, etkilerini gösterdiği reseptörleri(GLP-1R) santral sinir sisteminde, pankreasta, dorsal kök ganglionlarında, schwann hücrelerinde saptanmıştır. Endokrin ve nörotrofik etkisini bu reseptörleri aracılığı ile yapmaktadır.(1)

Bu deneysel çalışmada amaç oluşturulan siyatik sinir hasar modellerinde exenatid(GLP-1 analogu) 'in nörotrofik etkisinin araştırılması, morfolojik ve stereolojik değişikliklerin saptanmasıdır. Elde edilen verilerin periferik sinir yaralanmaları sonrası uyguladığımız tedavi şekillerine ve bilgilerimize katkısı olabileceği düşünülmektedir.

GENEL BİLGİLER

Tarihçe

Periferik sinir sistemine ait ilk tanımlamalar Hipokrat' a (MÖ 460–370) aittir. Periferik sinir yaralanmaları üzerine ilk çalışmaları ise Galen (MS 130 – 200) yapmıştır, sinirlerin kesilmesi sonrası vücutta his güç ve duyu ile ilgili değişiklikler olduğunu bulmuştur. O zamanlar imkansız olarak kabul edilen periferik sinir yaralanmalarının onarılabileceği 200 yıldan beri bilinmektedir (17). Periferik sinir yaralanmalarının tedavisi ile ilgili ilk çalışmalar 1795 yılında başlamıştır ve özellikle I. ve II. Dünya Savaşları sırasında periferik sinir yaralanmalarının sayısının artmasıyla bu yöndeki çalışmalar hızlanmıştır. Bilinen ilk girişimler Paget tarafından yayınlanmıştır (18). Golgi ile Cajal 1906'da sinir sisteminin fonksiyonel bağlantılarla birbirine geçmiş sinir hücrelerinden oluşan bir şebekeden oluştuğunu açıklayan çalışmalarıyla Nobel ödülünü almışlardır (19). Savaş yaralanmalarındaki sinir onarımları ve klinik olarak sinir rejenerasyonu ilk kez Tinel (1915) tarafından gözlenmiş ve yayınlanmıştır. Bu alanda ikinci Nobel ödülü (1944), sinir liflerinin fonksiyonlarını açıklayan elektrofizyolojik çalışmaları ile Erlanger ve Gasser' e verilmistir. Waller, kurbağaların hipoglossal ve glossofaringeal sinirlerinde travmanın distalindeki değişiklikleri açıklamış ve distal güdükte meydana gelen *Wallerian* dejenerasyon sürecini tanımlamıştır (16, 18). Daha sonra Hueter tarafından periferik sinirde epinöral onarım metodu tanımlanmıştır (17). Periferik sinir cerrahisi alanındaki ilk ayrıntılı çalışmalar Seddon'a aittir.(1948) Savaş yaraları üzerinde farklı seviyelerde sinir yaralanmalarını incelemiş ve kendi adıyla anılan Seddon sınıflamasını getirmiştir. Onarım sonrası sinir rejenerasyonu greft ile sinir onarım teknikleri, iskeminin sinir üzerine etkileri konularında da onculuk etmesi açısından önemli çalışmalar yapmıştır(20). Bu alandaki diğer bir oncu olan Sunderland , periferik sinirin internal topografik anatomisi üzerine önemli çalışmalar yapmıştır (21). Daha sonraları fasikuler sinir onarım tekniğinin gelişmesinde öncü olmuştur. Günümüzde uygulanan periferik sinir cerrahisine önemli katkıda bulunan Millesi, Terzis, Moberg ve Dellon , sinir onarımında greftler ve gerginlik, tedavi teknikleri ve duysal innervasyonla ilgili çalışmalar yapmışlardır (22,23,24).

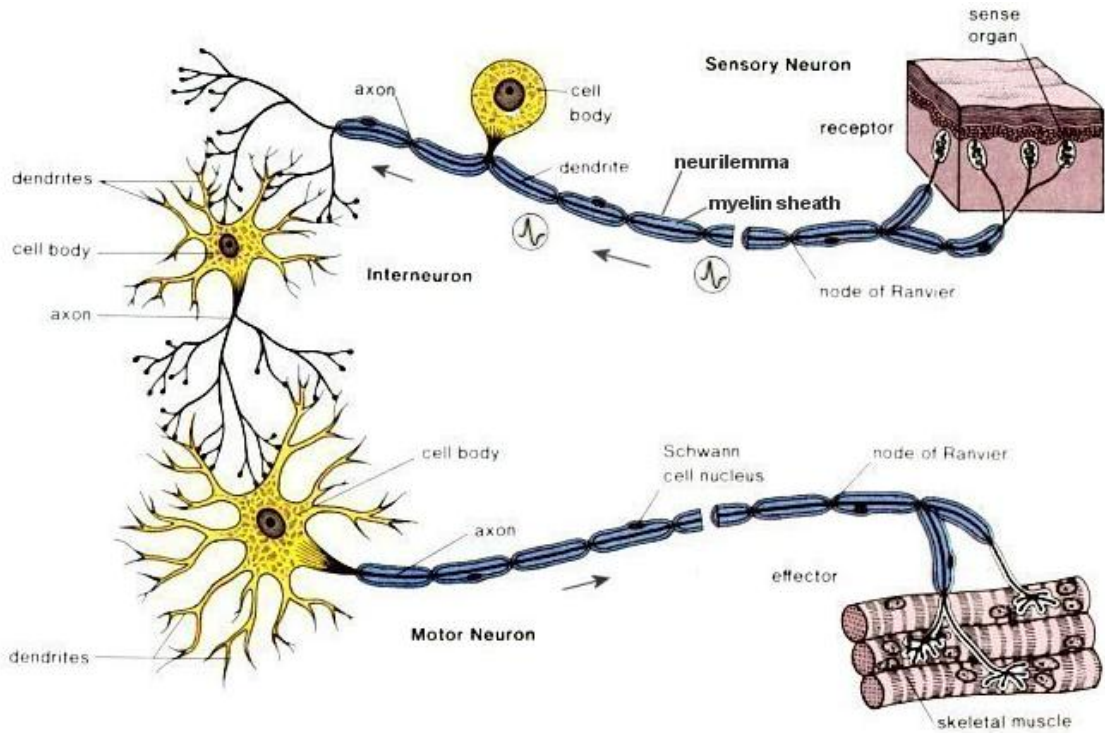
Periferik Sinir Anatomisi

Periferik sinir sistemi sinir hücrelerinin, destek bağ dokunun, hücresel elemanların ve uç organların birlikte hareket ettiği karmaşık bir yapıdır. Anatomik olarak, beyin ve spinal korddan oluşan santral sinir sistemi ile, sinir lifleri ve sinir hücrelerinin küçük kümeleri olan sinir ganglionlarından oluşmuş periferik sinir sistemi olarak sınıflandırılabilir. Periferik sinir sistemi çevreden gelen uyarıları merkezi sinir sistemine, merkezden gelen uyarı ve yanıtları da son organa iletmekle görevlidir. Merkezi sinir sistemi bu şekilde periferdeki dokularla ilişkidir; afferent liflerle alınan duyu mesajları arka kök ganglionlarına gelir ve motor iletiler omurilik ön boynuz uzantılar ile ilişki kurarlar ve her bir nöron genelde perifere tek bir aksoplazmik uzantı gönderir (25).

Periferik sinir embriyolojik olarak ektodermal tabakadan gelişir. Embryonik hayatın 3–4. haftalarında nöroektoderm içerisinde nöral krest hücreleri şekillenir ve mezoderm içersine göç ederler. Burada arka kök ganglionları, Schwann hücreleri ve diğer nöroblastik hücrelerin büyümeleri ve farklılaşmaları başlar. Schwann hücreleri tarafından gerçekleştirilen myelinizasyon fetal hayatın 4. ayından itibaren başlar (1). Periferik sinir duysal, motor ve sempatik liflerden oluşur. Motor sinirlerin hücre gövdeleri medulla spinalis ön boynuzunda, duyu sinirlerinin hücre gövdeleri dorsal spinal arka kökler içerisinde yerleşmiştir. Duyu ve motor lifleri içeren periferik sinirler, dorsal ve ventral spinal köklerin birleşmesinden oluşmaktadır (Şekil 2.1). Otonom sinir sistemine ait nöronlar ise, merkezi sinir sistemi içinde ve dışında bulunan nükleus ve ganglionlarda toplanmışlardır (1).

Sinir Hücresi (Nöron)

Sinir sistemini fonksiyonel ünitesi sinir hücresidir (nöron). Her bir sinir hücresi hücre gövdesi (perikaryon, soma), dendrit ve akson olmak üzere 3 kısımdan oluşur (Şekil 2.2). Motor sinirlerin hücre gövdeleri omurilik ön boynuzda, duyu sinirlerinininki ise arka kök ganglionlarında yerleşiktir. Hücre gövdesinde yerleşik reseptör fonksiyonu gören çok sayıdaki sitoplazmik çıkıntı dendrit olarak adlandırılır. Dendritler, çevreden gelen

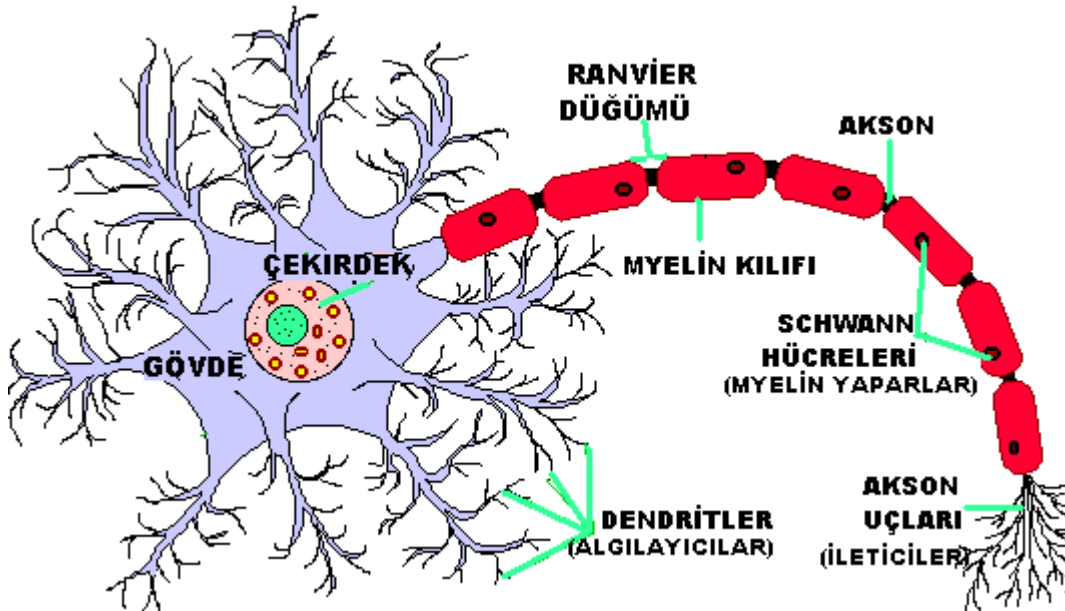


Şekil 1: Periferik sinir duyu ve motor köklerin şematik çizimi

uyarıları hücre gövdesine iletirler ve nöronlar arasındaki iletişimi sağlarlar. Sinir hücrelerinin perifer ile iletişimini sağlayan uzantı ise aksondur. Sıklıkla her bir sinir hücresinin pek çok dendriti olmasına karşın, tek bir aksonu vardır. Aksonlar, orijinal hücre gövde çapının binlerce katı kadar uzunlukta perifere uzanım gösterebilirler. Sinir hücresinde metabolik olaylar, hücre gövdesinde gerçekleşir; bu nedenle sinirin fonksiyonunu yapabilmesi için, periferik aksonal uzantılar ile sinir gövdesinin devamlılık göstermesi gerekir. Aksonun gövde ile ilişkisi herhangi bir nedenle kesintiye

uğrarsa, aksonda sinir fonksiyonunun devamlılığı için gereken metabolik olaylar gerçekleşemediği için, distal kısımları dejenerasyona uğrar (5, 25).

Her bir sinir hücresi içerisinde tek bir çekirdek ve birden fazla çekirdekçik bulunur. En belirgin sitoplazmik organeller golgi cisimcikleri ve mitokondrilerdir. Bu organeller nöronal uyarı iletiminde enerji kaynakları olarak görev yaparlar. Bazofilik Nissl cisimcikleri ve granüllü endoplazmik retikulum da gövdede mevcuttur ve bu yapılar, sinir rejenerasyonu gibi metabolik hızın arttığı durumlarda sayıca artış gösterirler (25).



Şekil 2: Sinir hücre anatomisi (22)

Akson

Hücre gövdesinden huni şeklinde bir genişleme (akson tepeciği, akson hillock) ile çıkan sinir uzantısıdır. Akson boyunca devamlılık gösteren, yüksek fosfolipid içeriği olan ve istirahat potansiyelinin devamlılığını sağlayabilecek özelliklere sahip üç katlı aksolemma adı verilen bir zarla çevrilidir (25).

Hücre sitoplazmasının akson içerisindeki eş değeri aksoplazmadır. Aksoplazmada, çeşitli proteinler, hücre iskeletini oluşturan mikrotübüller ve nörofilamanlar bulunur. Bunlar yapısal bütünlüğün devamının sağlanmasında ve aksonal iletimde önem taşırlar.

Aksonlar, myelinli ya da myelinsiz olabilirler. Myelin kılıf periferik sinir sisteminde Schwann hücreleri tarafından yapılır (1). Aksoplazma içerisinde mitokondri, düz endoplazmik retikulum, lizozom ve veziküller gibi organellerin bulunmasına karşın, protein sentezi yapabilen golgi cisimcikleri ya da granüllü endoplazmik retikulumlar yoktur. Bu nedenle canlılıklarını koruyabilmek için hücre gövdesi ile devamlılıklarının korunması gerekir (25).

Sinirin akson terminalinde, başka bir sinir hücresi, kas ya da salgı bezi ile yaptığı bağlantıya sinaps adı verilir. Sinaps ile, sinir üzerinde ilerleyen uyarı hedef organa iletilmiş olur (1).

Aksonal İletim

Aksonal iletim sistemi, Ca-Mg ATPaz ile sağlanan ATP'ye bağımlıdır. Aksonal taşıma iki yönlüdür. Anterograd (somatofugal) taşıma ile sinir hücre gövdesinde sentezlenen pek çok madde farklı hızlarda akson boyunca taşınır. İki farklı hızda anterograd taşıma vardır:

1) Yavaş taşıma: 1–6 mm/gün hız ile aksonların sitoskeletal elemanları taşınır. Aktin, tübülün gibi mikrotübül proteinleri, nörofilaman ve mikrofilamanlar bu yolla taşınırlar.

2) Hızlı taşıma: Yaklaşık 400 mm/gün hız ile glikoprotein, lipid gibi hücre zarı bileşenleri, çeşitli enzimler ve nörotransmitter içeren veziküller taşınır. Retrograd (somatopedal) taşıma, akson terminalinden hücre gövdesine doğru olan taşıma sistemidir. Ortalama hız 240 mm/gün kadardır. Retrograd taşıma ile nörotransmitter veziküllerinin ve intra-aksonal proteinlerin geri dönüşümü sağlanır. Ayrıca akson terminalindeki ya da kesilmiş akson ucundaki sinir büyüme faktörü gibi nörotrofik faktörler ve herpes simpleks, polio gibi virüsler de geriye doğru taşınabilirler (5,6, 25).

Schwann Hücreleri ve Myelin Kılıf

Schwann hücreleri, akson etrafında yer alan, iyon dengesinin sağlanmasına, nörotransmitterlerin dağılımına ve aksoslemma boyunca sodyum kanallarının yerleşimine katkıda bulunan hücrelerdir. Nöroektodermal kökenli bu hücreler, periferik sinir sisteminin uydu hücreleridir ve akson çevresinde konsantrik karakterde fosfolipid bir tabaka olan myelin kılıfını sentezlerler. Myelinli ya da myelinsiz olsun, her sinir lifinde aksonlar ucuca dizilmiş Schwann hücreleri ile sarılmışlardır. Myelinli liflerde

her bir Schwann hücresi tek bir aksonu çevrelerken, myelinsiz liflerde bir Schwann hücresi birden fazla aksonu çevrelemektedir. Ayrıca Schwann hücreleri tip 4 kollajen ve lamininden oluşan bir bazal membran üretirler ve bu da sinir lifini çevreler. Bu bazal membranın sinir rejenerasyonundaki rolü çok önemlidir, özellikle sinir rejenerasyonu sırasında, yeni büyümekte olan aksonal tomurcukların distal sinir güdüğüne uzanımları sırasında rehberlik görevi görür (25).

Myelin yapısı diğer hücre zarlarına benzemesine karşın içeriği farklıdır. Biyokimyasal olarak %75 lipid ve %25 proteinden meydana gelir. Myelin tabaka içerisinde bulunan lipidlerin %20 ila %30'unu oluşturan kolesterol, multilamellar yapının stabilizasyonunu sağlamaktadır. (26).

Büyük çaplı sinirlerin hemen hepsi myelinli iken, çapı 1 mikrometreden (μm) küçük aksonlar genellikle myelinsizdir. Memelilerde dorsal spinal köklerin ve kutanöz sinirlerin yaklaşık %75'i, kasa giden liflerin %50'si ve postganglionik otonomik liflerin tamamına yakını myelinsizdir. Myelinli aksonların da myelinsiz kısımları vardır. Bu kısımlar, iki Schwann hücresi arasında kalan bölge olan Ranvier düğümleri ve akson çıkış bölgesi olan akson tepciğidir. Bu bölgeler sinir ileti hızı açısından önem taşır. Ranvier düğümleri, uyarının sıçrayıcı (saltatuar) şekilde iletimi ile çok hızlı taşınmasını sağlar (1, 25). Bir sinirin myelinli olması aksiyon potansiyelinin iletim hızını arttırmaktadır. Myelin kılıfın kalınlığı da iletim hızını etkiler. Myelinsiz liflerde çap 0.2–1.5 μm ve iletim hızı 0.4–2.0 m/sn (metre/saniye) iken; kalın myelinli sinirlerde çap 12–20 μm ve iletim 72–120 m/sn gibi yüksek hızlardadır (1).

Sinir lifleri iletim hızları ve çaplarına göre 3 gruba ayrılır (25):

-A grubu lifler: Myelinli somatik afferent ve efferent liflerdir. Çapları 2.5–22 μm , ileti hızları 15–100 m/sn arasındadır.

-B grubu lifler: Myelinli otonomik preganglionik liflerdir. Çapları 3 μm , ileti hızları 3–15 m/sn kadardır.

-C grubu lifler: Myelinsiz somatik ve visseral afferent lifler ile postganglionik liflerdir. Çapları 0.2–1.5 μm , ileti hızları 0.3–1.6 m/sn kadardır.

Bağ Doku Yapısı

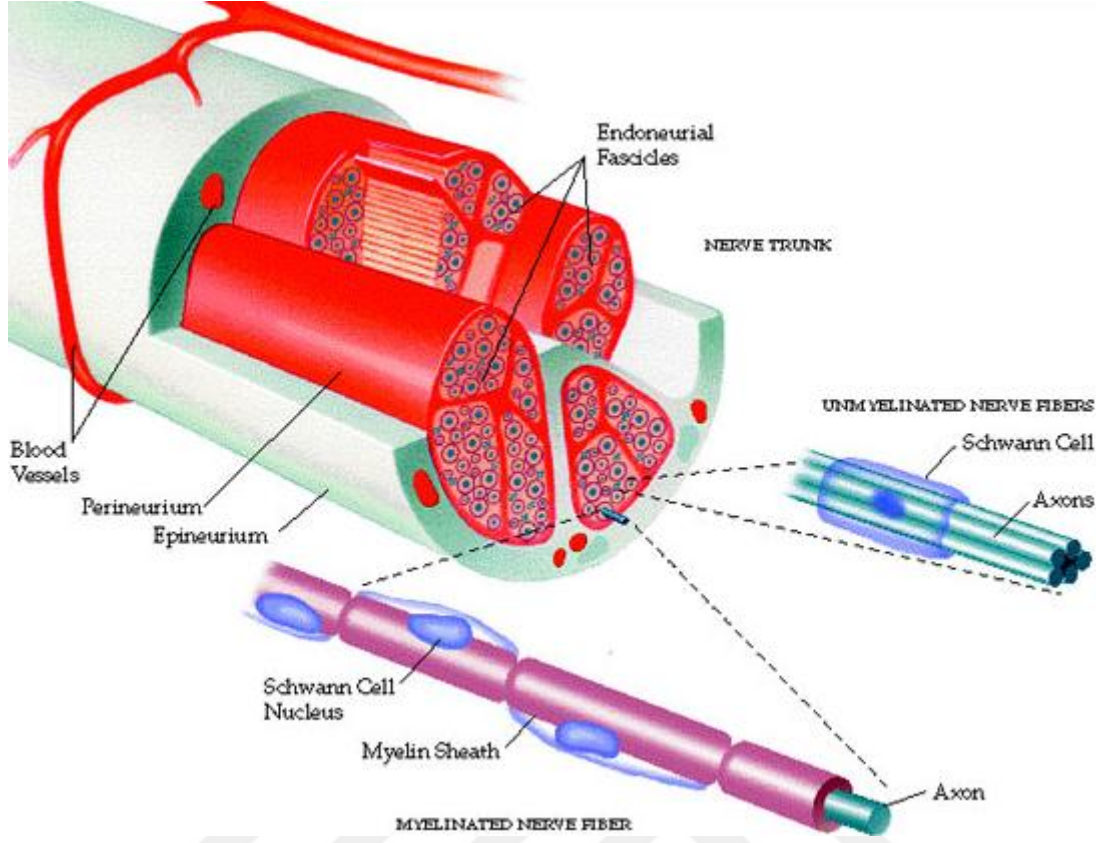
Sinir lifleri, bağ dokusu tarafından sarılarak fasikul adı verilen demetleri oluşturlar. Sinir gerilme gücünü bu bağ dokusu oluşturur. Değişik sinir kesitlerinde bağ dokusu oranının %25- 85 olduğu gözlenmiştir (22). Periferik sinirler birbirinden bağımsız 3 farklı destek doku ile çevrelenmiştir: epinörium, perinörium, endonörium (Şekil 2).

Epinörium: Gevsek areolar bağ dokusudur. Epinörium tip 1 ve tip 3 kollajen liflerden, elastik liflerden, fibroblastlardan ve değişen oranlarda yağ dokudan meydana gelir. Bu doku fasikul çevresini capraz yada sıralı yapıda sarar. Genellikle uzunlamasına yerleşir. Sinir gövdesine yakın planda yoğunluk kazanırlar. Periferik siniri çevreleyen yağ dokusu ile birleşirler. Fasikulleri deforme edici güçlere ve travmaya karşı korurlar. Gerilmeye karşı koruyucu etkileri sınırlıdır. Gerilme arttığında fasikuller tarafından giderilmeye çalışılır (27). Büyük bir bölümü kollojenden oluşmasına karşın, epinoriumda ayrıca elastik liflerde bulunur. Capları kisiye, sinire, yerine göre değişmekle birlikte, ekleme yakın yerlerde daha kalındır (29). Sinir dallanıp fasikul oluşturarak daha küçük bir hal aldığında, epinoriumda daha kısa seyir izler. Birkac fasikulden oluşan periferik sinirlerde bir veya daha fazla arter, ven ve lenfatikler fasikullere paralel olarak epinorium içinde uzunlamasına seyrederek. Bu arterlerin tıkanması yada inflamasyonu, vaskulitle seyreden hastalıklarındaki sinir hasarının en önemli nedenidir.

Perinörium: 19. yüzyılda Henle tarafından tanımlanan bu yapı, her bir fasikulu saran sıkı ve kuvvetli bir bağ dokusudur. Endonöral yapıları koruyucu mekanik bariyer işlevi görür. Perinörium yassı perinöral hücreler tarafından oluşturulmuş çok katlı bir tabaka olup, travmalara karşı asıl koruyuculuğu üstlenir. Bu koruyucu fonksiyonun yanı sıra, kan-sinir bariyerini oluşturur. Perinöral difüzyon bariyeri, esas olarak endonöral ortamın korunması ve regülasyonuna yöneliktir. Bariyer, travmaya ve iskemiye karşı dayanıklı olmasına rağmen, bozulduğunda sinir iletimi doğrudan etkilenir (27,28). Bu bariyer bir şekilde zarar görürse, periferik sinir sistemi zararlı maddelere karşı savunmasız kalır ve endonöral ödem gelişir. Ezilme tarzı sinir yaralanmalarında kan-sinir bariyerinin bozulduğu ve yaklaşık yedinci günde aşamalı olarak tekrar düzeldiği gözlenmiştir (30).

Perinorium, kollojen tabakaları tarafından ayrılan düzleşmiş hücrelerin konsantrik dizimleri ile oluşmuştur(22). Bu hücre katlarının sayısı sinirden sinire değişmekle birlikte onbes tabakaya kadar çıkabilir. Distale gidildikçe hücre tabakası sayısı da azalır. En ucta tek tabaka oluştururlar. Bu perinoral hücreler, sonunda duyu cisimciklerinde sonlanarak terminal sensorleri oluştururlar. Periferik sinirlerdeki epinoral kılıf, spinal sinirlerde dura mater ile devamlılık gösterirken, perinorium ise pia-araknoid ile devam eder.

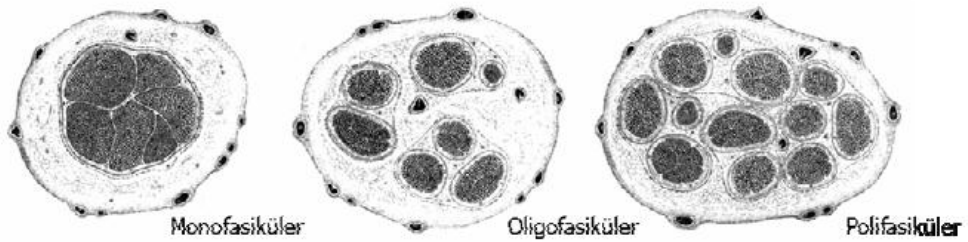
Endonorium: Tek bir aksonu çevreleyen dokunun en iç tabakasıdır. Sinir liflerinin gevsek bir bağ dokusu ile çevreli olduğu kattır. Bu katta, aksonlar ve onları çevreleyen schwann hücreleri, kollojen fibriller, fibroblastlar, kapiller damarlar ve az sayıda mast hücreleri bulunur. Mast hücreleri, sinir yaralanmasını takiben kan sinir bariyerinin bozulması sonucu, endonoral damarlardaki geçirgenlik artışından sorumludurlar. Mast hücrelerinden salınan enzimler, myelinolitik aktiviteleri nedeni ile demiyelinizasyona neden olurlar. Hücrelerin % 90 nını schwan hücreleri, % 10 unu ise fibroblast ve diğer hücreler oluşturur. Endonoriumdaki kollojen lifler, her bir sinir lifini çevreleyerek endonoral toplere destek sağlar. Yine bu katta lenfatik kanallar yoktur. Sinir lifleri myelinli yada myelinsizdir. Endonoriumdaki kollojen lifler, sinir liflerini ve onların çevresindeki schwann hücrelerini iki farklı kılıf oluşturacak şekilde sararlar. Dış kılıftaki geniş çaplı kollojen lifler uzunlamasına yerleştiğinden, schwann hücre bazal membranı ile birlikte yaralanan sinirin rejenerasyonunda önemli rol oynar. En distaki endonoral kılıfı, sinir liflerini oblik yada dairesel şekilde kusatan ince kollojen lifler oluşturur. Endonoral alan, sinir fonksiyonu için uygun çevreyi sağlar. Bu kılıfın bütünlüğü bozulduğunda endonoral içerik dışarı çıkar (29).



Şekil 3: Sinir kılıfları şematik çizim

Periferik sinirler fasikül yapılarına (Şekil 2.4) göre 3 gruptur (1, 6):

- 1) **Monofasiküler sinir:** Birçok sinir lifi içeren tek bir fasikül
- 2) **Oligofasiküler sinir:** Birkaç büyük fasikülden oluşan sinir
- 3) **Polifasiküler sinir:** Çok sayıda fasikülden oluşan sinir



Şekil 4 :Periferik sinirlerin fasiküler yapılarına göre sınıflandırılması

Sinir Vasküler Yapısı

Periferik sinirlerin vasküler yapısı ile ilgili ilk çalışma, 1768 yılında Isenflamm ve Doerffler tarafından yapılmıştır ve bu araştırmacılar renkli balmumunun yardımıyla, sinirlerin etrafında bir vasküler ağ olduğunu göstermişlerdir. Daha sonra bu damarlanma hakkındaki detaylar, 1878 yılında Ranvier ve 1890 yılında Quenu ile Lejars isimli araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur. İnsanların çeşitli sinirlerinde vasküler yapıların detayları, Sunderland tarafından incelenmiştir. Vital mikroskopik yöntemlerin günümüzde gelişmesi ile deneysel hayvan modellerinde, in vivo olarak intranöral mikrovasküler yapının ve fonksiyonlarının incelenmesi mümkün olmuştur (31). Sinir hücrelerinde, normal fonksiyonların devamlılığının sağlanabilmesi için yeterli oksijen desteği ile aerobik metabolizmalarının korunması önem taşır. Periferik sinirlerde uyarı iletimi ve aksonal taşıma için gerekli olan enerji, epinörium, perinörium ve endonörium tabakalarında bulunan ve birbiri ile yakın bağlantılı olan bir vasküler ağ sayesinde sağlanır (2). Periferik sinirlerde oldukça zengin bir damarlanma mevcuttur. Ekstrensik ve intrensik olmak üzere, birbiriyle bütünleşmiş çalışan, ancak fonksiyonel olarak birbirinden bağımsız iki ayrı sistem bulunmaktadır. Ekstrensik sistem, sinirin dış yüzeyindeki gevşek bağ doku içerisinde bulunan damarlardan oluşur. Bu bölgeye vaza nervorum denir ve bu dallar mezonörium denen gevşek bağ doku kılıfı içerisinde uzanırlar. Vaza nervorumlar sinirlere yandaş seyreden damarlardan gelen besleyici dallardan oluşur. Ayrıca kasa giden perforan damarlar ve periosteal damarlar da bu sisteme katkıda bulunurlar. Bu sistem sempatik uyarılar ve lokal ilaçlardan etkilenir. Mezonöriumda uzunlamasına seyreden damarlar mezonöriyumu yer yer delerek, intrensik sistemle anastomozlar yaparlar. İntrensik sistem, epinörium, perinörium ve endonörium içerisinde yer alan vasküler pleksuslardan meydana gelir. Bu sistem metabolik olaylardan, sempatik uyarılardan ve lokal ilaçlardan etkilenmez. Bu iki sistem arasındaki dengeleyici bazı mekanizmalar, siniri vasküler problemlere karşı korur (2, 5, 25, 31).

Epinöriyumun derin ve yüzeysel katları içerisinde uzanım gösteren epinöral damarlar, her fasiküle besleyici dallar gönderirken, değişik seviyelerde perinöral vasküler pleksuslarla da anastomozlar yaparlar. Uzunlamasına seyreden perinöral damarlar, birçok alanda oblik olarak perinöriyumun iç tabakasını delerek endonöral aralığa geçerler ve endonöral vasküler pleksusu oluştururlar. Endonöral vasküler yatak,

fasiküller boyunca devamlı anastomotik ağlar oluşturur ve bu sayede sabit bir fasiküler kan akımı sağlanır. Bu bölgedeki dolaşım, perinöriumun daha dış tabakalarında geçerli olan sempatik innervasyonun aksine, lokal perfüzyon basıncı ile dengede tutulmaktadır (2, 5, 6).

Periferik sinirlerdeki damarlar, sinüzoidal ve kıvrımlı bir yapıya sahiptirler. Bu sinüzoidal ve kıvrımlı yapısal özellikleri sayesinde, vasküler sistem gerilme tipi travmalarda hasardan korunur (2, 6, 25). Periferik sinirlerde klasik bir lenfatik sistem yoktur; ancak perinörium dışında ve endonörium içinde lenfatiklere benzer taşıma görevi yapan kanalların olduğu bilinmektedir. Endonöral boşlukta klasik bir lenfatik sistem olmadığı için, travma sonrasında oluşan ödem erken dönemde fasikül içerisindeki basıncı arttırarak, sinirin normal fonksiyonunun devamı için gereken mikroçevreyi bozar. İleri evrede ise fibrozis ve skar oluşumu ile problem yaratır. Normalde endonöral damarlar geçirgen değildir, ancak travma sonucu geçirgenliklerinin artması ile oluşan endonöral ödem, yine endonöral mikrodolaşım ile temizlenir (31,32).

Periferik Sinir Yaralanmaları

Sinir yaralanmalarının sınıflaması 1947 yılında Seddon ve 1951 yılında Sunderland tarafından yapılmıştır (18,33). Sinir lezyonları mekanik (kompresyon, germe, ezilme) veya termal; iskemik ve kimyasal nedenlerle olabilir. Periferik sinirler pek çok değişik travma şekli ile yaralanabilirler. Periferik sinir hasarına neden olan en sık yaralanma şekli, gerilim tipi yaralanmalardır. Lezyonların sınıflandırılmaları, sinir liflerinde ve trunkuslarda olan yapısal veya fonksiyonel değişikliklere göre yapılabilir. Sinir yaralanmaları hasarlanan sinir komponentlerine, fonksiyona ve spontan iyileşme olup olmamasına göre sınıflandırılır. Yaralanmanın derecesinin bilinmesi tedavinin belirlenmesi açısından önemlidir ve periferik sinir travmasında *Sunderland (1951) ve Seddon (1948)* sınıflamaları kullanılmaktadır (tablo-1)

SEDDON SINIFLAMASI	SUNDERLAND SINIFLAMASI	
Nöropraksi	1.derece yaralanma	-Segmentel demyelinizasyon ,iletim bloğu
Aksonotmezis	2.derece yaralanma 3.derece yaralanma 4.derece yaralanma	-Aksonal yaralanma,distalde Wallerian dejenerasyon -Endonöriumda fibrozis ile birlikte Wallerian dejenerasyon -Tek intakt yapı eksternal epinöriumdur
Nörotmezis	5.derece yaralanma 6. derece yaralanma	-Sinir tamamen ayrılmıştır -Tüm yaralanmaların kombinasyonudur.

Tablo-1:Suderland ve Seddon sınıflamaları ve histolojik özellikleri.

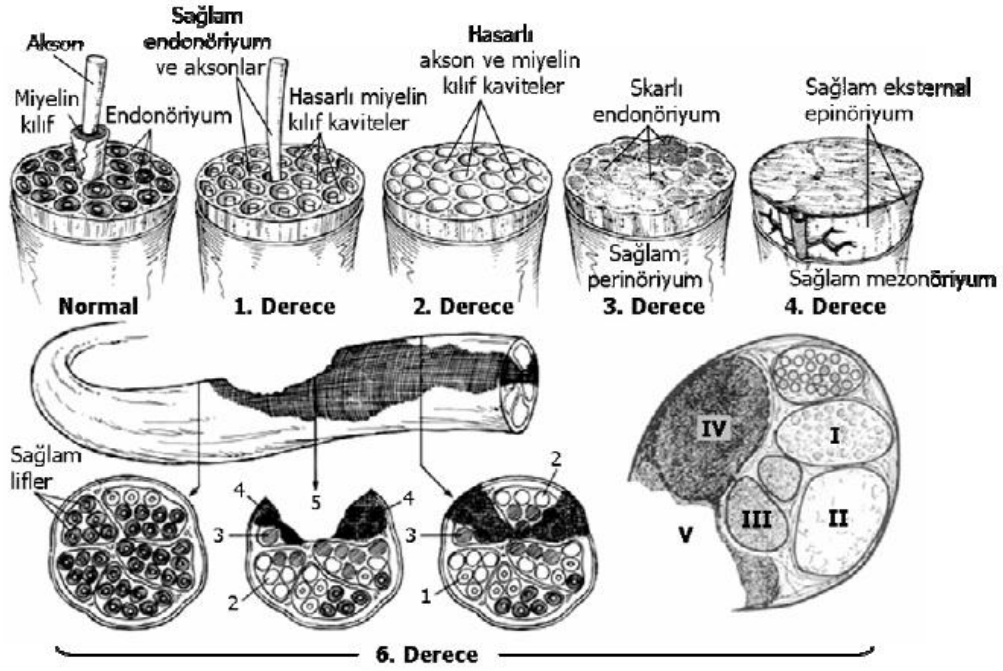
Birinci, 2, 3. derece yaralanmalarda geri dönüş olur ve cerrahiye gerek yoktur. Dördüncü ve 5. derece yaralanmalarda ise cerrahi tedavi yapılmaz ise geri dönüş olmaz. Altıncı derece yaralanmalarda ise değişik derecelerde geri dönüş olabilir (15).

Nöropraksi; kompresyon hasarı sonrası meydana gelen akut bir demiyelinizasyon durumudur. Aksonal devamlılık vardır, ancak ileti yoktur. Bu durumda klinik tablo yeni miyelin yapımına kadar (5 gün ila 3 ay arasında değişir ,ortalama 6–8 hafta).devam eder, daha sonra kendiliğinden düzelir. Örnek olarak turnike paralizisi ve cumartesi gecesi paralizisi gösterilebilir. Aksonal bir hasar olmadığı için, sinir tomurcuklanmasını (rejenerasyonu) gösteren Tinel bulgusu yoktur (6). Tam motor paralizi mevcuttur. Duyusal ve sempatik fonksiyonlar genellikle korunmuştur (34).

Aksonotmezis; endonöral tüplerin intakt kaldığı ancak aksonal devamlılığın kaybolduğu ve distalde *Wallerian dejenerasyonun* olduğu daha ciddi bir yaralanma türüdür. Sadece myelin kılıf ve akson devamlılığında bir kesinti vardır; Schwann hücreleri bazal membranı, endonörium, perinörium ve epinörium sağlamdır Fonksiyonun geri dönmesi için geçmesi gereken süre, aksonal rejenerasyon ve hedef

dokudaki reinnervasyon sürecinin hızına bağlıdır (35) Destek bağ dokular sağlam olduğu için prognoz iyidir ve fonksiyonel geri dönüş tamdır. Tinel bulgusu vardır ve aksonal rejenerasyon ilerledikçe, bu bulgu da distale doğru ilerler (6)

Nörotmezis; periferik sinir yaralanmasının en şiddetli formudur. Sinirin ve destek dokularının traksiyon ya da lacerasyon sonucu tamamen kesilmesidir. Endonörium, perinörium ve epinörium hasarlanmıştır. Tedavisi için cerrahi onarım gereklidir (15)



Şekil 5: akson hasar tiplerinin şematik gösterimi

Mackinnon bu sınıflamaya 6. derece sinir hasarı şeklinde bir ekleme yapmıştır. Mikst tip sinir hasarı denen bu grupta, sinir boyunca değişik seviyelerde ve farklı derecelerde sinir hasarları bir aradadır. Özellikle ezici tip yaralanmalarla meydana gelir. Bazı fasiküller normaldir, bazılarında spontan iyileşme beklenir(7,35)(şekil-5)

Periferik Sinir Rejenerasyonu

Biyolojik açıdan, sinir yaralanması ve onarımından sonra fizyolojik sonuçları etkileyen faktörler; hasar sonrası sağlam kalan sinir hücrelerinin sayısı, aksonal büyümenin hızı ve kalitesi, rejenere olan aksonların uygun şekilde düzenlenmeleri, uç-organların durumu, beyin somatosensoriyal ve motor korteksinde kortikal

reorganizasyon işlemidir. Klinik olarak iyileşme sıklıkla tam olmaz ve en sık zayıf ya da anormal duyu, motor fonksiyonlarda kayıp, soğuk intoleransı, ağrı gibi hastanın sosyal hayatını ve iş hayatını etkileyen olumsuz belirtilerle seyreder (7).

Fonksiyonel bir sinir rejenerasyonu için, üç önemli işlemin başarı ile tamamlanması gereklidir (37,38);

1- Aksonal kesi sonrası nöron gövdesi canlı kalmalıdır.

2- Bu nöronlar, proksimal uçtan aksonu rejeneretmeli ve rejeneretilen akson ucu distal sinir güdüğüne girmelidir.

3- Rejeneretilen aksonlar proksimal güdükten çıkıp, kendilerine ait doğru uç organ hedefleri ile birleşmelidir

Periferik sinir yaralanmalarında, yaralanma bölgesinin yanı sıra, yaralanma bölgesinin proksimalinde, distalinde ve sinir hücresinin gövdesinde bir takım yapısal ve işlevsel değişiklikler meydana gelir. Hasar distalindeki tüm myelinli veya myelinsiz lifler Wallerian dejenerasyona uğrar (9)

Sinir Hücre Gövdesi

Aksonal yaralanma sonrasında, altı saat içerisinde sinir hücre gövdesinde hacim artar, hücre çekirdeği perifere doğru yer değiştirir, nissl cisimcikleri ve granüllü endoplazmik retikulumlar yıkılır ve sitoplazmanın yapısı değişir. Bu değişikliklerin tümüne birden '**kromatoliz**' denir. Bu reaksiyonel değişiklikler hasar sonrası 2 ila 3. haftalarda en yüksek değerine ulaşır. Bu değişikliklerin amacı kaybolan aksoplazmik hacmi yerine koyabilmektir. RNA içeren yapılarda, protein sentezindeki hızlanmayı yansıtan şekilde bir artış olur (5,8). Rejeneretilen akson tomurcuklarının oluşturdukları büyüme konisinin ana bileşeni olan aktin, tubulin ve akson büyümesi için gereken yapısal proteinlerin (growth-associated proteins; GAPs) sentezi artarken, transport fonksiyonunda rolü olan nörofilaman proteinlerinin sentezi azalır. Özellikle GAP 43, akson boyunca taşınan bir fosfoproteindir ve rejeneretilen aksonlarda bulunmakta olan aksonlardaki büyüme konilerinde, akson hasarı sonrası miktarı yaklaşık 100 kat artar, rejenerasyon tamamlandıktan sonra normal düzeyine döner (11, 39). Sinir hasarı

sonrasında ortaya çıkan kromatoliz, temel olarak rejenerasyonu göstermekle birlikte, aynı zamanda sinir hücresinin travmadan ne şiddetle etkilendiğinin de bir göstergesidir ve geniş aksoplazmik hacim kayıplarında oluşan kromatoliz ile hücre onarım mekanizmaları başlasa bile, hücre ölümü meydana gelebilir (7).

Sinir hücresinde oluşan bu değişikliklerin derecesi, hasarın şiddeti ve yaralanmanın ne kadar proksimalde olduğu ile ilişkilidir. Hücre gövdesine çok yakın yaralanmalar hücre ölümüne neden olabilir (8, 25, 39). Sıçan sıyatik sinir kesisi ile yapılan çalışmada, hasar proksimalde yerleşirse nöron kayıp oranı %27 saptanırken, hasar distalde olduğunda nöron kaybı %7'lere kadar düşmektedir(6).

Hücre ölümü duyu nöronları için daha tipiktir. Duyu hücre gövdelerinde gerçekleşen hücre ölümünün, hasar sonrası ilk 24 saat içinde gerçekleştiğine dair çeşitli bilgiler vardır ve bu bilgiler ışığında tedavinin ilk 24 saat içerisinde başlaması gerekmektedir. Motor nöronlarda duyu nöronları ile kıyaslandığında hücre ölümü daha az gerçekleşmektedir (11). Dorsal kök ganglionlarında aksonotomezis tipi yaralanmalar sonrasında, apoptozis ilişkili hücre ölümü insidansı %20 ile %50 arasında değişmektedir (7).

Proksimal Segment

Aksonal yaralanma seviyesinin proksimalinde, birkaç internodal segment boyunca ilerleyen ve distal segmenttekinе benzer bir dejenerasyon görülür. 24 saatlik bir latent period sonrası, proksimal kesik uçta terminal ve kollateral aksonal tomurcuklanmalar meydana gelir. Anterograd ilerleyen bu büyümede, kollateral tomurcuklar aksonun sağlam olduğu Ranvier düğümlerinden köken alırken, terminal tomurcuklar zedelene aksonun proksimal ucundan çıkar. Hasarlanmış sinirde akson ucundan tomurcuklanma ilk 6 saat içinde başlamasına karşın, bu ilk tomurcuklar genelde rezorbe olurlar. İnternal sitoskeletal yapıları olan kalıcı tomurcuklar, genelde ilk 24 saatin sonunda belirmeye başlarlar. Bu şekilde uzanan her bir tomurcuğa 'rejenerasyon ünitesi' denir. Her bir tomurcuğun ucundaki kısma ise 'büyüme konisi' denir (5, 25, 39).

Büyüme konisi, düz endoplazmik retikulum, mikrotübül, mikrofilaman, mitokondri, lizozom ve diğer veziküler yapılardan zengindir. Aktin filamanları ve myozin içerir. Bu yapılar, büyüme konisinin filapoid çıkıntılar yaparak hareketli olmasını sağlar. Distal sinir segmentindeki Schwann hücre kolonları (Büngner bantları) ve Schwann hücrelerinin bazal laminaları, büyüme konisinin ilerlemesi için uygun

ortam sağlarlar. Büyüme konisinin, Schwann hücre bazal laminasında bulunan fibronektin ve laminine affinitesi vardır ve aksonal tomurcukların büyüme yönünü belirleyen faktörlerden biri de bu affinitedir (6, 25).

Periferik sinir rejenerasyon kapasitesini, ilk kez Cajal isimli araştırmacı 1928 yılında kedilerin omuriliklerinde yaptığı çalışmalarda göstermiştir. Aksotomiye takiben proksimal uçta pek çok tomurcuğun oluştuğunu ve bunların distale uzanarak rejenerasyonu sağladığını saptamıştır. Cajal ayrıca rejenere olan aksonların, diğer dokulardan ziyade distal sinir segmentine doğru tercih edilir bir büyüme patterni gösterdiklerini de ortaya koymuştur (nörotropizm) (7, 39).

Aksonal tomurcukların sayısı zamanla azalır, bazıları distal segment ile bağlantı yaparken; diğerleri regrese olur. Bağlantıyı yapabilenler mature olurlar. Uç organlardan salgılanan trofik maddeler bu yönelmeyi düzenlerler (5).

Distal Segment

Distal sinir segmentinde akson ve myelin kılıfta meydana gelen hücresel dejeneratif değişikliklere 'Wallerian dejenerasyon' denir. İlk kez 1850 yılında Waller isimli araştırmacı kurbağa hipoglossal sinirinde, sinirin kesilmesi sonrasında distal segmentte oluşan değişiklikleri gözlemlemiş ve bu dejeneratif sürece Wallerian dejenerasyon ismini vermiştir. Wallerian dejenerasyon ile akson ve myelin kökenli maddelerin temizlenmesi sağlanırken, rejenere olan aksonun büyümesi için uygun ortam oluşturulur. Prolifere ve diferansiye olan pluripotent Schwann hücreleri, bazal lamina boyunca dizilerek Büngner bantlarını oluştururlar. Ortada oluşan içi boş tüp yapısına endonöral tüp denir (10, 11, 39).

Aksoplazmik hücresel iskelet, proteolitik enzimler ile yıkılır. Bu işlem kalsiyum bağımlıdır. Aksoplazmada nörofilaman yıkımı, kalsiyum ile aktive olan proteolitik enzimlerle meydana gelir. Myelin, Schwann hücreleri ve makrofajlar tarafından fagosite edilir. Bu fiziksel değişikliklerin büyük bir kısmı ilk birkaç hafta içerisinde tamamlanır, ancak tüm debrisin temizlenmesi birkaç ayı bulur (5, 11).

Özel radyografik tekniklerle, Schwann hücre proliferasyonunun üçüncü günde en yüksek değerlere ulaştığı ve hasar sonrası ikinci haftanın sonuna dek azalarak devam ettiği gösterilmiştir (5, 39). Endonöral tüp kılıfı, Schwann hücre bazal laminalarında

kollajen birikimine sekonder kalınlaşmaya başlar ve giderek distal segmentte endonöral tüpün genişliği azalır. Eğer endonöral tüp rejenerere olan akson ile penetre olamazsa, ilerleyici fibrozis sonucunda tüp tamamen oblitere olur. Endonöral tüpler, hasarlanma sonrası ilk 3 ay içinde orijinal çaplarının %10-20'si kadar bir oranda daralırlar (8).

Tomurcuklar proksimal sinir güdüğünden distale doğru ilerlerler. Bu hareketlenme sinir iyileşmesinin başarısını etkileyen en önemli olaydır. Bazı tomurcuklar bağ doku içersine doğru uzanabilirler ki, bu nörinom oluşumu ile sonuçlanır. Tomurcuklar Büngrer bantlarını takip ederek, periferde doğru uzanıp hedeflerini bulurlar. Başlangıçta proksimal segmentteki tomurcuklanan akson sayısı, distal segmentteki mevcut akson sayısından daha fazladır, ancak zaman içerisinde periferik bağlantıyı yapamayan tomurcuklar dejenere olur ve akson sayıları eşitlenir (5, 8). Sinir dejenerasyon ve rejenerasyon süreci Şekil 2.6'da özetlenmiştir.

Wallerian dejenerasyon makrofajların artması ve *Schwann* hücrelerinin proliferasyonunun tetiklemesi ile başlar. Bu proliferasyon 3. gün en yüksek seviyesine ulaşır ve 2 hafta sürer. Aksonların rejenerasyon hızı türlere bağlı olarak değişir. Kemirgenlerde 2-3.5 mm/gün iken insanlarda bu hız 1-2 mm/gündür (15). (Şekil-6)

Sinir hasar bölgesi	Günlük rejenerasyon hızı
Üst kol	8.5 mm/gün
Proksimal ön kol	6 mm/gün
El bileği	1-2 mm /gün
El	1-1.5 mm /gün

Tablo 2: Üst ekstremitede sinir hasar bölgesine göre rejenerasyon hızları

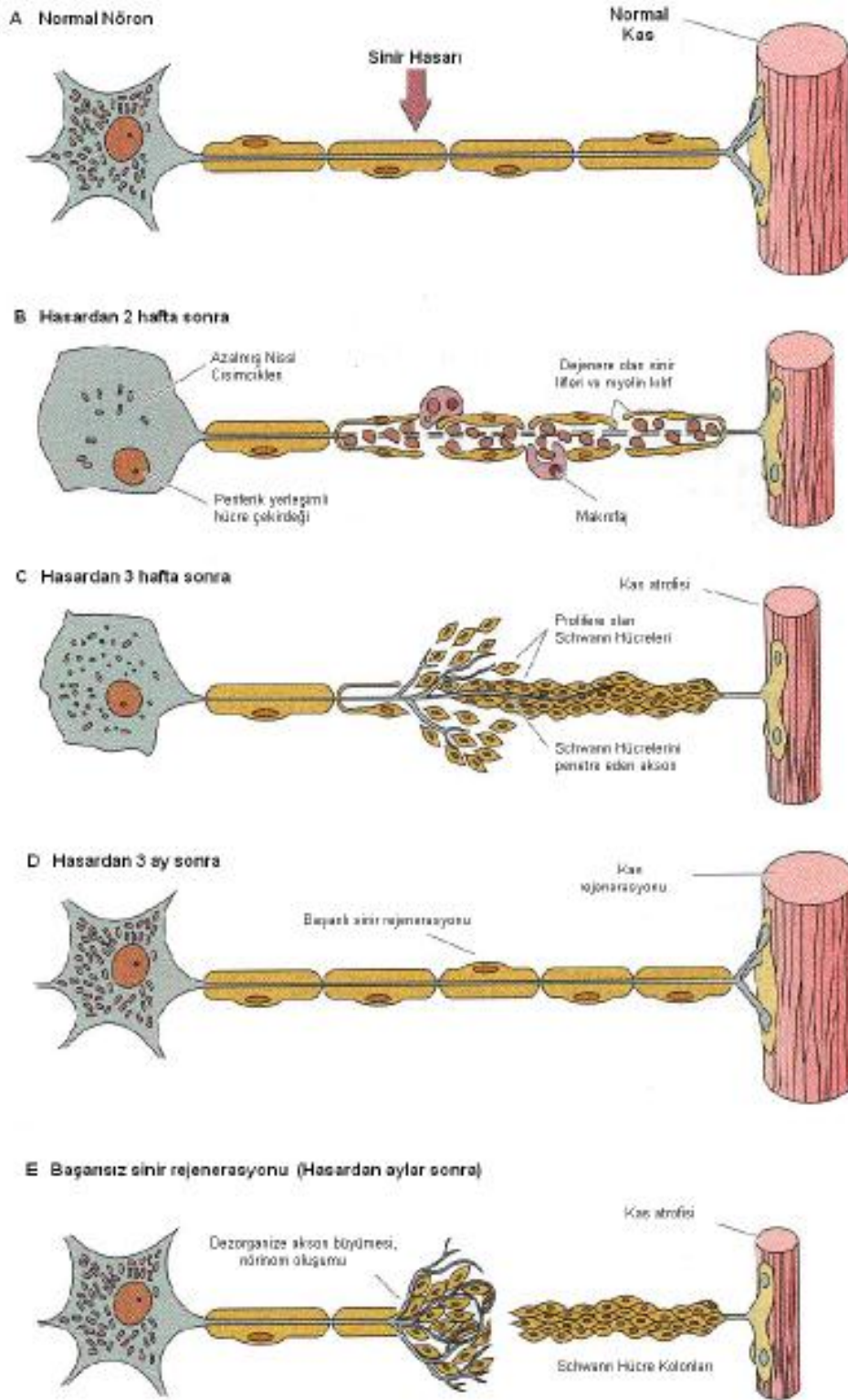
Distal sinir segmentinin vasküler ağı da yaralanmaya cevap olarak, önce vazokonstrükte olur, daha sonra vazodilate olur, ama en başarılı aksomal rejenerasyondan sonra bile orijinal kan akımının ancak %60-80'ine ulaşabilir (40).

Schwann hücreleri periferik sinir hasarını takiben bir yandan da aksomal rejenerasyon ve maturasyonun sağlanması amacıyla "Nerve Growth Factor" (NGF), "Insulin-like Growth Factor" (IGF-1), "Ciliary Neurotrophic Factor" (CNTF) ve

“Brainderived Neurotrophic Factor” (BDNF) isimli faktörlerin sentez ve salınımında rol alırlar. Ayrıca ekstrasellüler proteinleri sentezlerler (15, 35,41).

Denervasyon sonrası zamanla gelişen kas atrofisi ve bunun fonksiyonel sonuçları insanlarda ve hayvanlarda deneysel olarak çalışılmıştır. Sunderland ve Ray denerve edilen kasın 60 günde ağırlığının %50-60’ını kaybettiğini, kesit alanının ise %70 azaldığını bildirmişlerdir (15). İdeal reinnervasyon, denervasyondan 1-3 ay kadar sonra oluşur. Fonksiyonel reinnervasyon için 1 yıla kadar beklenir ancak 3 yıldan sonra reinnervasyon oluşmadığı bildirilmektedir (18). Deneysel periferik sinir rejenerasyonu çalışmalarında rejenerasyonun oldukça etkin, hızlı, kolay ve ucuza mal edilebilir olması nedeniyle rat siyatik siniri kullanılmıştır (42). Rat siyatik sinir modelinde motor ve aynı zamanda sensoriyel sinir fonksiyonları da değerlendirilebildiğinden daha çok kullanılan bir modeldir (42).

Nörotrofik faktörler ve büyüme faktörleri, sinir hücrelerinin yaşayabilirliklerini desteklemenin yanı sıra, aksonal büyümeyi de stimüle ederler. Glukagon benzeri peptid(GLP-1) besin alımını takiben ince barsak endokrin hücrelerinden salgılanan sekretin, vazoaaktif intestinal peptid(VİP), gastrik inhibitör polipeptid (GİP) ve büyüme hormonu salgılatan faktör(GHRF) ailesine ait 30 aminoasitten oluşan polipeptid bir hormondur(13). GLP-1’in, etkilerini gösterdiği reseptörleri(GLP-1R) santral sinir sisteminde, pankreasta, dorsal kök ganglionlarında, schwann hücrelerinde saptanmıştır. Endokrin ve nörotrofik etkisini bu reseptörleri aracılığı ile yapmaktadır.(14)



Şekil 6: Periferik sinir dejenerasyonu ve rejenerasyonu (Gartner LP, Hiatt JL. Color textbook of histology. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2001:216'dan çevrilerek alınmıştır.)(43)

Glukagon benzeri peptid-1

GLP-1 insan bağırsağın endokrin L-hücrelerinden yemek sonrası salgılanan insülinotropik bir hormondur(44). GLP-1; sekretin, vazoaaktif intestinal peptid(VİP), gastrik inhibitör polipeptid(GİP), growth hormon salgılatan peptid(GHRH) ailesine mensup bir enteroglukogandır (3).Barsak kaynaklı GLP-1' in başlıca yapım yeri ileum olmakla (3,45,46) birlikte jejunum (47), ve kolonda da (48) sentezlendiği bilinmektedir.

GLP-1' in tanımlanması

İlk kez 1948' de Sunderland ve arkadaşları köpek mide mukozasından hiperglisemik özelliklere sahip bir madde ekstrakte etmişlerdir. Daha sonra başka bir çalışma ile köpek mukozasında endokrin-A benzeri hücrelerin gerçekten de glukagon ürettiği ispatlanmıştır.1981'de glukagonla birlikte salgılanıp glukagon dizisi içermeyen başka bir polipeptidin varlığını göstermiş,diziye major proglukagon fragmanı(MPGF) adı verilmiştir.1983' de insan ve hamsterlarda(50,51) proglukagon mRNAsının ve geninin yapısı aydınlatıldıktan sonra major proglukagan fragmanının glukagona benzeyen iki ayrı aminoasit dizisi içerdiği görülmüş, bu diziler glukagon benzeri peptid 1 ve 2 olarak adlandırılmıştır.

GLP-1 in yapısı

Proglukagon geni insanda 2.kromozomun uzun bacağında bulunur ve proglukagon geni içeren bütün dokularda tek bir proglukagon geni vardır.(3,53). Bütün memelilerde proglukagon dizisinin GLP-1' e tekabül eden bölümü aynıdır(50) ve karboksipeptidaz enziminin yardımıyla biyolojik aktif biçimi olan GLP-1'e dönüşür.GLP-1 'in metabolik klirens hızı yaklaşık 10 dakikadır, böbrekler ve ve damar yatağındaki enzimlerle dolaşımdan uzaklaştırılır.

GLP-1 fizyolojik özellikleri

GLP-1 salgısını fizyolojik uyararı ağızdan karışık besin alınmasıdır. ağızdan karışık besin alınmasından 5 dakika sonra kan GLP-1 konsantrasyonu artmaya başlar, 15-20 dk da en üst düzeye ulaşır, 30 dakikadan sonra azalır(14,54). Günün ilk öğünüyle artan salgı gün boyu yüksek kalır, ana öğünlerden sonra daha da artar, gece açlık seviyelerine döner(54). GLP-1'in salgılanması için besinin barsak lümeninde bulunması gerekir, intravenöz yolla verilen besinlerin GLP-1 salgısı üzerine etkisi yoktur(55). GLP-1 salgısının besinlerin intestinal L hücrelerinin mikrovillusları ile teması ile gerçekleştiği ancak bunun yanında salgılanmada yüksek intestinal ve santral reflekslerin de etkili olduğu bilinmektedir.(56). GLP-1 salgısı yaratan başlıca besinler yağlar ve karbonhidratlardır(56). Proteinler insan ve sıçanda ileumuna perfüzyon ile verildiklerinde GLP-1 konsantrasyonunu değiştirmezler ancak köpekte ileumun protein ile perfüzyonu GLP-1 salgısını artırır(57)

GLP-1 Reseptörleri

GLP-1 reseptörleri G proteinlere bağlanan , 7 transmembran parçası olan reseptör ailesindedir. Çeşitli türlerde yapısı korunur, insan ve sıçan aminoasit dizisi %90 aynıdır(14). GLP-1 ve ekzendin 4 agonist, ekzendin 9-39 ise antagonist etki gösterir(55). GLP-1 'in başlıca ikinci ulak sistemi Gs subunitesi ile uyarılan siklik adenozin monofosfattır(cAMP). Adenilat siklaz aktivasyonu ile artan cAMP protein kinaz A' yı (PKA) aktive eder. Ligand afinitesi ve Protein kinaz A aktivasyonundan sonraki basamaklar reseptörün bulunduğu hücreye göre değişir.

GLP-1 in etkileri

Sağlıklı insanlarda GLP-1 infüzyonundan sonra portal venöz plazmada insülin/glukagan oranı artar. İnsülin lehine artan oran karaciğerde glikoz yapılmasını inhibe eder, kan glukoz konsantrasyonu düşer.(14). Eksojen GLP-1'in, hipoglisemi

yapmadan kan şekerini düşürdüğünden ve diyabetik hastalarda da bu etkiyi gösterdiği için diyabet tedavisinde kullanılmaktadır (44)

GlP-1 in kas ve karaciğer dokusunda glikojen sentezini artırdığı(55), yağ dokusunda insuline benzer şekilde yeni lipid yapımını uyardığı gösterilmiştir(70). Eksojen yolla verilen GLP-1'in sağlıklı ve tip 2 diyabetli hastalarda mide boşalım hızını yavaşlattığı görülmüştür.(55) GLP-1 perfüzyonu insanlarda sıvı besinle uyarılan pankreas eksokrin salgısını da inhibe eder ancak bu etki muhtemelen mide boşalmasındaki gecikmenin bir sonucudur.(56)

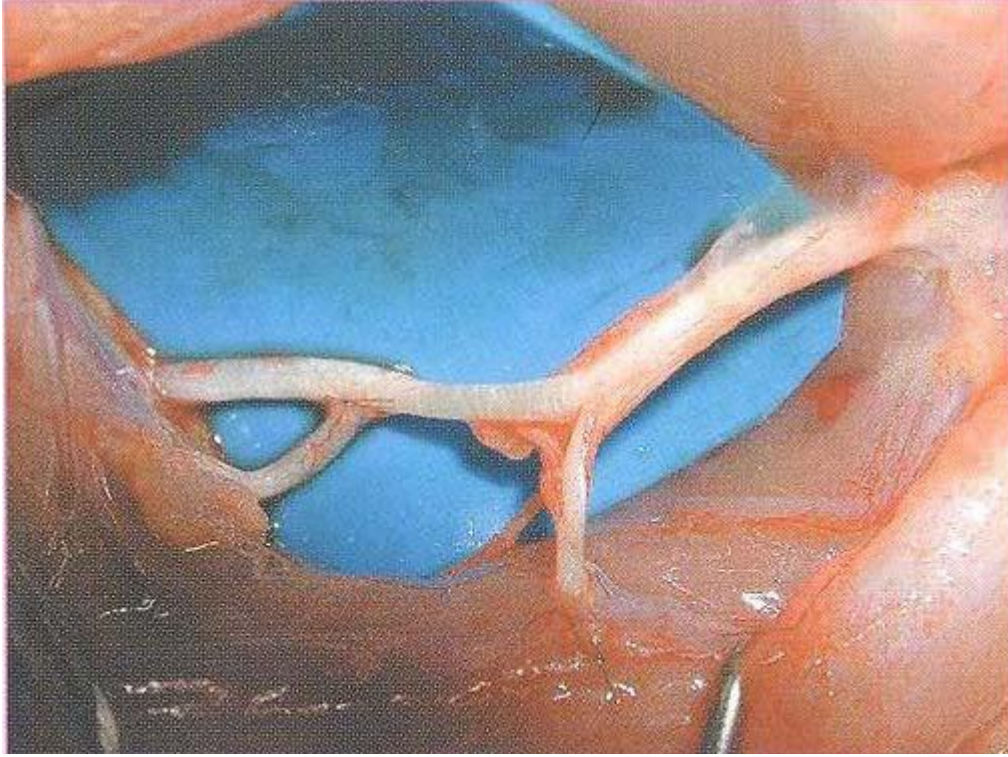
İnsan ve sıçan beyninde radyoimmünassay ve immunohistokimyasal yöntemlerle hipotalamusta supraoptik nükleus, paraventriculer nükleus, median eminensia nöronal liflerinde hipotalamus, talamus, ve septal bölgelerdeki sinir lifleri ve uzantılarında , medulla oblongatada ,orta beyin ve ponsda ,hipofizde ve siyatik sinirde GLP-1 dizisiyle uygunluk gösteren immunreaktivite saptanmıştır. GLP-1'in gıda alımının ve mide fonksiyonları üzerine santral etkili olabileceği akla gelmektedir.(54) GLP-1'in sıçan hipokampal nukleusta antiapoptotik özellikleri olduğu gösterilmiştir.(1). Bu buluş sonrası ilgi GLP-1 in santral sinir sisteminin, nörodejeneratif hasardan koruma potansiyeli üzerinde durulmuştur.(1).

GLP'in periferik sinir sistemi üzerine olan etkileri konusunda kısıtlı bilgiye sahip olsak da pridoksinle indüklenmiş periferik nöropati modelinde iletim yavaşlamasını engellediğini biliyoruz. Exenatid, diyabet hastalarında kullanılan GLP-1 analogudur ve tam mekanizması açıklanamasa da exenatid uygulanan farelerde kontrol ve diyabet gruplarında GLP-1 reseptör sayısı artmış olarak bulunmuştur.(1). Exenatidin kemirgen nörodejeneratif modelde kültüre edilmiş hipokampal nukleus de nörotrofik etkileri gösterilmiştir(3). Exenatid, glisemik kontrolden bağımsız olarak diyabetik farelerde büyük motor fibril ve küçük duyu fibril özelliklerini korumuştur(1).

Sıçan Siyatik Sinir Anatomisi

Lumbar pleksus L4 –L5 ve L6 lumbar sinirlerden, sıklıkla T13 ve L3'den dallar olarak oluşmaktadır (58). Sakral pleksus 5, 6 ve kısmen 4. lumbar sinirler tarafından oluşturulur. Bu sinirlerin dalları ***lumbo-sakral trunk'*** oluşturur. Sakral pleksus pelviste orijinlerine göre ***anterior ve posterior*** olmak üzere 2 sinire ayrılır. Posterior dalı siyatik

sinirdir (n. ischiadicus). Siyatik sinir nerves tibialis, nerves common peroneales ve kollateral olmak üzere son dallarına ayrılır (59). L4 ve L5 spinal sinirler birleşip siyatik siniri oluşturmaktadır. (şekil 7)



Şekil 7:Sıçan siyatik sinir anatomisi (Bayramiçli M. Deneysel mikrocerrahi. Temel araştırma, doku ve organ nakil modelleri. İstanbul: Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret AŞ, 2005: 343)(122)

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim dalında gerçekleştirilmiştir.Çalışmaya başlamadan önce Ege Üniversitesi Hayvan Deney Yerel Etik Kurul’undan (2011-175 sayı ve 04.11.2011 tarih) onay alındı.

Çalışmada, 190-220 gram arası değişen ağırlıklarda 12-16 haftalık Sprague Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar, Ege Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Ünitesinden elde edildi; standart koşullarda (21-22 C, %55-65 nemli ortamda, 12 saat aydınlık-12 saat karanlıkta ortamda tutuldu) hazır pellet sıçan yemi ile

beslendi ve su içimi ve yem serbest bırakıldı (ad libitum).Her birinde 12 sıçandan oluşan (n=12) çalışma ve kontrol grupları oluşturuldu. Ortama adaptasyonları için 7 gün süre ile herhangi bir işlem uygulanmadı, sıçanlar hergün koltuk altına alınarak ortam ve deneye uyum sağlandı .

Cerrahi işlemler, intraperitoneal 100 mg/kg Ketamin- HCl (Ketalar®, Pfizer) ve 5 mg/kg Ksilazin-HCl (Rompun®, Bayer) ile sağlanan anestezi altında gerçekleştirildi.

Deneyde kullanılan malzemeler

- 1 adet 10 gr hassasiyetinde IKEA Marka terazi
- 1adet Soif marka stereomikroskop(45x büyütme)
- 1 adet Md30 marka video kayıt cihazı (3.2x büyütme)
- 1 adet Mikrocerrahi set(Bahadır Marka)
- 1 adet MP30 marka EMG ölçüm cihazı
- 1 adet Şeker ölçüm cihazı (glukomed marka)
- 1 adet Motor analiz için açılı tırmanma düzeneği
- 1 adet Mooser marka traş makinası
- 20 adet 4/0 prolén
- 20 adet 4/0 vicryl
- 11 adet 10 mikrogram dozajlı Exenatid
- Profilaktik antibiyotik(1. Kuşak sefalosporin)
- 15 adet Alfamine(100 mg/ml Ketamin Hidroklorür) flakon
- 10 adet Alfazine (xylazine) flakon
- Analjezik (metamizal sodyum)
- 25 adet 15 numara bistüri
- 25 adet 20 numara bistüri
- 5 lt %0,9 luk NaCl
- Cerrahi sterilizasyon için Povidon İyot

Grup-1(n=12): Deneş hayvanlarından 12 tanesinin siyatik sinir hasar modeli sonrası (sağ kalçalarına siyatik sinir kesisi, sol kalçalarına siyatik sinirde 10 mm lik boşluk oluşturularak) 12 hafta 10 mikrogr/gün subkutan exenatid(glp-1 analoğu) uygulanacak ilaç grubu olarak belirlendi.

Grup-2(n=12): 12 tanesinin de siyatik sinir hasar modeli sonrası(sağ kalçalarına siyatik sinir kesisi, sol kalçalarına siyatik sinirde 10 mm lik boşluk oluşturularak) 12 hafta 0.1 ml/gün subkutan NaCl uygulanacak kontrol grubu olarak belirlendi.

ÇALIŞMA PLANI

Grup-1 sıçanlara 12 hafta boyunca 10 mikrogr/gün subkutan exenatid(glp-1 analoğu) uygulandı. Grup-2 sıçanlara 12 hafta 0.1 ml/gün subkutan NaCl uygulandı, çalışma planı řu şekilde gerçekteştirildi;

-0. Hafta; tüm sıçanlara ağırlık ölçümü, motor test, EMG ve kan şekeri ölçümü yapıldı.

-1.Hafta; tüm sıçanlara ağırlık ölçümü, motor test ,EMG ve kan şekri ölçümü yapıldı. İlaç ve kontrol gurubundan 1'er sıçan raslantısal şekilde seçilerek stereomikroskopik olarak değerlendirildi, bu sıçanlar sakrifiye edilerek ,siyatik sinirleri histolojik değerlendirmeye alındı.

-3.Hafta; tüm sıçanlara ağırlık ölçümü, motor test ,EMG ve kan şekri ölçümü yapıldı. İlaç ve kontrol gurubundan 1'er sıçan raslantısal şekilde seçilerek stereomikroskopik olarak değerlendirildi, bu sıçanlar sakrifiye edilerek ,siyatik sinirleri histolojik değerlendirmeye alındı.

-6.Hafta; tüm sıçanlara ağırlık ölçümü, motor test, EMG ve kan şekeri ölçümü yapıldı.

-9.Hafta ; tüm sıçanlara ağırlık ölçümü, motor test ,EMG ve kan şekri ölçümü yapıldı. İlaç ve kontrol gurubundan 1'er sıçan raslantısal şekilde seçilerek stereomikroskopik

olarak değerlendirildi, bu sıçanlar sakrifiye edilerek ,siyatik sinirleri histolojik değerlendirmeye alındı.

-12. Hafta; tüm sıçanlara ağırlık ölçümü, motor test ,EMG ve kan şekri ölçümü yapıldı. İlaç ve kontrol gurubundan 1'er sıçan raslantısal şekilde seçilerek stereomikroskopik olarak değerlendirildi, bu 2 sıçan ve diğer kalan tüm sıçanlar sakrifiye edilerek ,siyatik sinirleri histolojik değerlendirmeye alındı.

ALT EKSTREMİTE KASLARI MOTOR YANIT DEĞERLENDİRME :

Alt ekstremitelerinde motor güç göstergesi olan tırmanma açısı ölçüm cihazı (şekil8),her sıçana 3 'er defa olacak şekilde tırmanma açıları kaydedildi. Açı 0 derecede iken ünite üzerine sıçan serbest bırakıldı. Açı yavaş bir şekilde artırıldıktan sonra ünite üzerinde tutunabildiği en son açı tırmanma-tutunma açısı olarak kaydedildi ve her sıçan için 3 defa kayıt alındı, en yüksek değer kayıt edildi.(şekil 9)



Şekil 8: tırmanma açısı ölçüm cihazı(eğimli yüzey tutunma)



Şekil 9: sıçanın cihaz üzerinde tutunabildiği en son açığı kaydedildi.

ELEKTROFİZYOLOJİK DEĞERLENDİRME:

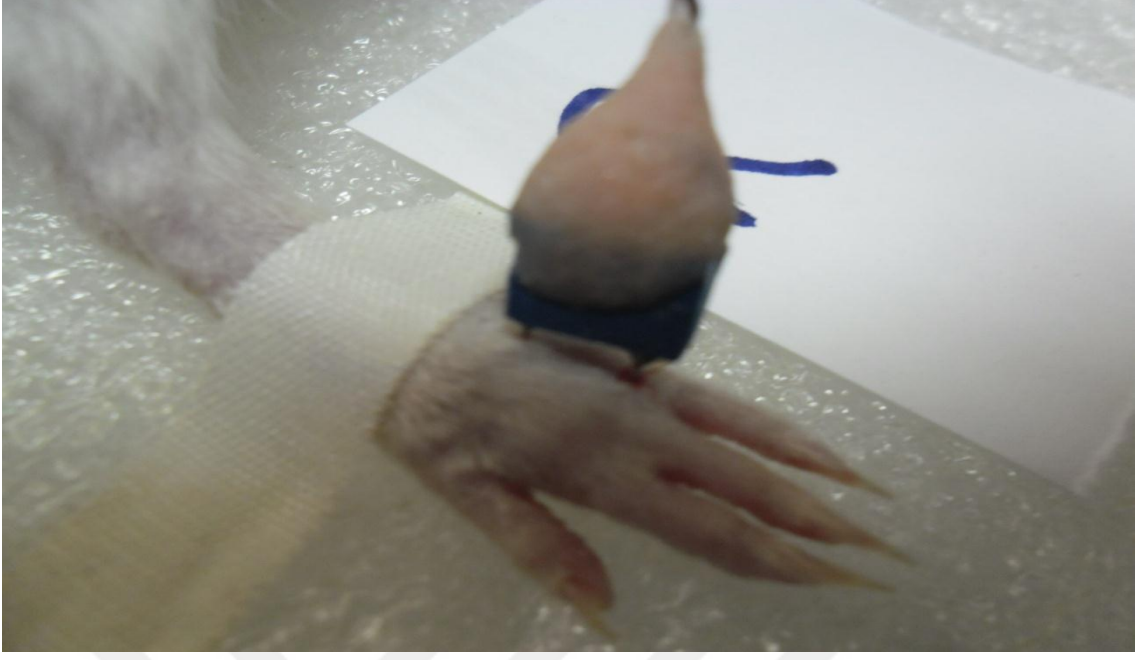
Elektrofizyolojik testler periferik sinir rejenerasyonunu değerlendirmede sıkça kullanılırlar. Sinir liflerinin kas liflerini uymaları ile oluşan aksiyon potansiyellerinin , bir amplifikatör aracılığı ile büyütülerek incelenmesi esasına dayanır. Elde edilen aksiyon potansiyelleri birleşik kas aksiyon potansiyelleri olup , bunların üzerinden çeşitli parametreler ölçülerek değerlendirilmede kullanılabilir. **Pik aksiyon potansiyel amplitudu** , myelinli aksonlarca oluşturulan elektrik akımını gösterir. **Supramaksimal uyurum** ile elde edilen birleşik kas aksiyon potansiyel eğrilerinde amplitud olarak pozitif ve negatif pikler arası mesafe ölçülür(p-p arası mesafe), bu ölçüm ile uyarıya yanıt veren motor lif popülasyonu , bunların cevaplarının senkronizasyonu ve akson tarafından innerve olan motor ünitenin boyutu hakkında bilgi sahibi olunabilir. Aksonal rejenerasyon arttıkça ve remyelinizasyon ilerledikçe ,liflerde oluşan değişim ve cevap arttığı için senkronizasyon ve amplitud artmaktadır.(67)

EMG her rat için cerrahi işlem öncesi ve cerrahi işlem sonrası 1-3-6-9-12. haftalarda tekrarlandı .Elektrofizyolojik ölçümler bilgisayar destekli MP30 sinir ileti hızı ölçüm kiti (Biopac systems, Inc., USA)(şekil 14) kullanılarak yapıldı. Standart olarak kalça ve alt ekstremiteleri traşlandıktan sonra ratın kulağına topraklama için kısaç elektrot yerleştirildi. Uyarı veren iğne şeklindeki elektrot siyatik çentikten

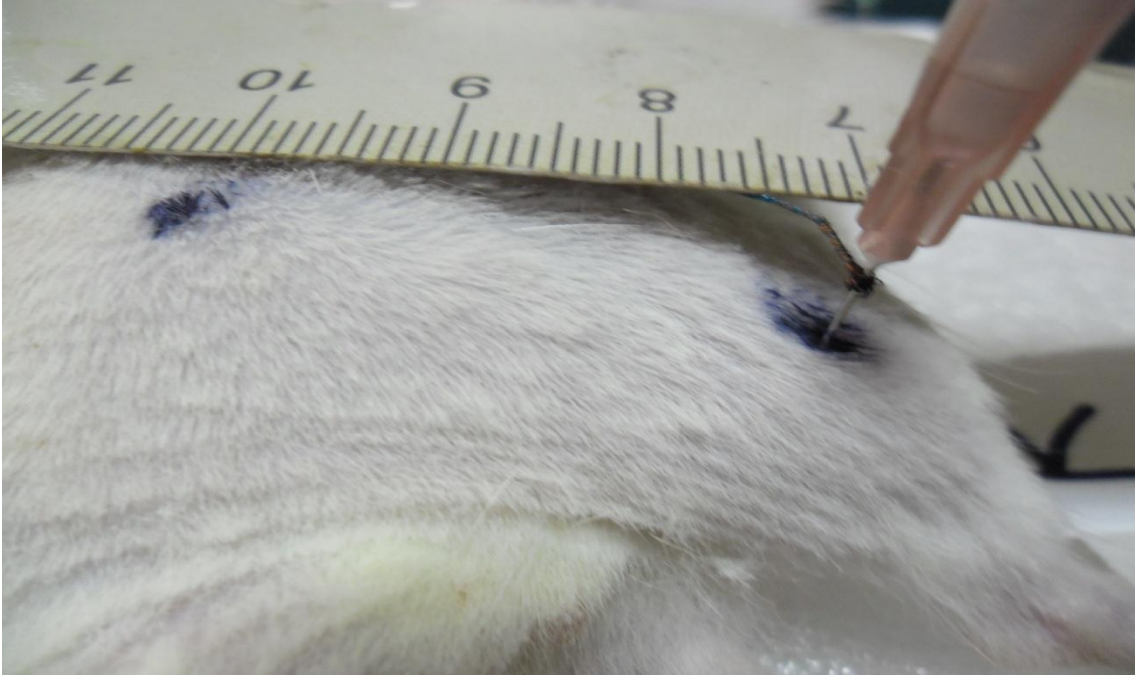
yaklaşık 10 mm distale ve siyatik hasar oluşturulan alanın 10 mm proksimaline gelecek şekilde yerleştirildi. Kayıt için distal kutup 2. İnterdijital aralıkta olacak (şekil 10) şekilde ölçümler yapıldı, ilk kayıttan sonra proksimal kutup 3 cm cetvelle ölçülerek distale alındı(şekil 11) ve ölçümler tekrarlandı.(şekil 11-12). Latans ve amplitudları değerlendirildi. Her hayvanın her iki alt ekstremitesine üçer adet aksiyon potansiyeli eğrileri çizdirilerek ortalama değerler alındı ve bu değerler istatistiksel olarak ilaç (grup-1) ve kontrol (grup-2) grupları karşılaştırıldı. EMG kayıtları, 1 miliamper akım aralığında, %0 ile %100 arasında akım hızı arttırıp azaltılarak her bir hayvan için supramaksimal uyarı eşikleri bulunduktan sonra alındı. Bu şekilde gastroknemius kası birleşik kas aksiyon potansiyelleri ölçüldü (CMAP: Compound muscle action potential). Çizdirilen aksiyon potansiyeli eğrilerinde uyarıdan defleksiyonun başladığı zamana kadar geçen süre, yani 'latans' değerleri, oluşan potansiyelin tepe-tepe amplitüdü (p-p amplitüt) ve maksimal pozitif yöndeki tepe-taban pik değerleri (p-max) ölçüldü(şekil - 13).



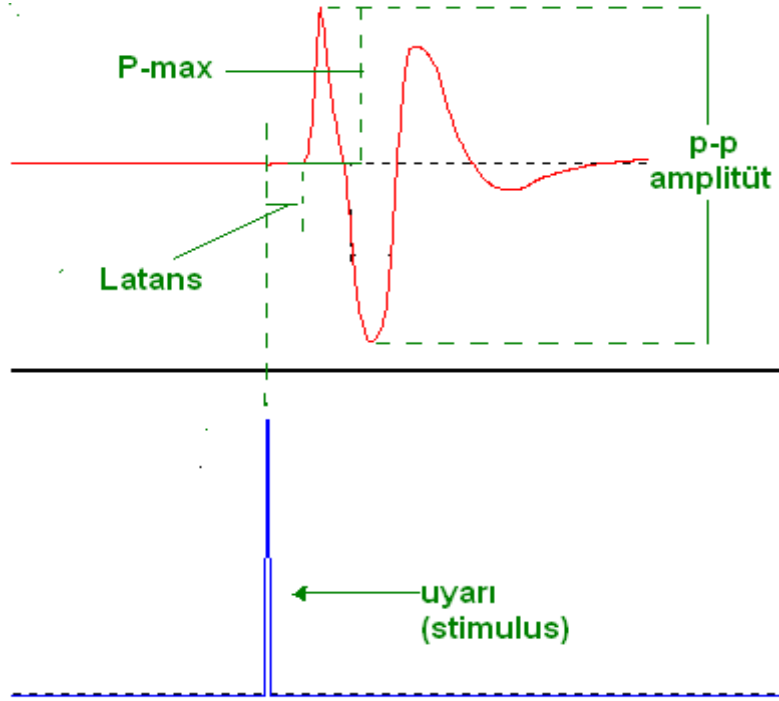
Şekil 10: sağ siyatik sinir için EMG ölçümünün yapılması



Şekil 11: distal bölge olarak 2. İnterdijitalden kayıt alınması



Şekil 12: siyatik çentikten kayıt alındıktan sonra 3 cm distalden kayıt alınması



Şekil 13: EMG kaydında değerlendirilen parametreler



Şekil 14: MP30 marka EMG ölçüm cihazı

CERRAHİ İŞLEM:

İntraperitoneal 50mg/kg Ketamin HCl (Alfamine) ve 10 mg/kg Xylazine (Alfazyne) ile yapılan anestezi sonrası, sıçanların glutea ve uyluk bölgeleri traş edildi. Yüz üstü pozisyonda tespit tahtasına yerleştirildikten sonra povidon iyodin (şekil 16)ile cerrahi alan antisepsisi sağlandı. Grup-1 ve grup -2 için tüm ratların sağ ve sol alt ekstremitelerine aynı cerrahi işlem aynı cerrahi mikroset (Bahadır marka,şekil 15) ile uygulandı.

Sağ uyluk posterioruna 15 no'lu bistüri ile 1 cm lik oblik cilt insizyonu yapıldı (şekil 17)ve biceps femoris kası künt diseksiyonla açılıp siyatik sinire ulaşıldı(şekil 17-18).Siyatik sinir uyluk ortasından mikrocerrahi makas ile tam kat kesildi(şekil 19), biceps femoris kası diseke edilen kısım 4/0 vicrly ile suture edildi, cilt 4/0 prolen ile suture edildi, povidon iyodin ile yara antisepsisi yapılarak cerrahi sonlandırıldı.

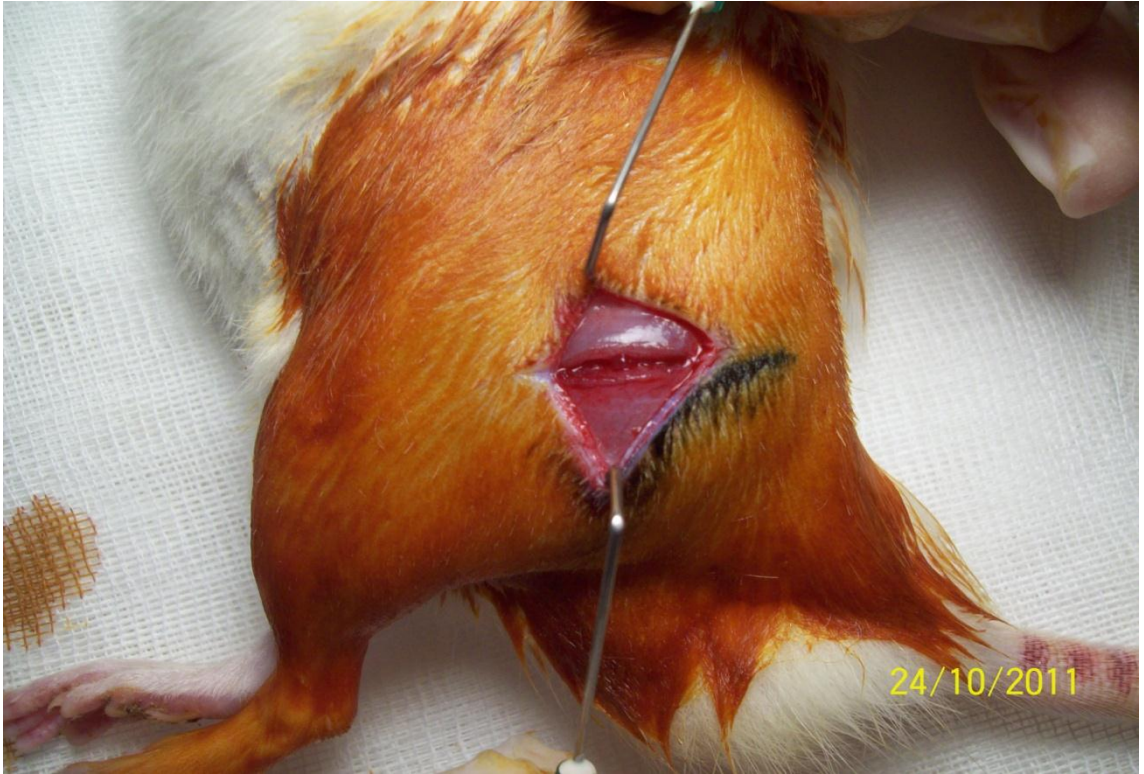
Sol alt ekstremitte için aynı cerrahi işlemler tekrarlandı, siyatik sinir uyluk ortasından 1 cm lik boşluk oluşturacak şekilde mikrocerrahi makas (bahadır) ile tam kat kesildi.(şekil 20)



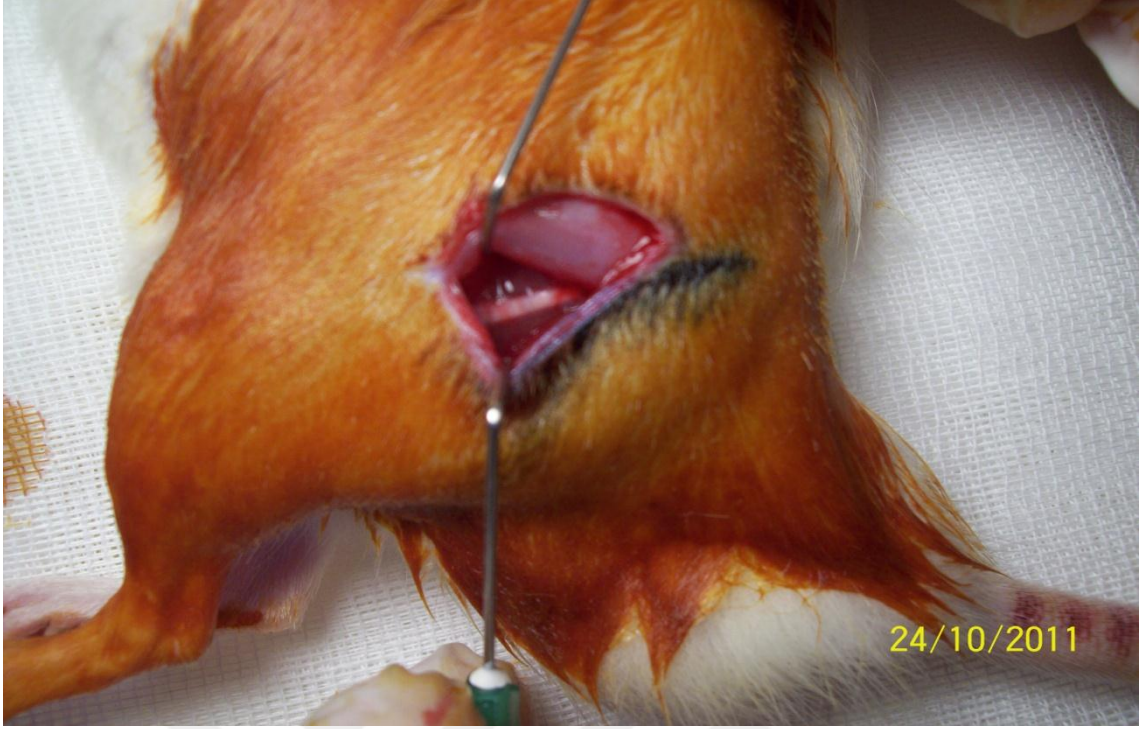
Şekil 15: bahadır marka mikrocerrahi set ,penset ve makas



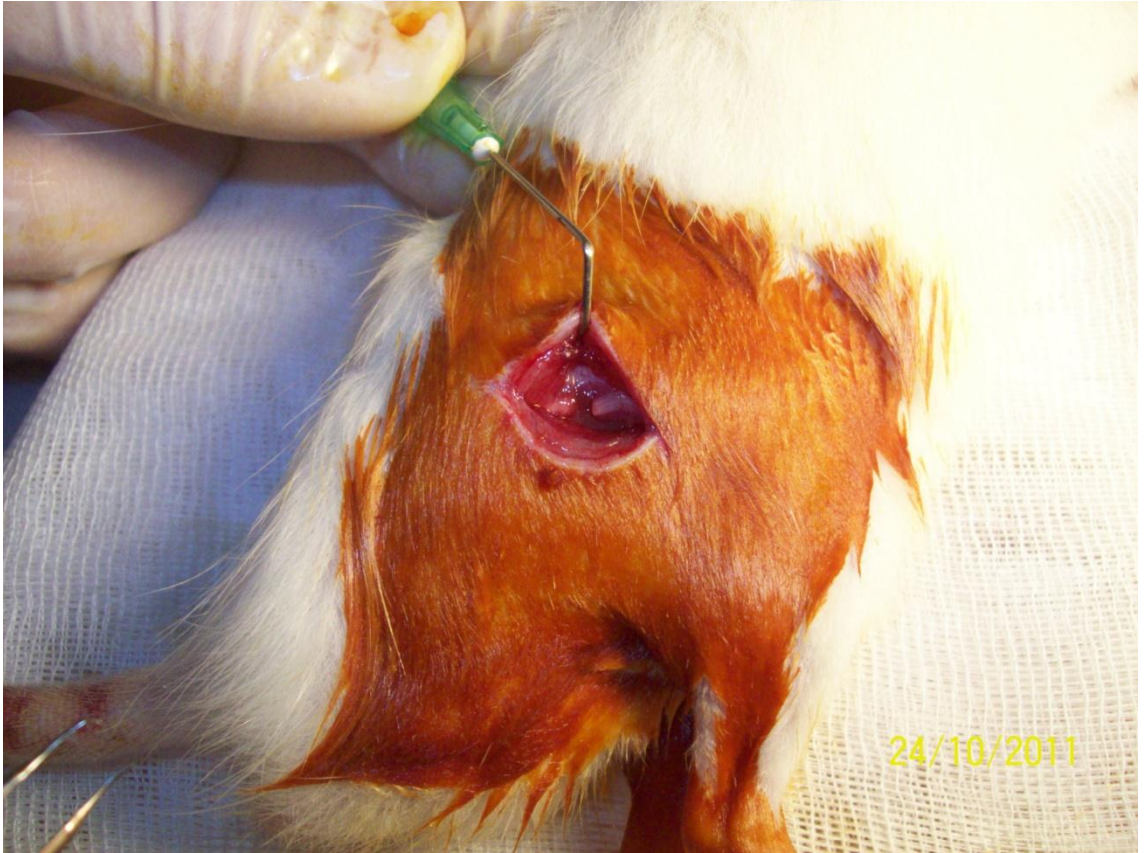
Şekil 16: 1 cm lik cerrahi insizyon şekli ve yeri



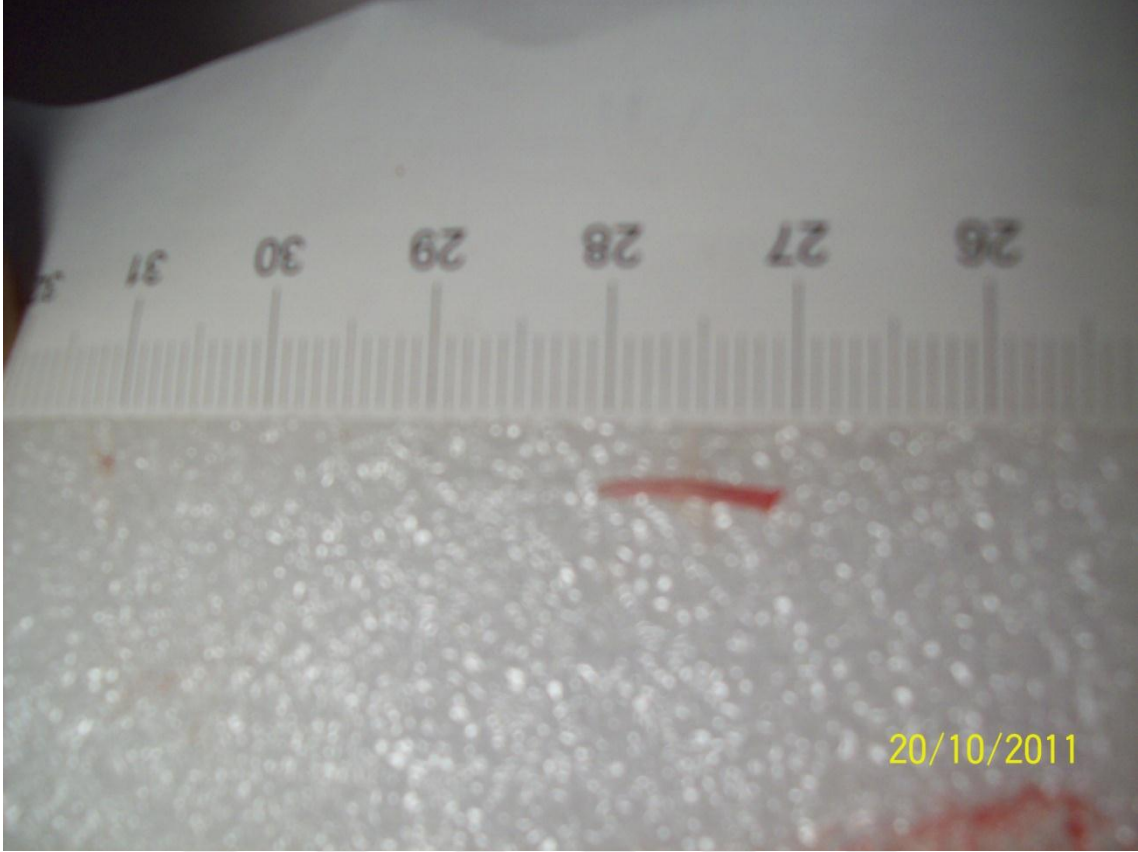
Şekil 17: biceps femoris kası künt diseksiyonu



Şekil 18:siyatik sinire ulaşılması



Şekil 19: sağ alt ekstremiteler için siyatik sinir keskin tam kesi oluşturulması



Şekil 20: sol alt ekstremitelerinden 1 cm 'lik boşluk oluşturmak için çıkarılmış siyatik sinir.

STEREOMİKROSKOBİK DEĞERLENDİRME:

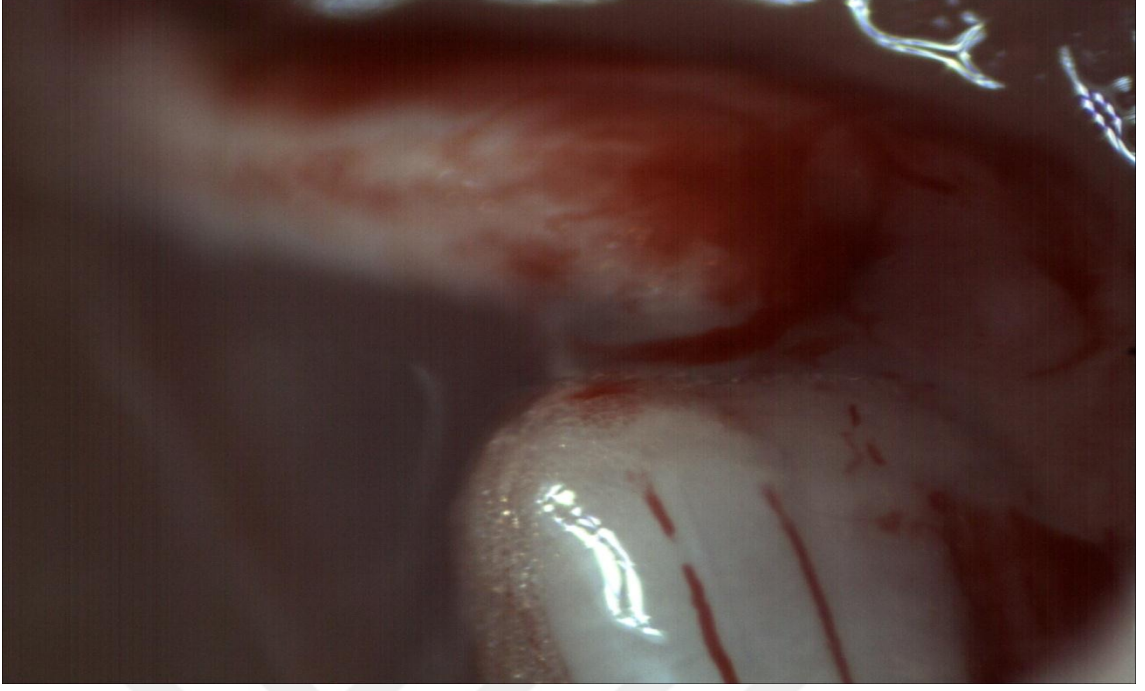
Soif marka stereomikroskop (45x büyütme) (şekil 69)ve Md30 marka video kayıt cihazı (3.2x büyütme)(şekil 21) ile7x ile 120x büyütme arasında 10'ar dakikalık video ve fotoğraf kaydı alındı. (şekil 22)



Şekil 21:soif marka stereomikroskop



Şekil 22:MD30 marka kayıt cihazı



Şekil 23: stereomikroskop ile yapılan kayıttan örnek görüntü 45x büyütme 7. gün siyatik sinir kesi bölgesi

HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME

Elektrofizyolojik kayıtlar tamamlandıktan sonra, 1-3-6-9. Haftalarda grup-1 ve grup-2 den 1'er rat ve 12. Haftada tüm ratlar genel anestezi altında histomorfometrik analizler için, siyatik sinirleri eksize edildi, daha sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edildiler. Doku parçaları %4'lük nötral tamponlu formaldehit fiksatifine alınarak 24 saat bekletilerek fiske edildi. 24 saat PBS tamponunda bekletilerek yıkandı, daha sonra Etanol ile dehidratasyon işlemi yapıldı. Alkolden çıkarılan parçalar oda ısısında kurutuldu. Ksilol ile şeffaflandırılan örnekler 58°C etüvde erimiş parafin içerisinde bekletilerek bloklandı. Işık mikroskopik incelemeler için mikrotomda (Leica RM 2145) 3µ'luk kesitler alınarak hematoksilin-eozilin ile boyandı ve akarsu altında yıkama ve ksilol ile temizleme işleminden sonra genel histopatolojik inceleme için (Olympus) ışık mikroskopunda değerlendirilerek fotoğrafları çekildi.

İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME

Histomorfometrik analizlerle elde edilen bulgular, gruplar arasında non-parametrik Mann Whitney-U yöntemi ile karşılaştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler, medyan (%25-%75 persentil) biçiminde gösterildi.

Elektromyografik ölçümlerle elde edilen değerler ise gruplar arasında parametrik tek yönlü varyans analizi testi ile karşılaştırılırken, her gruptaki sağlam ve deney tarafında elde edilen değerler birbirleri ile parametrik paired t-testi ile karşılaştırıldı, $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. Tanımlayıcı istatistikler, ortalama±standart sapma biçiminde gösterildi. Tüm analizler SPSS 15. 0 for Windows istatistik paket programında %95 güvenle yapıldı.

BULGULAR

Çalışma, siyatik sinir hasar modeli sonrası exenatid(GLP-1 analogu) grubu (grup-1) ve siyatik sinir hasarı sonrası NaCl uygulana kontrol grubu(grup-2) deneklerinin 12. Hafta sonunda sakrifikasyonu ile sonlandırıldı. Sakrifikasyon sonrası bilateral siyatik sinirler histolojik değerlendirme için parafin bloklara alındı.12 haftalık dönemdeki motor test ,ağırlık , kan şekeri değeri ,stereomikroskopik ve histolojik olarak değerlendirildi. İlaç grubundan 2 sıçan 2. Haftada ölü olarak bulundu ve çalışmadan çıkarıldılar.

MOTOR TEST:

Çalışma, ilaç (Grup-1) ve kontrol(Grup-2) grupları motor testleri değerlendirildiğinde;

- 1. Haftada ilaç grubunda motor testler kontrol grubuna göre istatikselsel olarak **yüksek** bulundu.($p=0.001$)

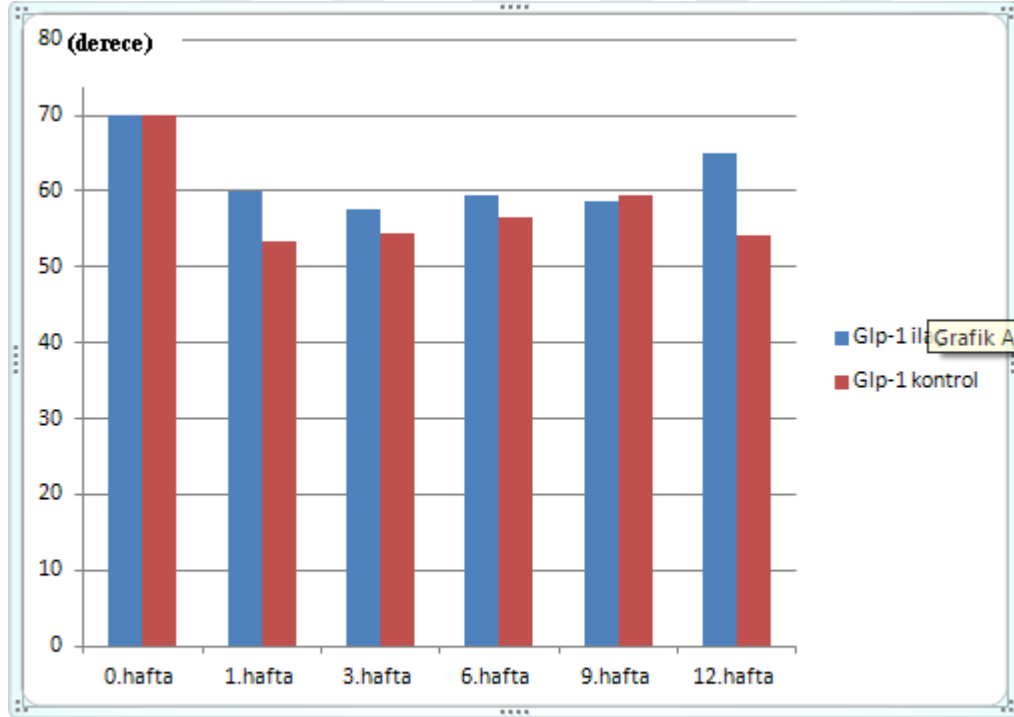
-3. 6. 9. Haftalarda ilaç ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı.(sırası ile $p=0.132,p=0.094,p=0.798$)

-12. Haftada ilaç grubunda motor testler kontrol grubuna göre istatikselsel olarak **yüksek** bulundu.($p=0.001$)

Bulgular Tablo-3 ve Grafik-1 de gösterilmiştir.

Motor	GLP-1(Grup-1) (derece)		Kontrol(Grup-2) (derece)		Toplam		P
	Ort.±SS	Median	Ort.±SS	Median	Ort.±SS	Median	
1.HAFTA(n-i:12, n-k:12)	60±3,87	60	53,33±2,46	55	56,52±4,63	55	0,001
3.HAFTA(n-i:9, n-k:11)	57,5±3,54	55	54,55±3,5	55	55,95±3,75	55	0,132
6.HAFTA(n-i:8, n-k:11)	59,44±3	60	56,67±2,5	55	58,06±3,04	60	0,094
9.HAFTA(n-i:8, n-k:11)	58,75±2,31	60	59,38±3,2	60	59,06±2,72	60	0,798
12.HAFTA(n-i:7, n-k:10)	65±2,89	65	54,29±1,89	55	59,64±6,03	57,5	0,001

Tablo 3: GLP-1 uygulanan olguların motor değerleri ortalama ve median dağılımı.
(n-i: ilaç gurubu sıçan sayısı, n-k: kontrol gurubu sıçan sayısı)



Sıçan Sayısı	ilaç: 12	12	9	8	8	7
kontrol: 12	12	12	11	11	11	10

Grafik 1: GLP-1 uygulanan olguların motor değerleri ortalama ve median dağılımı

AĞIRLIK ÖLÇÜMLERİ

Çalışma, ilaç (Grup-1) ve kontrol(Grup-2) grupları ağırlık ölçümleri değerlendirildiğinde;

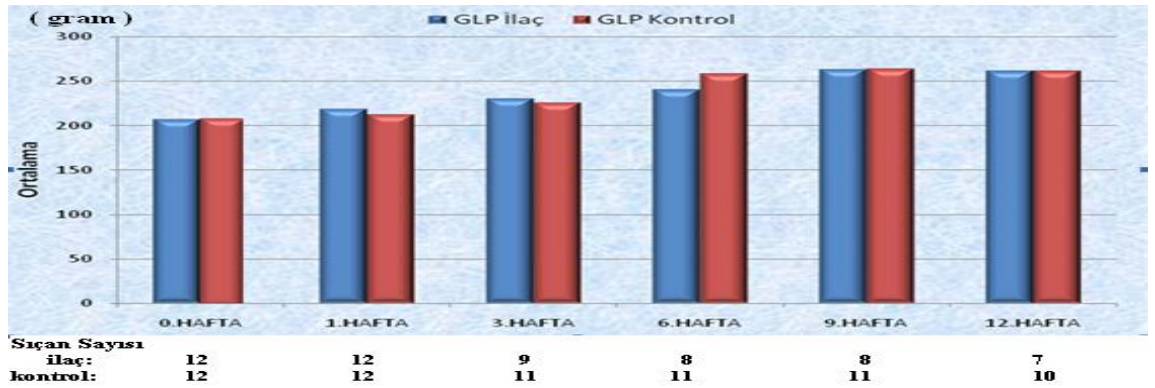
-0, 1, 3, 6, 9 ve 12. haftada ölçülen ağırlık değerleri açısından ilaç ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$)

Bulgular Tablo-4 ve Grafik-2 de gösterilmiştir

Ağırlık(gram)	GLP-1 İlaç		GLP-1 Kontrol		Toplam		P
	Ort.±SS (gram)	Median	Ort.±SS (gram)	Median	Ort.±SS (gram)	Median	
0.HAFTA(n-i:12, n-k:12)	206,25±10,03	202,5	204,50±10,67	201	206,25±10,03	202,5	0,301
1.HAFTA(n-i:12, n-k:12)	218,50±11,8	217,5	211,67±14,67	210	214,77±13,58	210	0,283
3.HAFTA(n-i:9, n-k:11)	229,50±14,03	225	225,45±23,82	220	227,38±19,4	220	0,605
6.HAFTA(n-i:8, n-k:11)	240,00±20,62	240	257,78±30,32	260	248,89±26,76	245	0,222
9.HAFTA(n-i:8, n-k:11)	262,50±23,15	260	263,75±25,6	250	263,13±23,58	250	0,798
12.HAFTA(n-i:7, n-k:10)	261,43±25,45	250	261,43±25,45	250	261,43±24,45	250	1,000

Tablo 4: GLP uygulanan olguların ağırlık ortalama değerleri ve median dağılımı.

(n-i: ilaç gurubu sıçan sayısı, n-k: kontrol gurubu sıçan sayısı)



Grafik 2: GLP uygulanan olguların ağırlık ortalama değerleri ve median dağılımı

KAN ŞEKERİ DEĞERLERİ

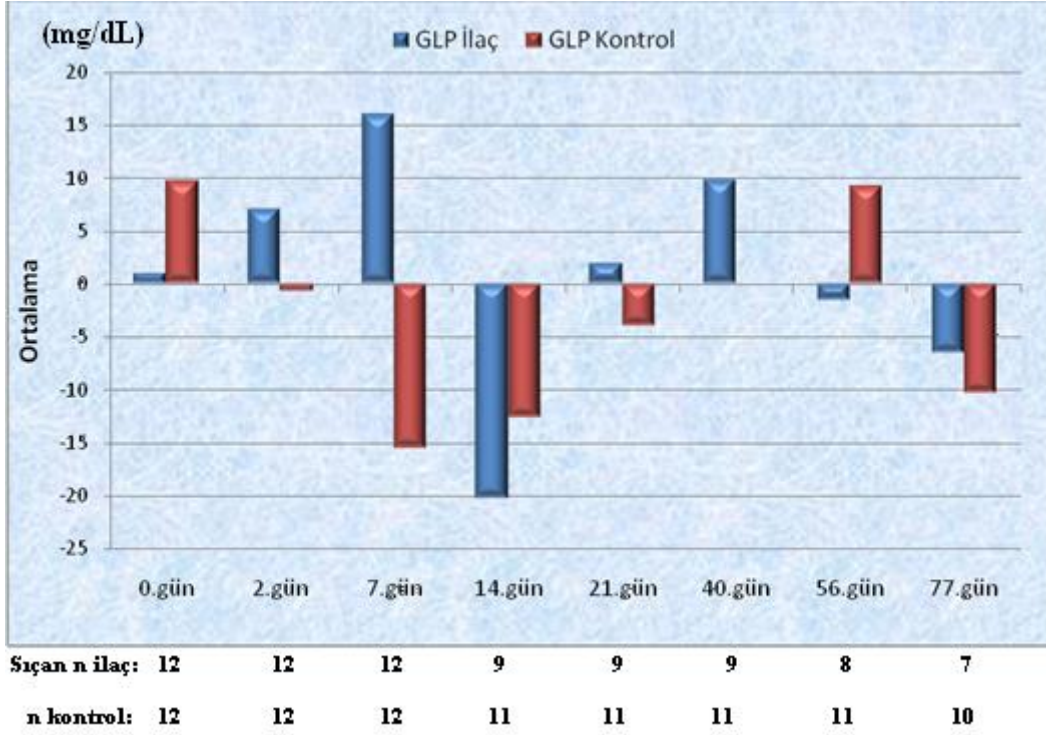
Çalışma, ilaç (Grup-1) ve kontrol(Grup-2) grupları kan Şekerleri değerleri değerlendirildiğinde;

-0, 2, 7, 14, 21, 40, 56 ve 77. günlerde llen başlangıç (0. saat) ve grup-1 de exenatid(GLP-1 analoğu) grup-2 de NaCl uygulandıktan 3. saat kan Şekerleri arasındaki farklar incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Bulgular Tablo-5 ve Grafik-3 de değerlendirilmiştir

Kan Şekeri	İlaç grubu		Kontrol grubu		Toplam		<i>p-değer</i>
	Ort.±SS(mg/dl)	Median	Ort.±SS(mg/dl)	Median	Ort.±SS(mg/dl)	Median	
0.gün(n-i:12, n-k:12)	1±24,15	4	9,67±12,67	10,5	5,33±19,37	10,5	0,443
2.gün(n-i:12, n-k:12)	7,08±29,25	8	-0,75±25,72	-1,5	3,17±27,23	1,5	0,410
7.gün(n-i:12, n-k:12)	16±32,92	7	-15,55±30,77	-10	0,23±35,04	-0,5	0,056
14.gün(n-i:9, n-k:11)	-20,2±41,62	-12	-12,6±27,44	-8	-16,4±34,53	-12	0,684
21.gün(n-i:9, n-k:11)	1,9±36,27	-2	-4±40,18	-1,5	-0,72±37,02	-2	0,696
40.gün(n-i:9, n-k:11)	9,8±17,42	4,5	0±24,93	-0,5	5,44±21,02	4,5	0,515
56.gün(n-i:8, n-k:11)	-1,63±17,37	-8	9,25±32,15	8	3,81±25,58	-1	0,279
77.gün(n-i:7, n-k:10)	-6,57±24,64	-3	-10,29±34,44	-3	-8,43±28,83	-3	1,000

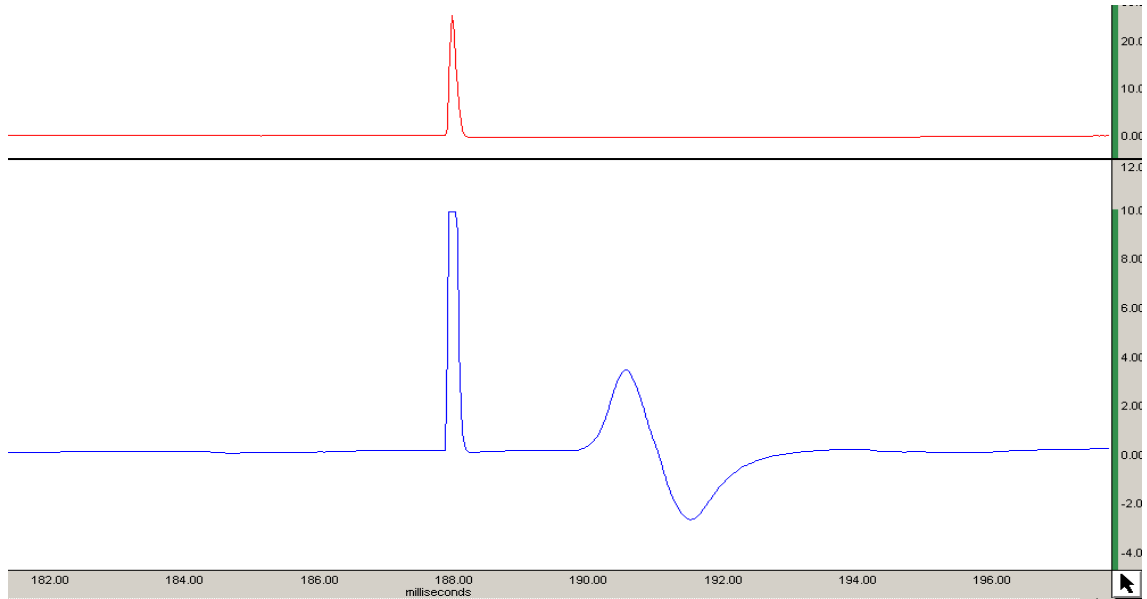
Tablo 5: GLP-1 uygulanan olguların 0. saat ve 3. saatte llen kan Şekerleri farklarının ortalama ve median değerleri dağılımı(değerler mg/dl'dir). n-i: ilaç gurubu sıçan sayısı, n-k: kontrol gurubu sıçan sayısı



Grafik-3: GLP-1 uygulanan olguların 0. saat ve 3. saatte ölçülen kan şekerleri farklarının ortalama ve median değerleri dağılımı

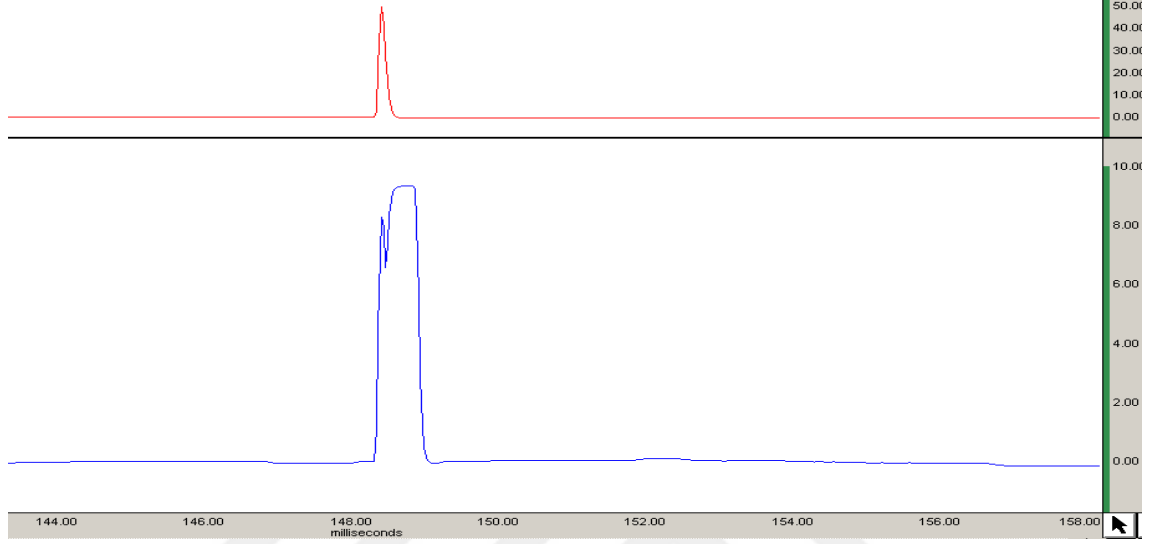
ELEKTROFİZYOLOJİK DEĞERLENDİRME

Çalışma öncesi ilaç (grup-1) ve kontrol(grup-2) grupları EMG ile değerlendirildi ve bilateral siyatik sinirlerinin sağlam olduğu kayıt altına alındı.(şekil 24)



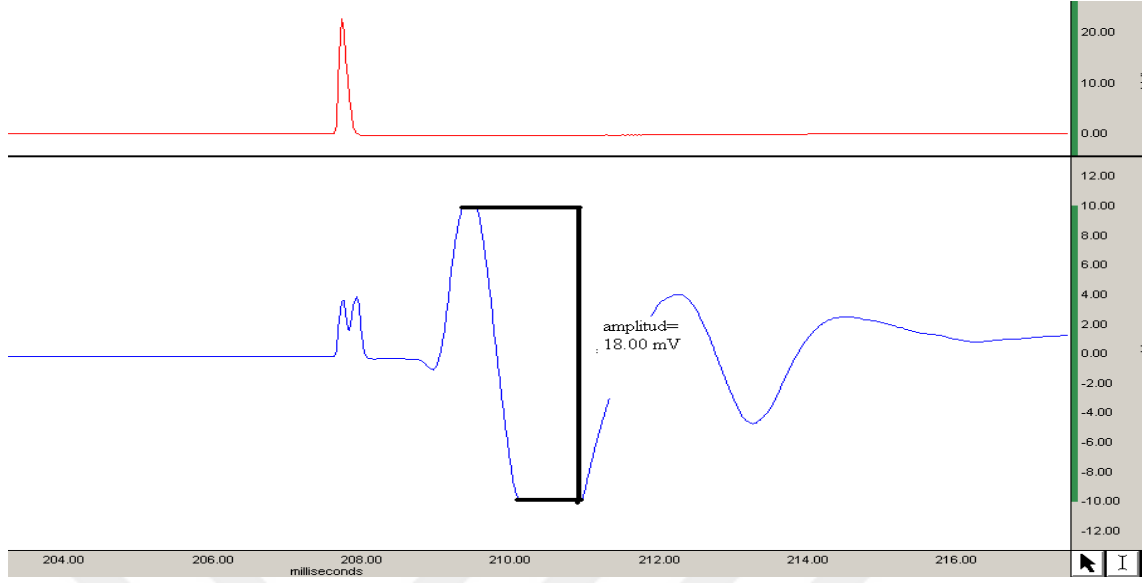
Şekil 24 : çalışma öncesi yapılan sağlam siyatik sinire ait EMG yanıtı.

-1. 3. 6. Haftalarda ilaç (grup-1) ve kontrol(grup-2) gruplarına yapılan EMG lerinde 2. İnterdijital aralıktan alınan kayıtlarda sağ ve sol alt ekstremitelere yanıt yoktu.(şekil 25). 9 ve 12. Haftalarda hem 2. İnterdijitalden hem de gastrosoleus kas grubundan kayıt alındı.

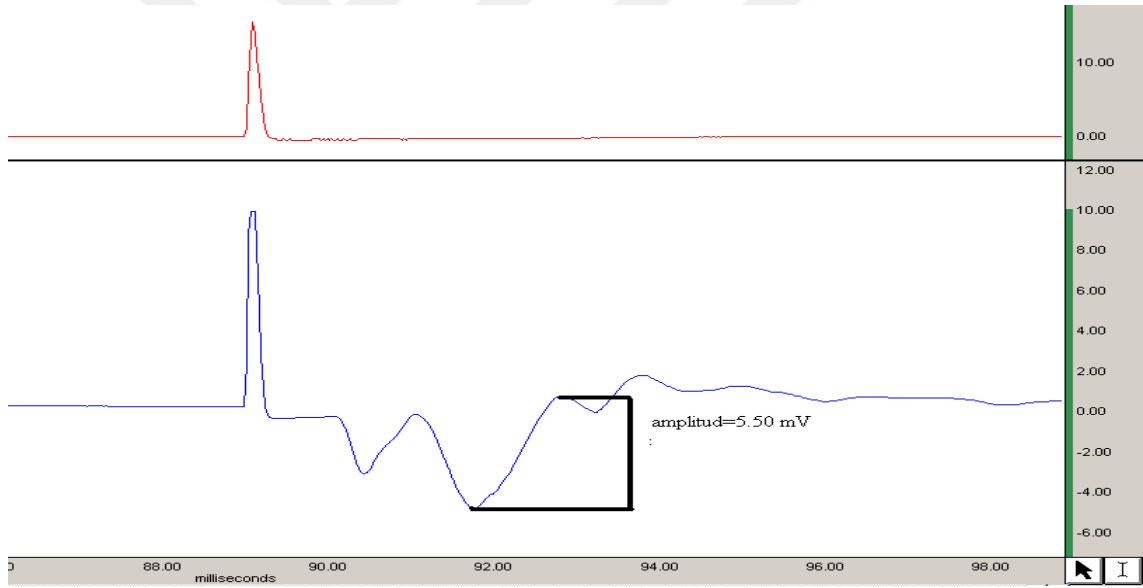


Şekil 25: 6. Haftada ilaç grubu sağ alt ekstremitesine yapılan EMG örneği(distal kutup 2. İnterdijitalden kayıt almıştır.)

-9. Haftada distal kutup olarak 2. İnterdijitalden yapılan EMG’de yanıt olmamasına rağmen proksimal yerleşimli gastrosoleus kas grubuna yerleştirilerek alınan EMG kayıtlarında , İlaç grubu(grup-1)’nda kontrol grubuna(grup-2)’na göre sağ alt ekstremite için latanslar arasında anlamlı fark yok iken($p=0.14$) amplitudlar kontrol grubuna göre ilaç grubunda istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.($p=0.001$). sol alt ekstremiteleri arasında amplitud ve latanslarında anlamlı fark bulunmamıştır.(sırası ile $p=0.12$, $p=0.35$)(şekil 26-27)

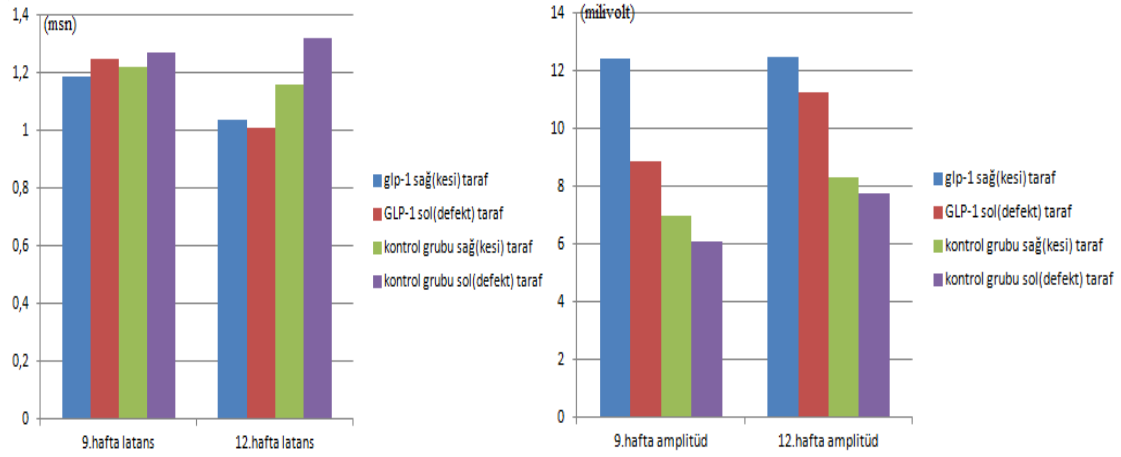


Şekil 26: ilaç grubu 9. Hafta sağ alt ekstremitte gastrosoleus kayıtlı EMG.



Şekil 27: kontrol grubu 9. Hafta sağ alt ekstremitte gastrosoleus kayıtlı EMG

-12. Haftada ilaç ve kontrol gruplarının distalden alınan EMG yanıtlarında yanıt yok iken, gastrosoleus dan alınan proksimal yanıtlarda hem sağ hem de sol alt ekstremitte için amplitudları ve latansları ilaç grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. (sırası ile sağ $p=0.01$, $p=0.002$, sol $p=0.0007$ $p=0.02$). (grafik 4, tablo 6)



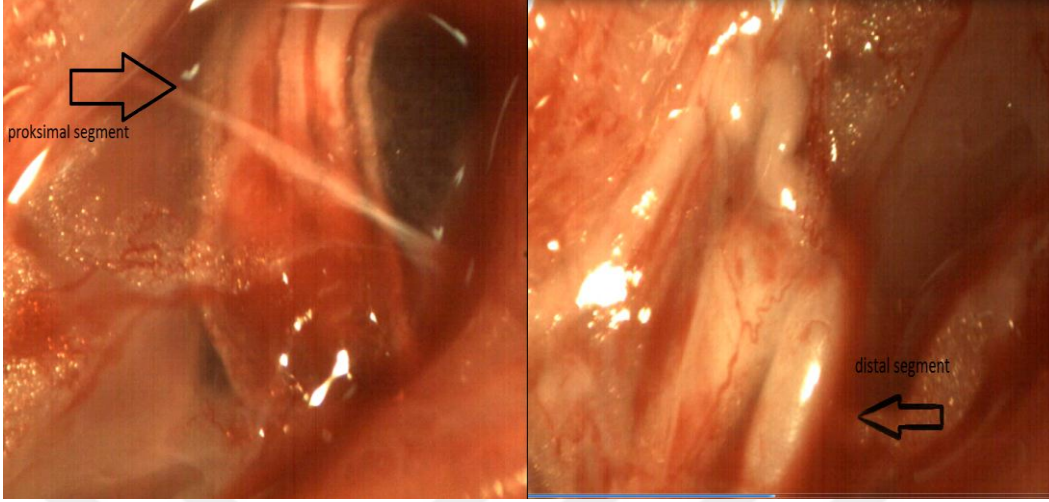
Grafik 4 : EMG değerlerinin kıyaslanması (latans ve amplitud değerleri)

	9. hafta latans (msn)	12. hafta latans(msn)	9. hafta Amplitud(mV)	12. hafta Amplitud(mV)
GLP-1 (sağ-kesi)	1.19±0.02	1.04±0.01	12.44±1.33	12.47±1.62
GLP-1 (sol-defekt)	1.25±0.02	1.01±0.03	8.86±1.70	11.29±0.44
Kontrol (sağ-kesi)	1.22±0.02	1.16±0.03	6.99±0.90	8.34±0.42
Kontrol (sol-defekt)	1.27±0.04	1.32±0.03	6.10±1.53	7.75±0.68

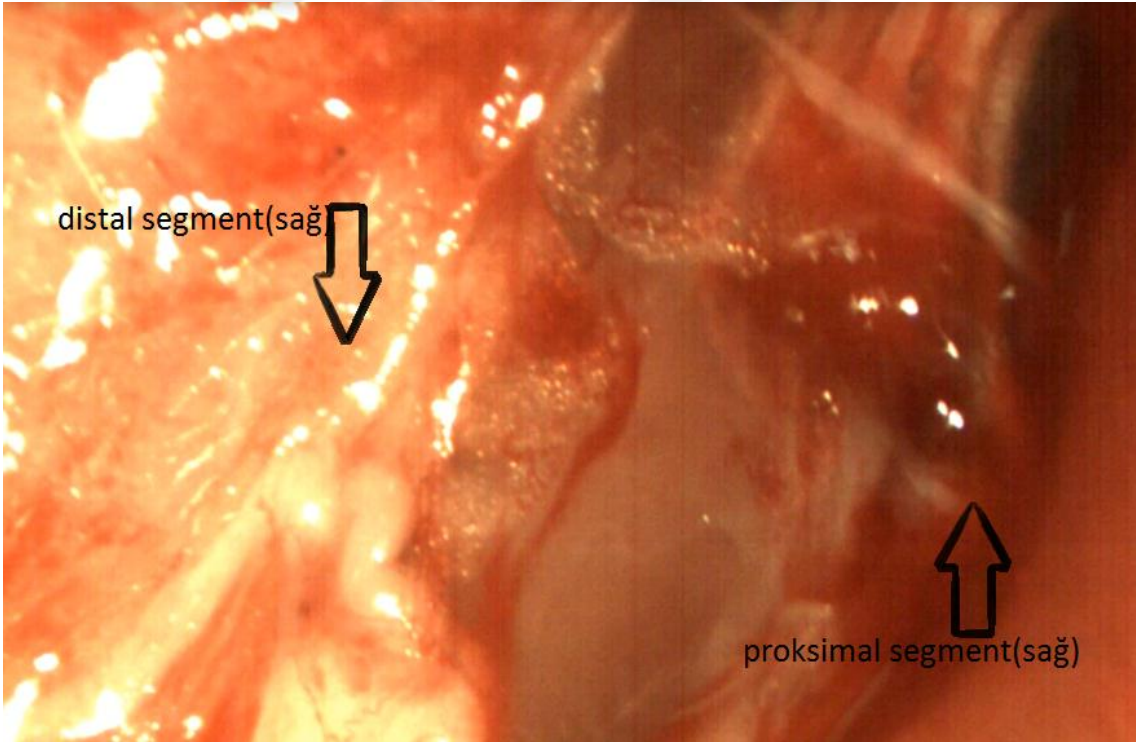
Tablo 6: latans ve amplitudların kıyaslanması.(9 . hafta ilaç n:8 , 12. Hafta ilaç n:7, 9. Hafta kontrol n:11, 12 . hafta n : 10)

STEREOMİKROSKOBİK DEĞERLENDİRME

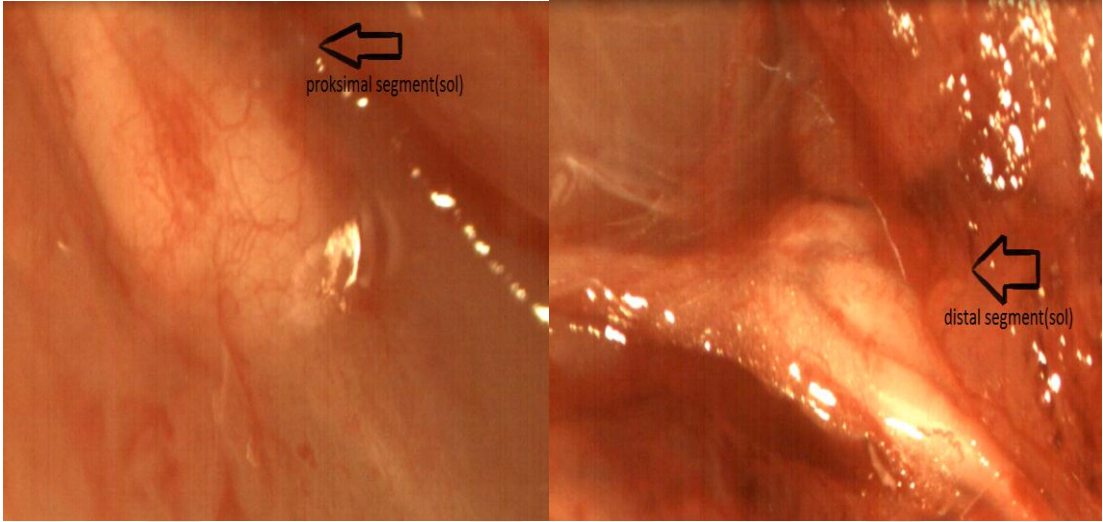
1.HAFTA DEĞERLENDİRME



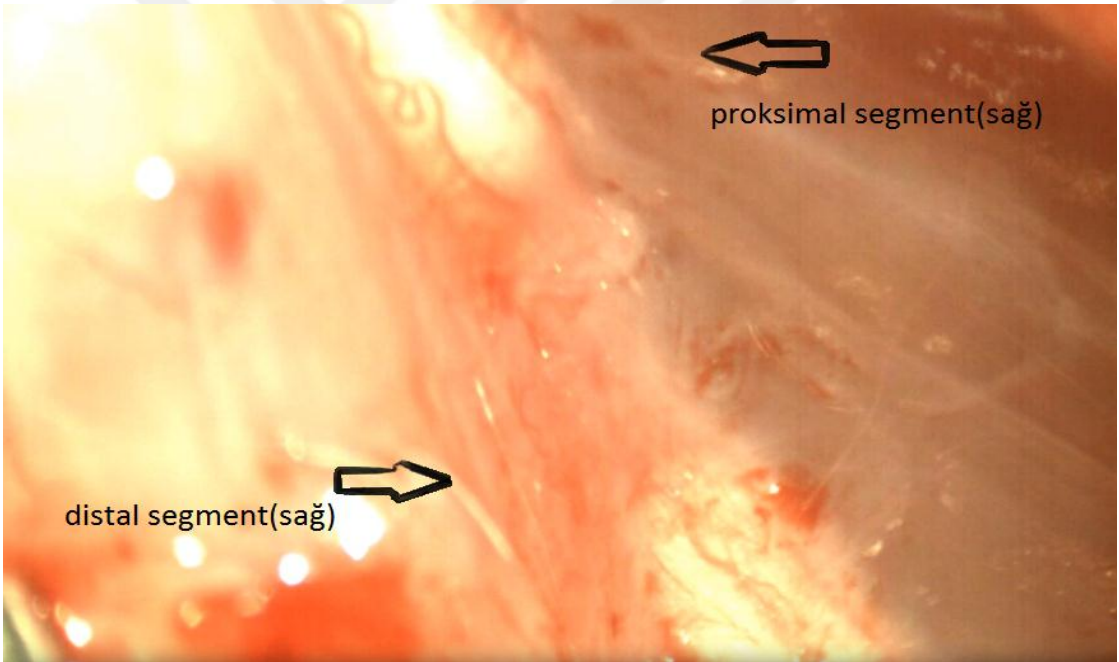
Şekil 28 : ilaç grubu 1. Hafta 32x büyütme sağ kalça proksimal ve distal segment görünümü



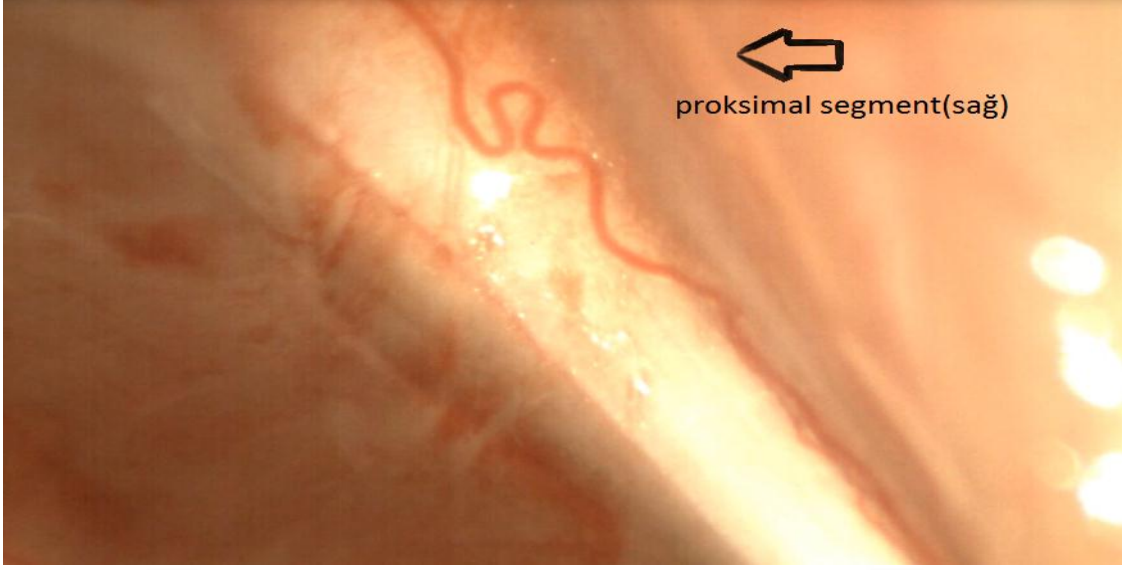
Şekil 29: ilaç grubu 1. Hafta 32x büyütme sağ kalça proksimal ve distal segment görünümü



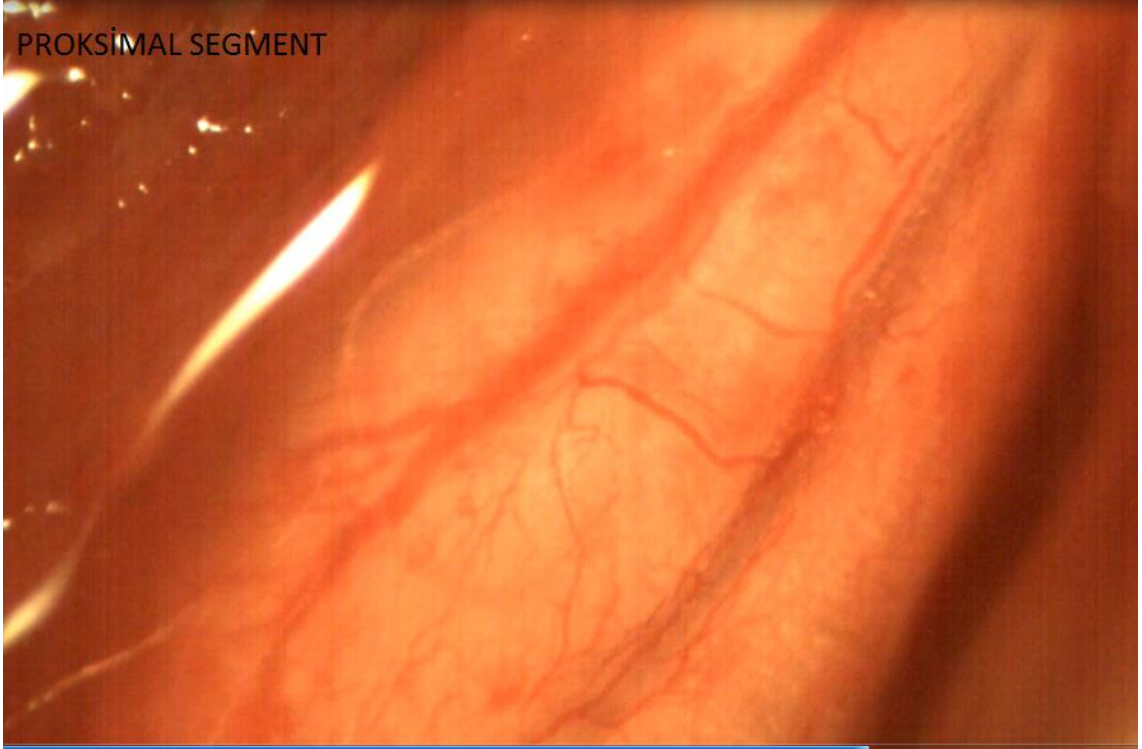
Şekil 30 :ilaç grubu 1. Hafta 32x büyütme sol kalça proksimal ve distal segment görünümü



Şekil 31 :kontrol grubu 1. Hafta 22x büyütme sağ kalça proksimal ve distal segment görünümü



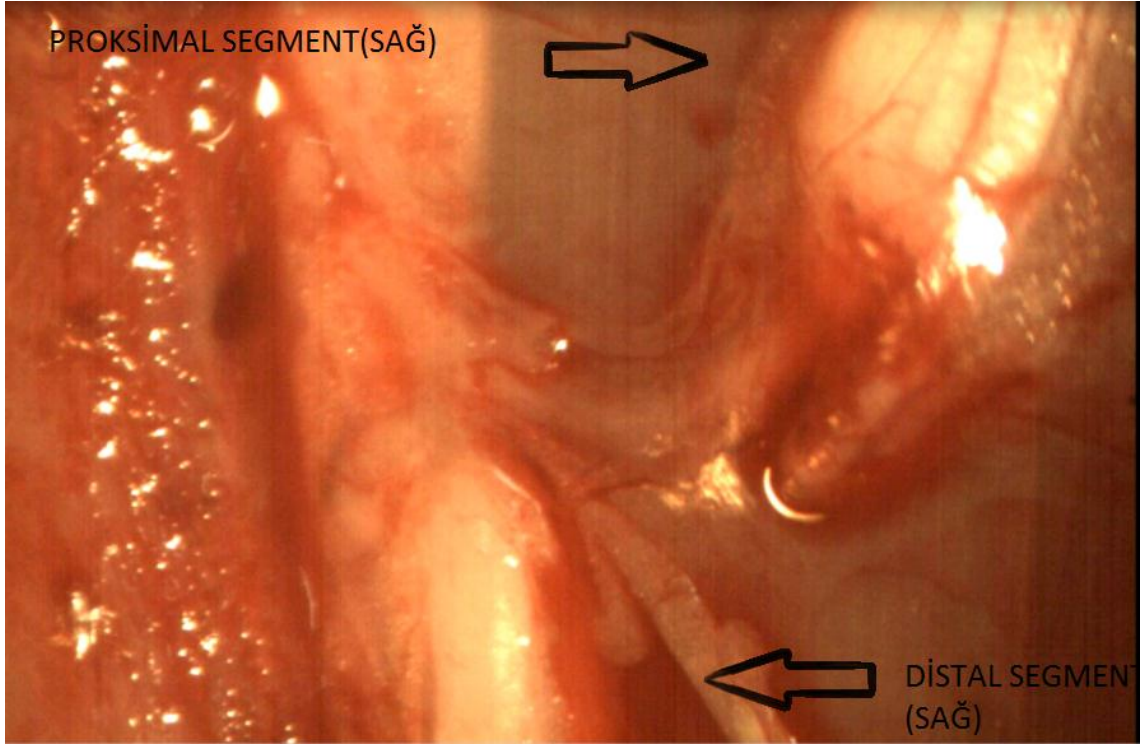
Şekil 32 :kontrol grubu 1. Hafta 48x büyütme sağ kalça proksimal segment görünümü



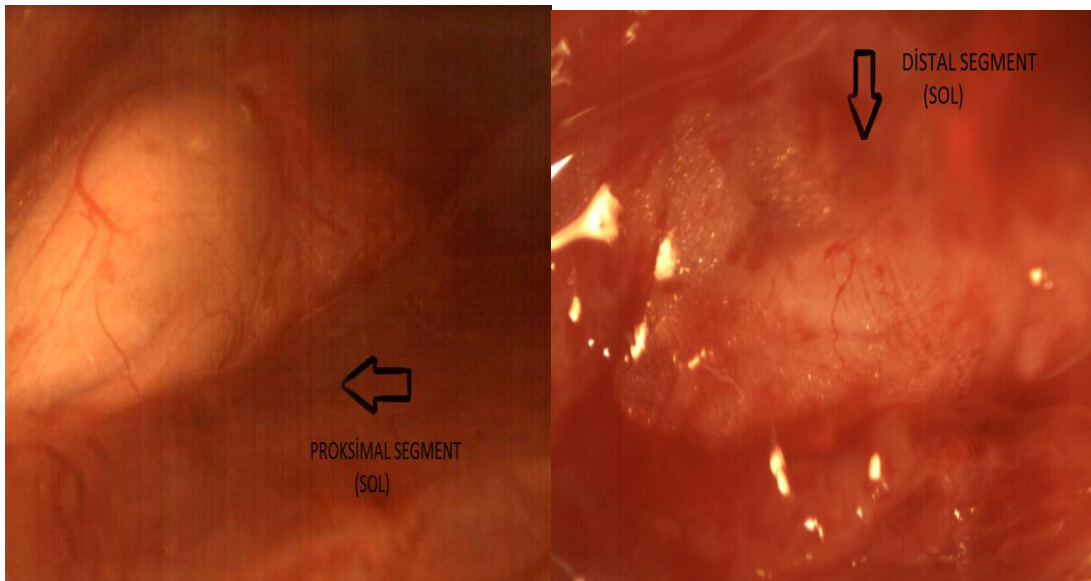
Şekil 33 :ilaç grubu 1. Hafta 64x büyütme sağ kalça proksimal segment görünümü

Birinci hafta görüntülerinde sağ siyatik sinirlerde(kesip bırakılan taraf) kesi bölgelerinde retraksiyon olduğu görüldü,özellikle ilaç grubu proksimal segmentte damarlanma artışı mevcuttu. Sağ siyatik sinirlerde kesi bölgelerinde ise henüz filizlenme (sprouting) oluşmadığı ancak distal ve proksimal segmentler arasında flü-fibroz bir bandın olduğu görüldü.(şekil 28-29-30-31-32-33)

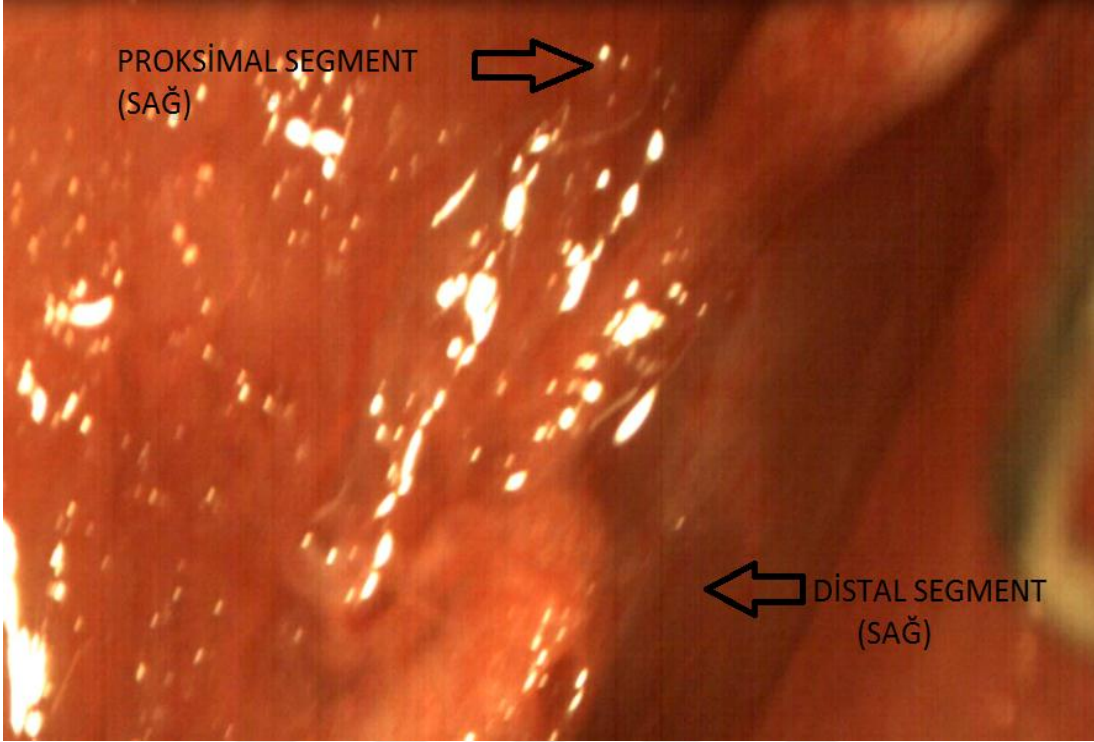
3.HAFTA GÖRÜNTÜLEME



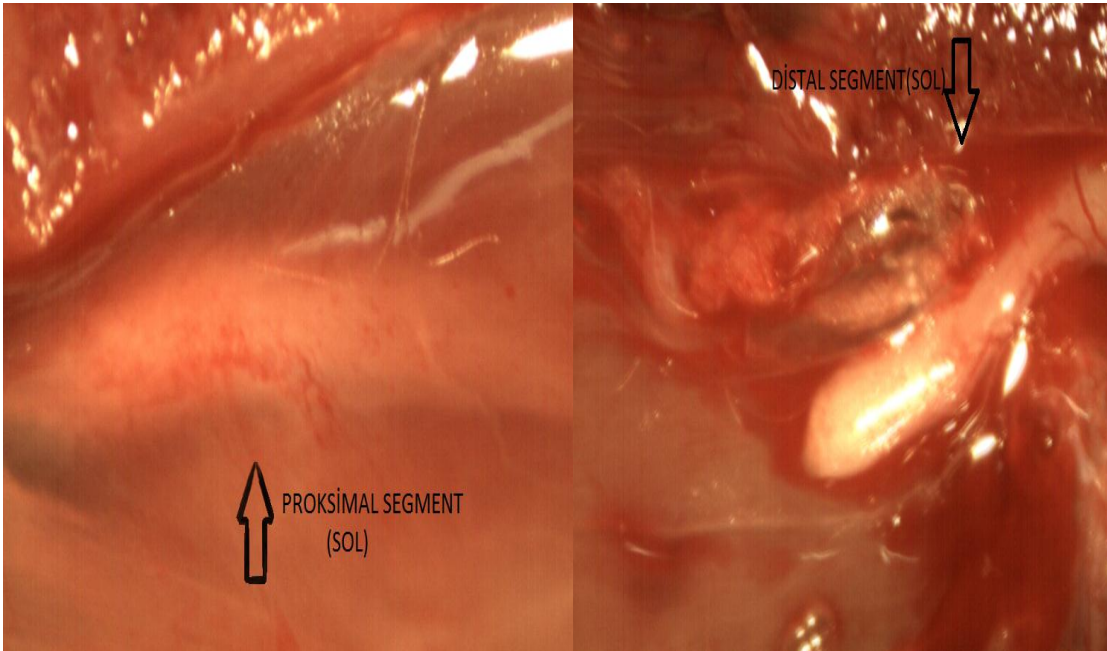
Şekil 34 :ilaç grubu 3. Hafta 32x büyütme sağ kalça proksimal ve distal segment görünümü



Şekil 35 :ilaç grubu 3. Hafta 32x büyütme sol kalça proksimal ve distal segment görünümü



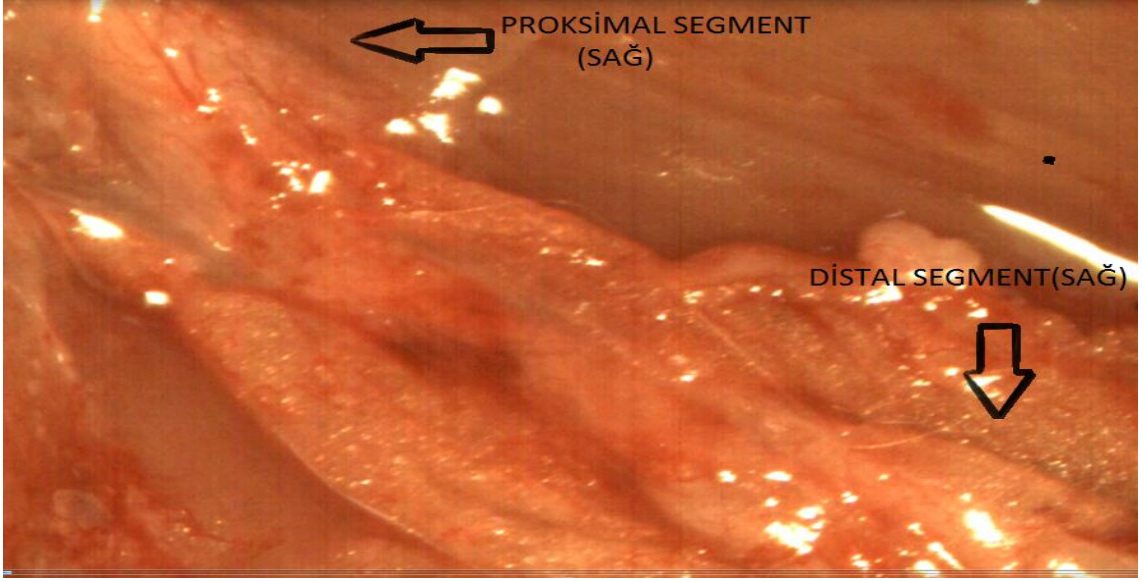
Şekil 36: kontrol grubu 3. Hafta 32x büyütme sağ kalça proksimal ve distal segment görünümü



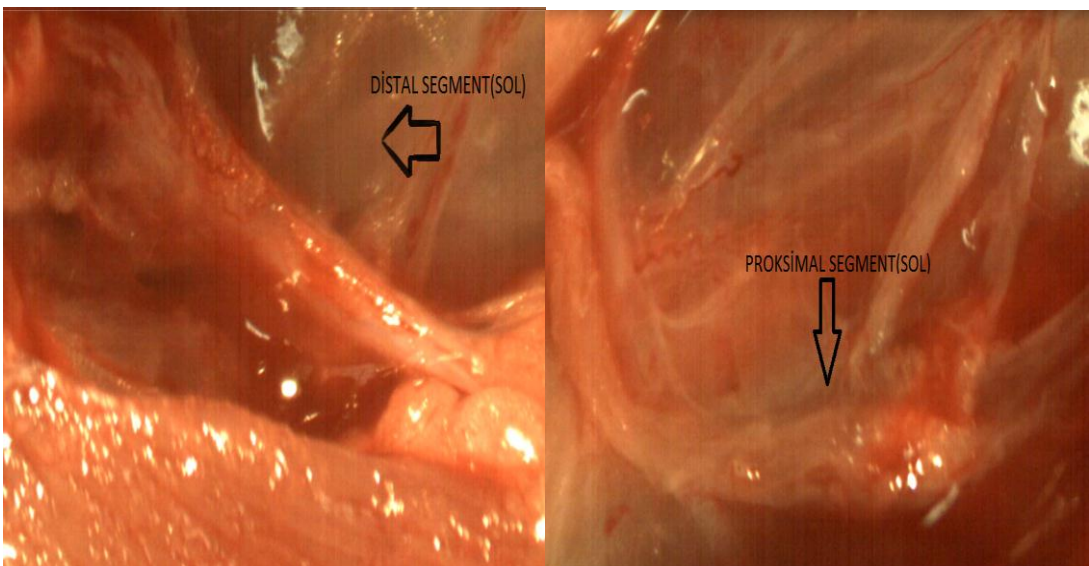
Şekil 37 : kontrol grubu 3. Hafta büyütme sol kalça proksimal ve distal segment görünümü

Üçüncü hafta görüntülemesinde; ilaç grubunda özellikle proksimal segmentte kontrol grubuna göre artmış damarlanmanın devam ettiği görüldü. Her iki (grup-1 ve grup-2) grubunda sağ siyatik sinirlerde filizlenmenin (sprouting) başladığı ve bu filizlenmenin ilaç grubunda daha geniş bir alanda ve daha kalın çapla seyrettiği görüldü. Sol siyatik sinirlerde ise(1 cm boşluk oluşturulan taraf) filizlenmenin henüz anlamlı şekilde başlamadığı görüldü. Ayrıca distal segmentlerde dejenerasyona bağlı çap azalması ve damarlanma azalması mevcuttu.(şekil 34-35-36-37)

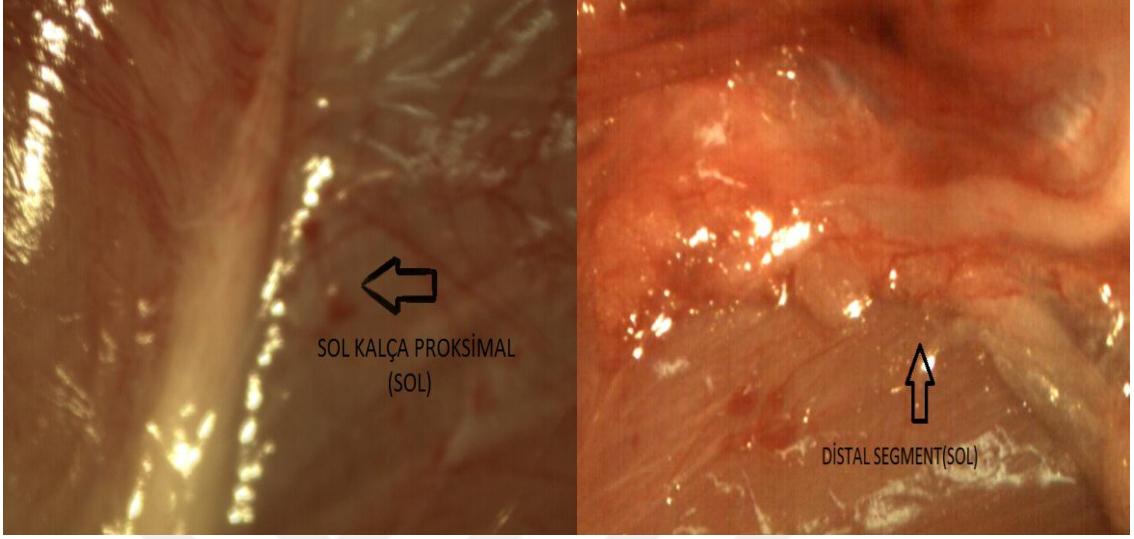
9. HAFTA GÖRÜNTÜLEME



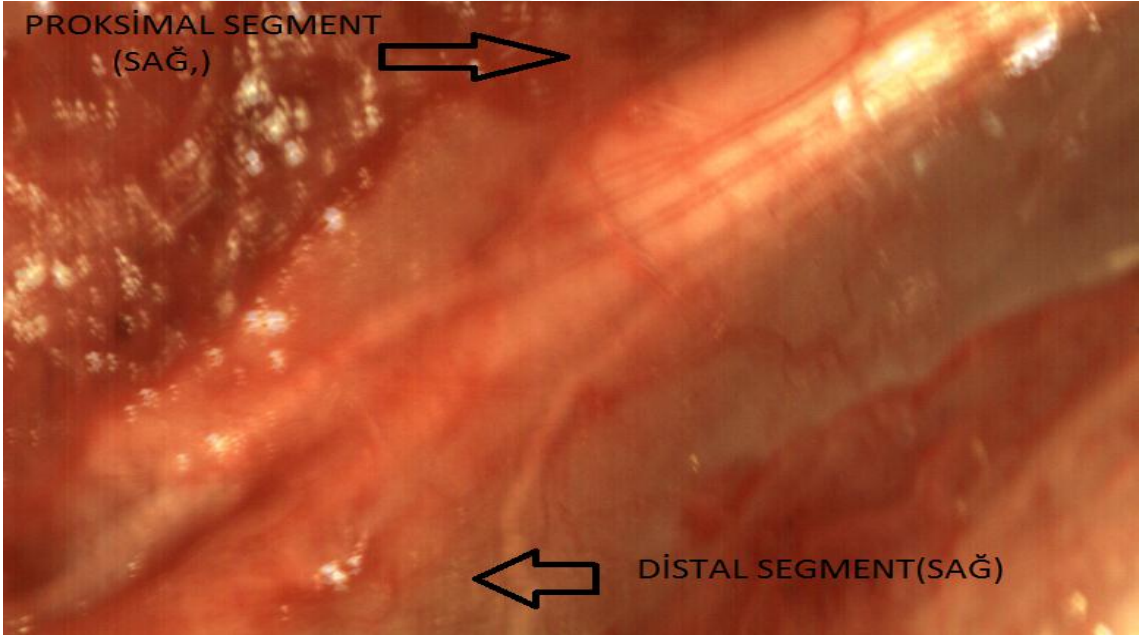
Şekil 38 : ilaç grubu 9. Hafta sağ kalça proksimal ve distal segment görünümü



Şekil 39 : ilaç grubu 9. Hafta sol kalça proksimal ve distal segment görünümü



Şekil 40 :kontrol grubu 9. Hafta büyütme sol kalça proksimal ve distal segment görünümü

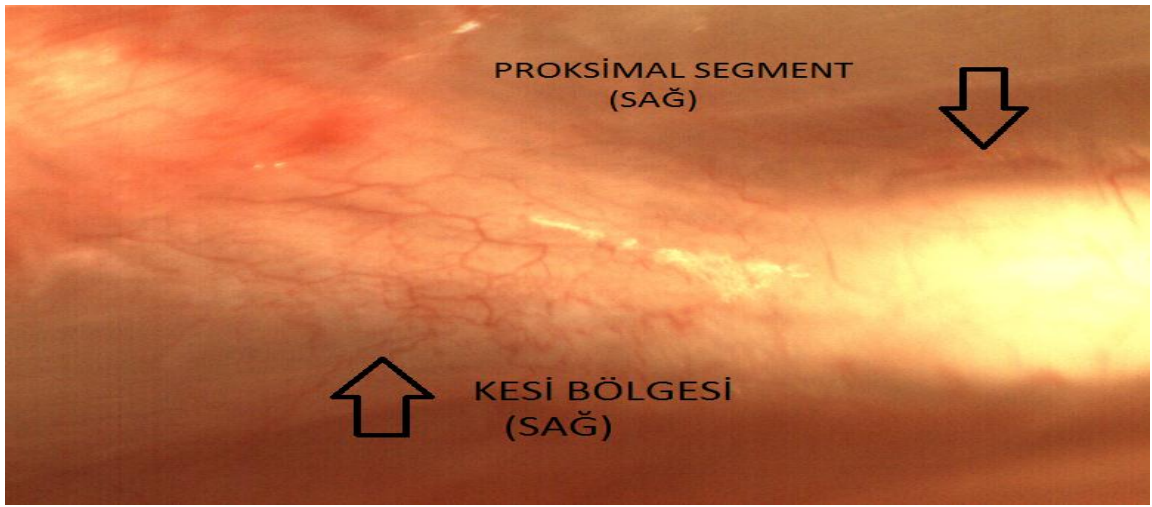


Şekil 41 :kontrol grubu 9. Hafta büyütme sağ kalça proksimal ve distal segment görünümü

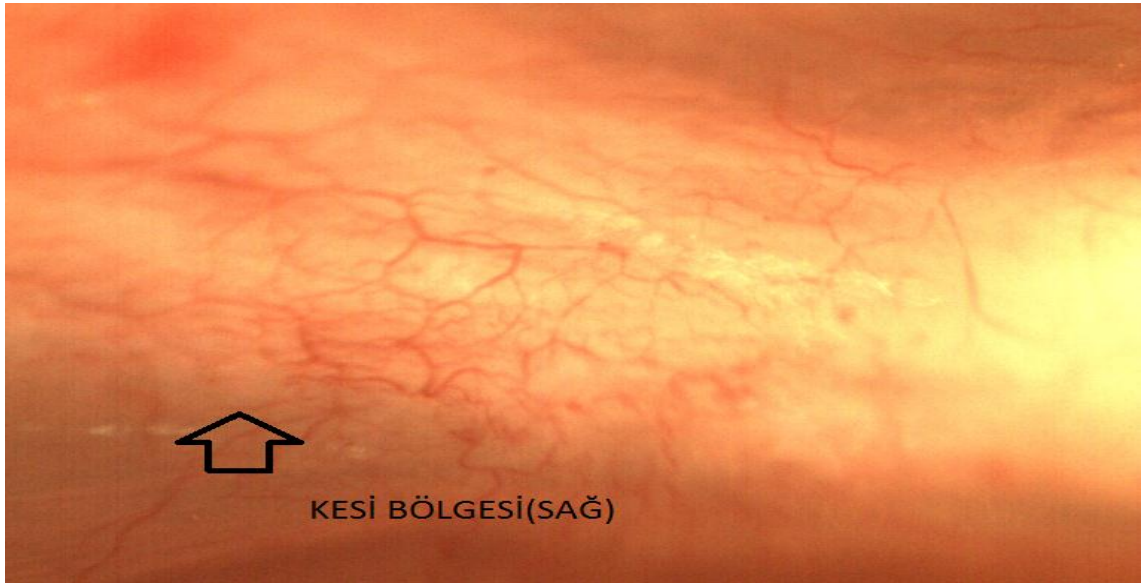
Dokuzuncu hafta görüntülerinde; sağ siyatik sinirlerde ve özellikle ilaç grubunda daha fazla olmak üzere filizlenmenin oldukça arttığı görüldü, yine ilaç grubunda sağ

siyatik sinirlerde oluşan jelatinöz kılıfın (gel-like lining) distal ve proksimal segmentler arası bir bütünlük sağladığı görüldü. Jelatinöz kılıf daha az olmak üzere kontrol grubu sağ siyatik sinirde ve ilaç+kontrol sol siyatik sinirlerde daha az olmak üzere mevcuttu. Sol siyatik sinirlerde ise her iki grupta da filizlenmenin olduğu görüldü ve ilaç gurubunda bu filizlenme segmentler arası bütünlük sağlamasa da daha fazla sayıda idi.(şekil 38-39-40-41)

12. HAFTA GÖRÜNTÜLEME



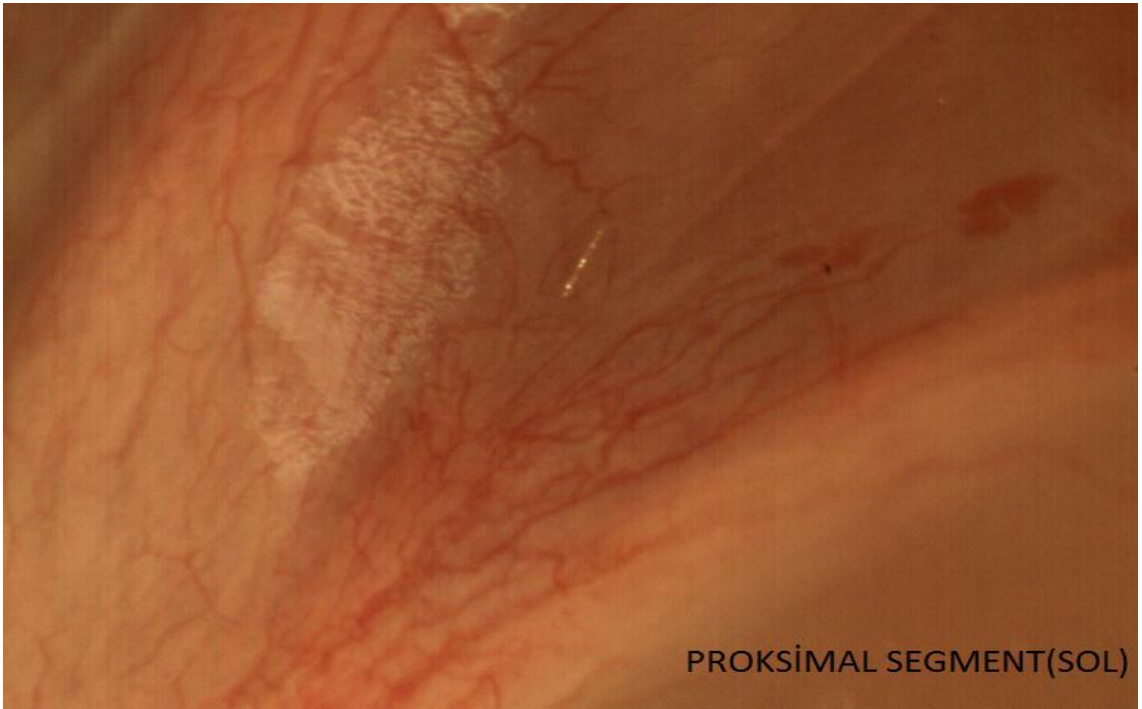
Şekil 42 :ilaç grubu 12. Hafta sağ kalça kesi bölgesi



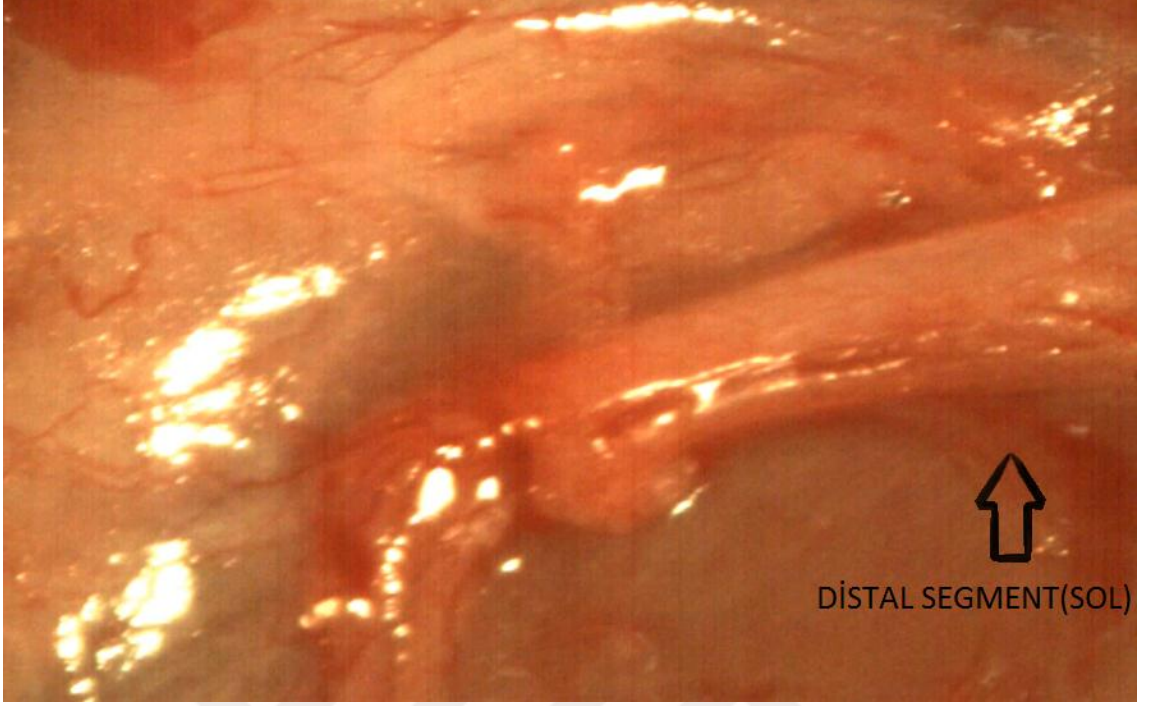
Şekil 43 :ilaç grubu 12. Hafta sağ kalça kesi 75x bölgesi



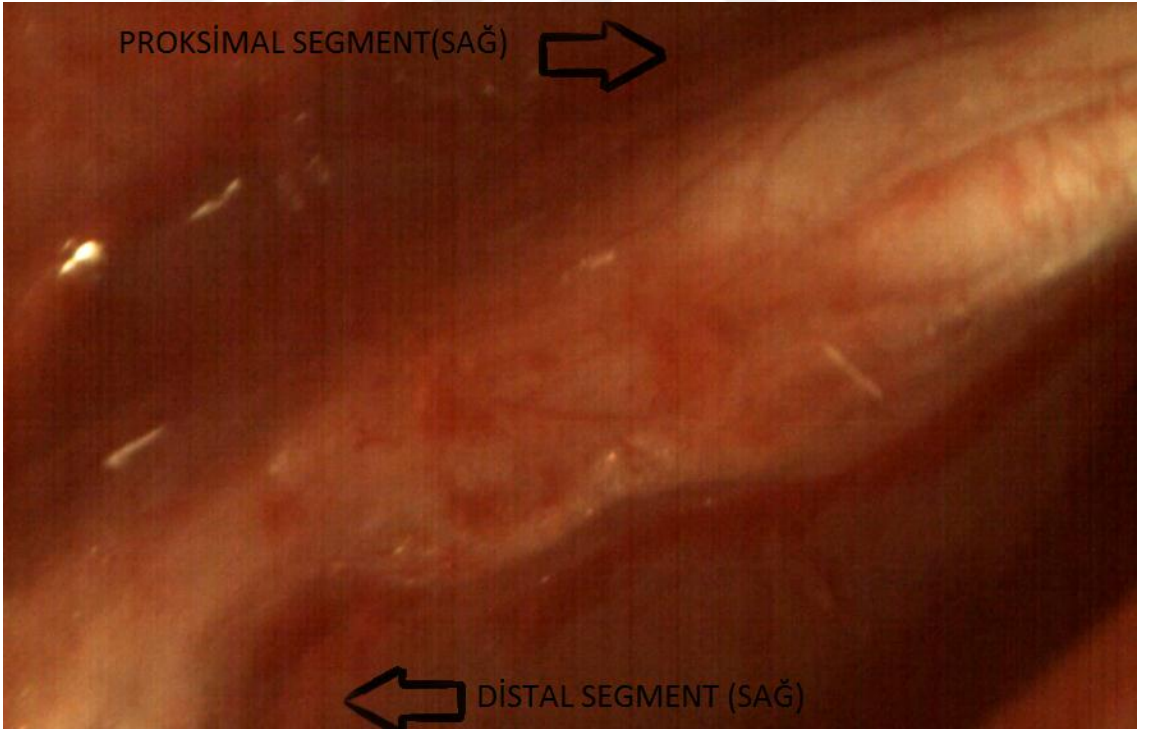
Şekil 44: ilaç grubu 12. Hafta sol kalça proksimal segment



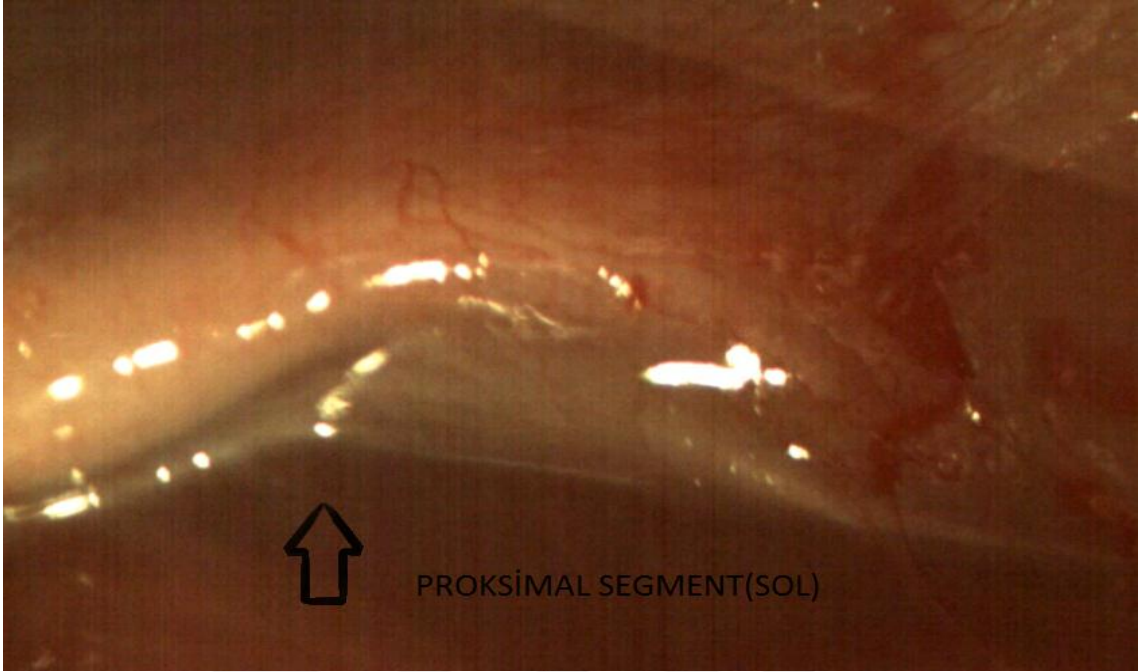
Şekil 45 :ilaç grubu 12. Hafta sol kalça proksimal segment (75X büyütme)



Şekil 46 :ilaç grubu 12. Hafta sol kalça distal segment

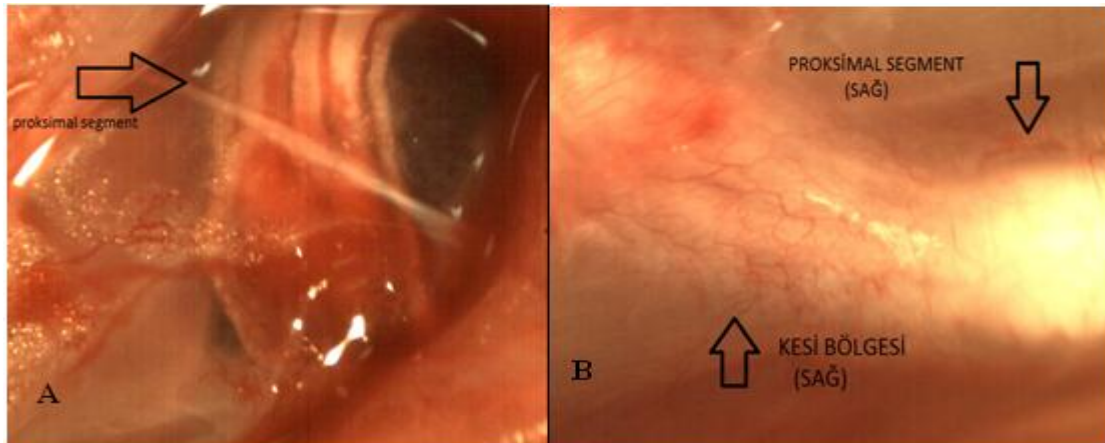


Şekil 47 :kontrol grubu 12. Hafta sağ kalça kesi bölgesi

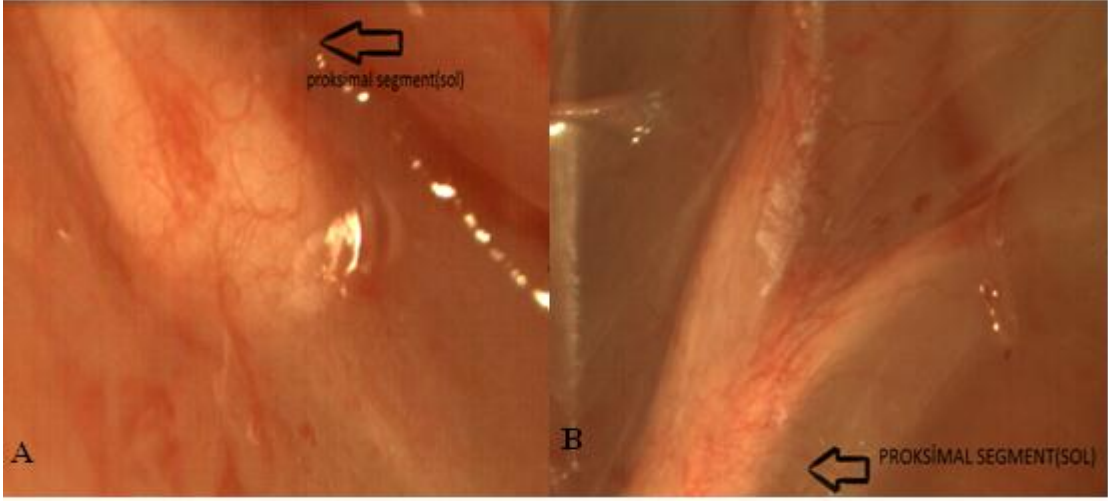


Şekil 48: kontrol grubu 12. Hafta sol kalça kesi bölgesi 32x

Onikinci hafta görüntülemeye ise sağ siyatik sinirlerde 9. Haftada filizlenme ile sağlanan segmenter bütünlüğün damarlanmasının oldukça arttığı görüldü. Sol siyatik sinir proksimal segmentteki filizlenme mevcuttu ancak distal segment ile bütünlük sağlanmamıştı. Distal segmentte özellikle sol siyatik sinirlerde dejenerasyona bağlı çap ve damarlanma azalmasının arttığı izlendi ve ilaç –kontrol grupları arasında subjektif olarak anlamlı fark yoktu.(şekil 42-43-44-45-46-47-48)



Şekil 49: A)1. Hafta GLP-1 gurubu sağ siyatik sinir kesi bölgesi görüntüsü B) 12 . hafta GLP-1 gurubu sağ siyatik sinir kesi bölgesi görüntüsü(45X)

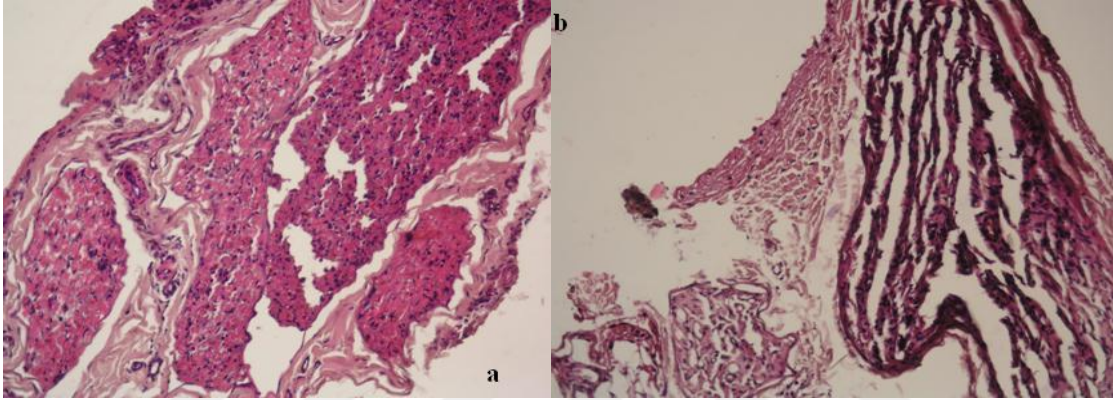


Şekil 50: A)1. Hafta GLP-1 gurubu sol siyatik sinir kesi bölgesi görüntüsü B) 12 . hafta GLP-1 gurubu sol siyatik sinir kesi bölgesi görüntüsü.

İlaç grubu			Kontrol grubu					
	Sağ		Sol		Sağ		Sol	
	proksimal	distal	proksimal ⇌	distal	Proksimal⇌	distal	proksimal ⇌	distal
1.hf t								
3.hf t								
9.hf t								
12. hft								

HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME

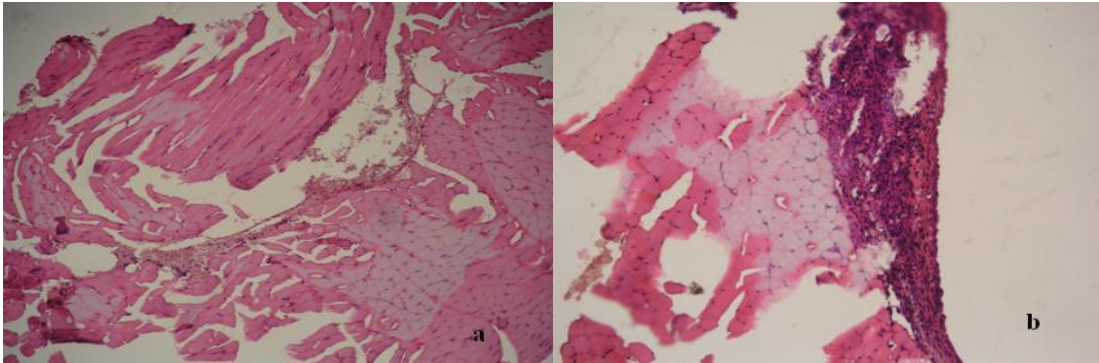
Elektrofizyolojik kayıtlar tamamlandıktan sonra,1-3-6-9. Haftalarda grup-1 ve grup-2 den 1'er rat ve 12. Haftada tüm ratlar genel anestezi altında histomorfometrik analizler için, siyatik sinirleri eksize edildi, daha sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edildiler ve siyatik sinirleri hemotoksilen –eozin boyama yapılarak mikroskop altında değerlendirildi.



Şekil 51:(1.hafta) Sağ taraf (x 20 büyütme) . a:kontrol gurubu, b: GLP-1 gurubu.

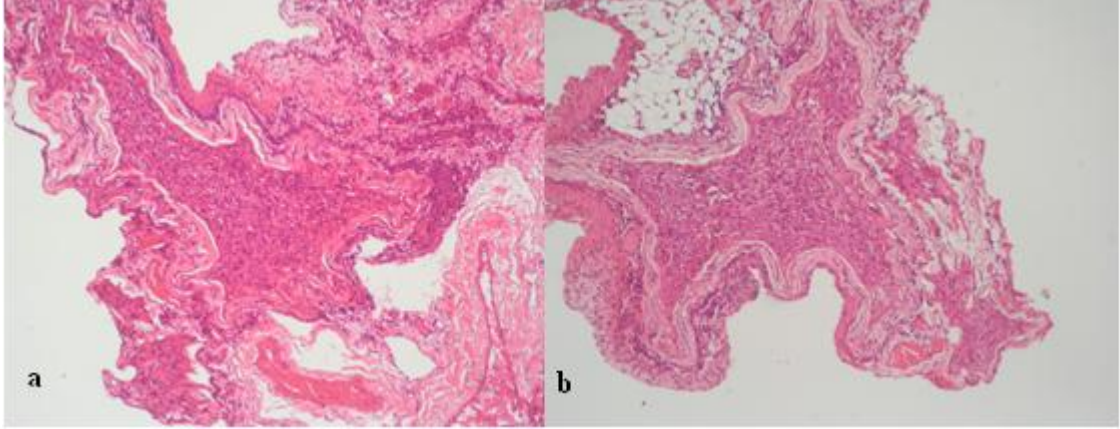
Kontrol grubunda belirgin epinöral fibrozis mevcut. Her iki grupta wallerian dejenerasyon izlenmekte. Kontrol grubunda daha belirgin olmak üzere her iki grupta lenfomonositer infiltrasyon ve vaskülarizasyonla giden sinir hasarına sekonder epinöral granülasyon mevcut.

Kontrol Akson sayısı 330 ± 23.3 . GLP akson sayısı 280 ± 17.2



Şekil 52: (1.hafta) Sol taraf (x 20 büyütme) . a: kontrol grubuna, b: GLP-1 grubu.

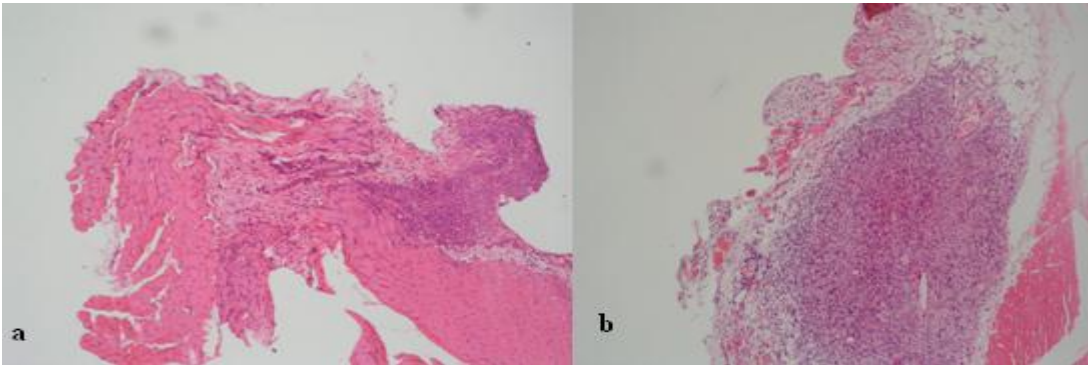
Kontrol grubunda bırakılan defekt ve bağımlı çok az sinir dokusu mevcut. Akson sayısı 20 ± 10.5 . GLP-1 grubunda ise kasa komşu bölgede wallerian dejenerasyona uğramış aksonlar görülmekte. Dejenerasyon bölgesinde yoğun inflamasyon mevcut. Akson sayısı 130 ± 21.3



Şekil 53: 3. Hafta, X-10 büyütme hematoksileneozilin boyama ile sağ siyatik sinirlere yapılan histolojik değerlendirme

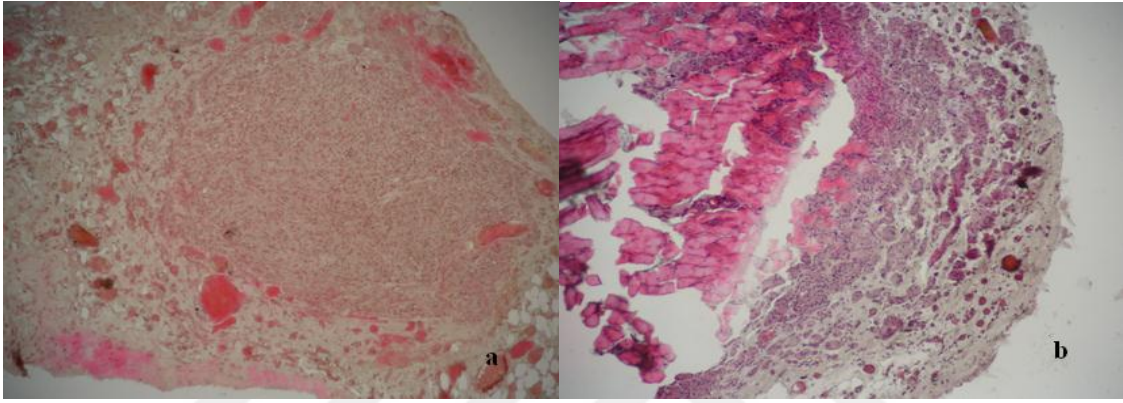
a : Kontrol grubu b: GLP-1 grubu

3. hafta sonunda stereo-mikroskop değerlendirme sonrası eksize edilen sağ siyatik sinirlerin incelenmesi sonrasında kontrol grubunda daha belirgin olmak üzere her iki grupta Wallerian dejenerasyona ait aksonal azalma mevcuttu. Kontrol grubundaki akson sayısı ortalama $327,5 \pm 53,36$; GLP-1 grubunda ise $498,4 \pm 28,7$ bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır. (şekil 54)



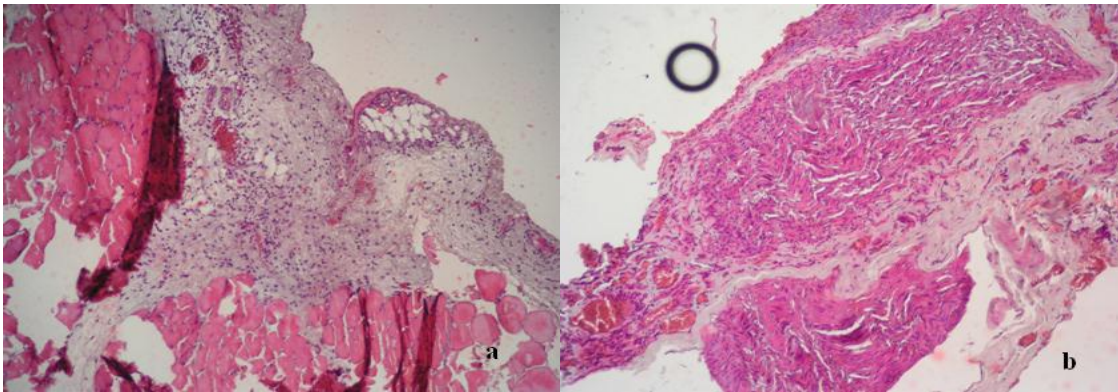
Şekil 54: 3. Hafta, X-10 büyütme hematoksileneozilin boyama ile sol siyatik sinirlere yapılan histolojik değerlendirme.a : Kontrol grubu b: GLP-1 grubu

3. hafta sonunda stereo-mikroskop değerlendirme sonrası eksize edilen sol siyatik sinirlerin incelenmesi sonrasında kontrol grubunda Wallerian dejenerasyona ait belirgin aksonal azalma mevcuttu. Kontrol grubundaki akson sayısı ortalama $202,5 \pm 18,33$; GLP-1 grubunda ise $646,6 \pm 26,19$ bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.(şekil 55)



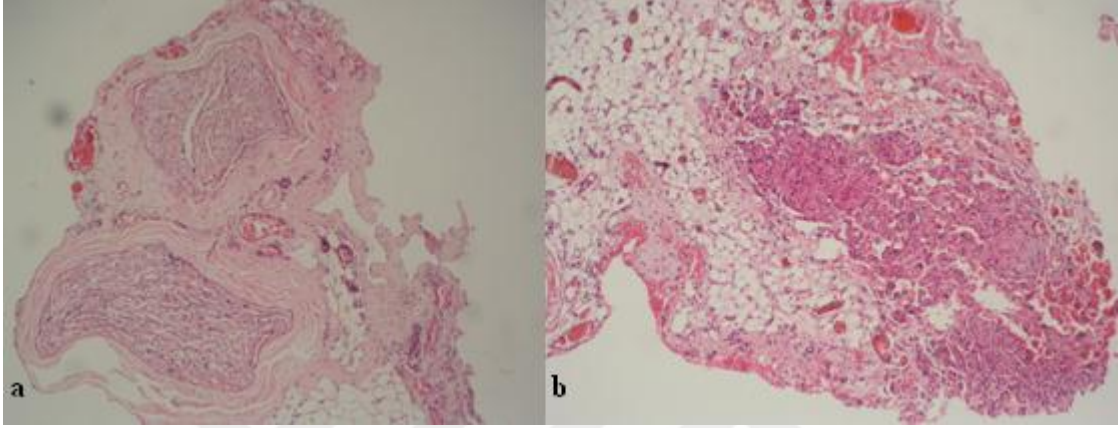
Şekil 55: 9. hafta Sağ taraf (x 20 büyütme) . a: kontrol grubuna, b: GLP grubu.

Kontrol grubunda perinöral dokuda yoğun vaskülarizasyon ve fibrozis mevcut. Akson sayısı $380 \pm 31,6$. GLP-1 grubunda fibrozis az ve wallerian rejenerasyona bağlı olabilecek kas lifleri arasına düzensiz dağılmış akson dallanmaları var. Vaskülarizasyon ve fibrozis daha az. Akson sayısı 410 ± 21



Şekil 56: 9. hafta Sol taraf (x 20 büyütme) . a: kontrol grubuna, b: GLP grubu.

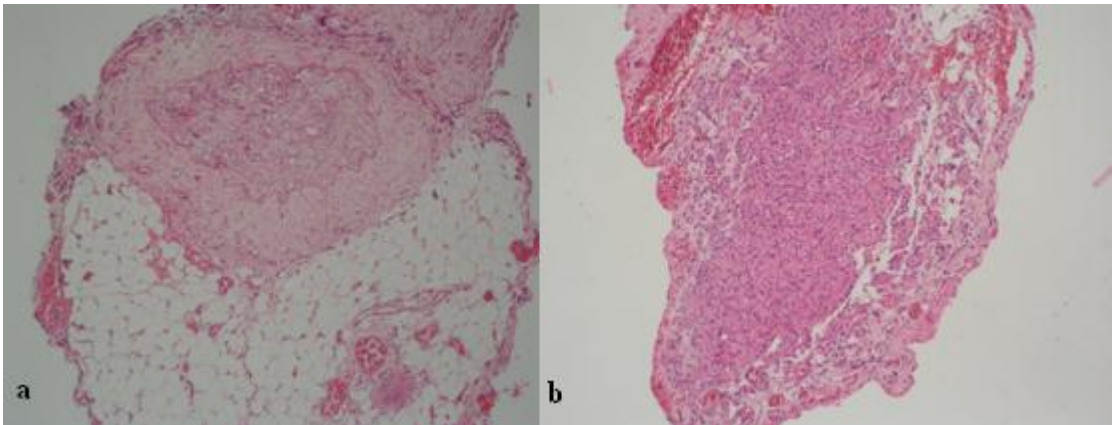
Her iki grupta epinöral fibrozis mevcut. Kontrol grubunda inflamasyon mevcut, sinir liflerinde yoğun düzensizlik ve atrofi izlenmekte. Akson sayısı 320 ± 22 . GLP-1 grubunda sinir lifleri daha düzenli yapıda ve inflamasyon azalmış. Akson sayısı 480 ± 33.6 .



Şekil 57: 12. Hafta, X-10 büyütme hematoksileneozilin boyama ile sağ siyatik sinirlere yapılan histolojik değerlendirme.

a : Kontrol grubu b: GLP-1 grubu

12. hafta sonunda stereo-mikroskop değerlendirme sonrası eksize edilen sağ siyatik sinirlerin incelenmesi sonrasında kontrol grubundaki akson sayısı ortalama $318,6 \pm 14,06$; GLP-1 grubunda ise $477,2 \pm 27,6$ bulunmuştur. ($P < 0.0005$). GLP-1 grubunda istatistiksel olarak anlamlı akson artışı mevcuttu. Ayrıca GLP grubunda kontrol grubuna göre epinöral fibroziste azalma izlenmiştir.(şekil 53)



Şekil 58: 12. Hafta, X-10 büyütme hematoksileneozilin boyama ile sol siyatik sinirlere yapılan histolojik değerlendirme.

a : Kontrol grubu b: GLP-1 grubu

12. hafta sonunda stereo-mikroskop değerlendirme sonrası eksize edilen sol siyatik sinirlerin incelenmesi sonrasında kontrol grubundaki akson sayısı ortalama $249,6 \pm 21,4$; GLP-1 grubunda $588,4 \pm 24,05$ ise bulunmuştur. ($P < 0.0001$). GLP-1 grubunda istatistiksel anlamlı akson artışı mevcuttu. Ayrıca GLP-1 grubunda kontrol grubuna göre epinöral fibroziste azalma izlenmiştir.(şekil 54)

Tüm histolojik istatistiksel veriler tablo 7 de gösterilmiştir

	3. hafta Akson Sayısı		12. hafta Akson Sayısı	
	Sağ (kesi)	Sol(defekt)	Sağ (kesi)	Sol (defekt)
GLP-1 gurubu	$498,4 \pm 28,7$	$646,6 \pm 26,19$	$477,2 \pm 27,6$	$588,4 \pm 24,05$
Kontrol gurubu	$327,5 \pm 53,36$	$202,5 \pm 18,33$	$318,6 \pm 14,06$	$249,6 \pm 21,4$
			<i>(P<0.0005)</i>	<i>(P<0.0001)</i>

Tablo 7: 3. Ve 12. Hafta hematoksileneozilin boyama ile yapılan histolojik değerlendirme sonuçlarını gösteren tablo.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Periferik sinir sistemi sinir hücrelerinin, destek bağ dokunun, hücresel elemanların ve uç organların birlikte hareket ettiği karmaşık bir yapıdır. Periferik sinir sistemi çevreden gelen uyarıları merkezi sinir sistemine, merkezden gelen uyarı ve yanıtları da son organa iletmekle görevlidir(1-25). Periferik sinirler mekanik (kompresyon, germe, ezilme) veya termal; iskemik ve kimyasal gibi pek çok değişik travma şekli ile yaralanabilirler (33). Bu yaralanmalardan sonra tedavide ki asıl amaç ,sinirsel bütünlüğü tekrar sağlayarak sinir iletiminin ve fonksiyonlarının geri kazanılmasıdır.

Bu deneysel çalışmada amaç oluşturulan siyatik sinir hasar modellerinde exenatid(GLP-1 analogu) 'in nörotrofik etkisinin araştırılması, morfolojik ve stereolojik değişikliklerin saptanmasıdır.

Periferik sinir rejenerasyonunu değerlendirmede, sıçan (rat) sıklıkla kullanılan bir hayvandır. Kolay elde edilmesi, ucuz olması ve daha önemlisi sinir trunkuslarının insan anatomisi ile olan benzerliği bu hayvanların sık kullanılmasının nedenleri arasındadır(25-58). Özellikle sıçan siyatik siniri uzun yapısı ,uyuk posteriorundan kolay diseksiyonuna izin vermesi, siyatik sinirin deneysel çalışmalarda kullanılmasındaki önemli özelliklerdir (59). Tüm bu nedenlerle bu çalışmada da kontrol ve ilaç grubu olarak sıçan seçilmiştir.

Kesilme tarzı yaralanma sonucu sinirde nörotmezis tipinde yaralanma meydana gelir. Nörotmezis, periferik sinir yaralanmasının en şiddetli formudur. Sinirin ve destek dokularının direkt travma, traksiyon ya da laserasyon sonucu tamamen kesilmesidir. Endonörium, perinörium ve epinörium hasarlanmıştır (15). Bu çalışmada nörotmezis şeklinde hasar modeli oluşturmak için tüm sıçanlara aynı teknik ile sağ siyatik sinirleri kesilip bırakıldı, sol siyatik sinirlerinde 1 cm lik defekt (gap) oluşturuldu. Tüm deneklerde oluşturulan nörotmezis (siyatik sinir) sonrası tam

fonksiyonel ve duyu kaybı gözlemlendi ve bu durum EMG ile kayıt altına alınarak tüm deneklerin standardizasyonu ve uyumu sağlandı.

Literatüre baktığımızda ; sinir iyileşmesini desteklemek için çok çeşitli ilaç , hormon ,biyolojik ürün, elektrik stimülasyonu(60),fibrin yapıştırıcı, kültüre edilmiş Schwann hücresi(61) ,asetil salisilik asit(62) gibi bir çok madde kullanılmıştır. Bu çalışmaların ortak noktası , farklı biyolojik maddeler ile travmaya uğramış akson etrafındaki mikroçerçevenin ve buna bağlı olarak sinir rejenerasyonunun hücresel düzeyde değiştirilmesidir.Hiç biri henüz rutin kullanıma girmemiş olsada sinir iyileşmesinde değişik derecelerde ve aşamalarda olumlu etkileri olduğu gözlemlenmiştir.

Sinir rejenerasyonuna yönelik çalışmalarda sinir dokusu yaşayabilirliği ve rejenerasyon kapasitesi üzerine etkileri olan pek çok peptit tanımlanmıştır. Nörotrofik faktör olarak adlandırılan bu faktörlerin sinir rejenerasyonunun farklı evrelerini olumlu yönde etkiledikleri bilinmektedir. GLP-1(glucagone like peptid-1) insan bağırsağının endokrin L-hücrelerinden yemek sonrası salgılanan insülinotropik bir hormondur(44). İnsan ve sıçan beyinde radyoimmünassay ve immunohistokimyasal yöntemlerle hipotalamusta supraoptik nükleus,paraventrikuler nükleus, median eminensia nöronal liflerinde hipotalamus, talamus, ve septal bölgelerdeki sinir lifleri ve uzantılarında , medulla oblongatada ,orta beyin ve ponsda ,hipofizde ve siyatik sinirde GLP-1 dizisiyle uygunluk gösteren immunreaktivite saptanmıştır. GLP-1'in sıçan hipokampal nukleusta antiapoptotik özellikleri olduğu gösterilmiştir.(15,17). Bu buluş sonrası ilgi GLP-1 in santral sinir sisteminin, nörodejeneratif hasardan koruma potansiyeli üzerinde durulmuştur.(13).

GLP'in periferik sinir sistemi üzerine olan etkileri konusunda kısıtlı bilgiye sahip olsak da pridoksinle indüklenmiş periferik nöropati modelinde iletim yavaşlamasını engellediğini biliyoruz.(13). Exenatid, diyabet hastalarında kullanılan GLP-1 analogudur ve tam mekanizması açıklanamasa da exenatid uygulanan farelerde kontrol ve diyabet gruplarında GLP-1 reseptör sayısı artmış olarak bulunmuştur.(13). Exenatidin kemirgen nörodejeneratif modelde kültüre edilmiş hipokampal nukleus de nörotrofik etkileri gösterilmiştir(63).

Fehmann HC ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada exenatidin glisemik kontrolden bağımsız olarak diyabetik farelerde büyük motor fibril ve küçük duyu fibril özelliklerini koruduğunu saptamışlar(13). Tüm bu nedenlerle bu çalışmada nörotrofik ajan olarak GLP-1 seçilmiştir ve nörotmezis oluşturulduktan sonra ilaç gurubuna 12 hafta süre ile hergün subkutan exenatid (GLP-1 analoğu) 10 mikrogr/gün uygulandı.

Perry T. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada eksojen GLP-1'in, hipoglisemi yapmadan kan şekerini düşürdüğü ve diyabetik hastalarda da bu etkiyi gösterdiği için diyabet tedavisinde güvenli bir şekilde kullanıldığını belirtmişlerdir (44). Bu çalışmada sıçanların kan şekerleri değerleri ilaç uygulamadan önce ve ilaç uygulandıktan 3 saat sonra değerlendirildi ve ad libitum beslenen sıçanlarda kan şekeri değişim miktarları arasında GLP-1 grubu ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ve hipoglisemi saptanmadı (**tüm günler için $p>0.05$**).

Perry T, Kaimal N ve arkadaşlarının, yaptığı çalışmada GLP-1 analoğunun mide boşalım hızının azaltarak ve intestinal etki ile kullanılan hastalarda ortalama 6.6 kg kilo kaybı sağladığını belirtmiştir(65-66). Bu çalışmada ise GLP-1 ilaç gurubu ve kontrol gruplarının her ikisinde de literatürden farklı şekilde ağırlık artışı saptandı, ve gruplar arasında ağırlık artışı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. (**tüm ölçümler için $p>0.05$**).

Periferik sinir rejenerasyonunu inceleyen deneysel araştırmalarda hem morfolojik hem de fonksiyonel incelemelerin yapılması önerilmektedir(64). Deneysel modellerde sinir hasar sonrası iyileşmeyi gösterecek en iyi test henüz tanımlanamamıştır, ve yürüme analizi, EMG, tırmanma aparatı, histolojik değerlendirme, ayak geri çekme refleksi gibi birçok sinir değerlendirme parametresi bulunmaktadır(69).

Elektrofizyolojik testler periferik sinir rejenerasyonunu değerlendirmede sıkça kullanılırlar. Sinir liflerinin kas liflerini uyarmaları ile oluşan aksiyon potansiyellerinin , bir amplifikatör aracılığı ile büyütülerek incelenmesi esasına dayanır.(67) Bu çalışmada kontrol ve ilaç gurubundaki tüm sıçanlara EMG, öncelikle gruplar oluşturulurken sağlam siyatik sinir fonksiyonunu göstermek için uygulanmıştır ve cerrahi işlem öncesi tüm sıçanlarda sağlam, fonksiyonel siyatik sinir varlığı tespit edilmiştir. İkinci EMG ,

cerrahi olarak nörotmezis modeli oluşturulduktan sonra siyatik sinirdeki tam fonksiyonel kaybın saptanması ve nörotmezisin ispatı olarak yapıldı ve kontrol ve ilaç gurubu tüm ratlarda EMG de yanıt yok idi. Daha sonraki EMG'ler 1.-3.-6.-9. ve 12. Haftalarda yapıldı. 1.-3.-6.-9. haftalarda yapılan EMG ölçümlerinde (proksimal kutup olarak siyatik çentik, distal kutup olarak 2. İnterdijital aralıktan yapılan ölçüm) ilaç ve kontrol gruplarında yanıt olmaması üzerine 9. Haftada distal kutup olarak gastrosoleus kas gurubundan da kayıt alındı ve ilaç grubunda kontrol grubuna göre sağ alt ekstremite için latanslar arasında yanıt mevcuttu ancak gruplar arasında istatikselsel olarak anlamlı fark yok iken ($p=0.14$) amplitudlar kontrol grubuna göre ilaç grubunda istatikselsel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p=0.001$). Sol alt ekstremiteleri arasında amplitud ve latanslarında anlamlı fark bulunmamıştır. (*sırası ile* $p=0.12$, $p=0.35$). 12. Haftada ilaç ve kontrol gruplarının distalden alınan EMG yanıtlarında yanıt yok iken, gastrosoleus dan alınan proksimal yanıtlarda sağ ve sol alt ekstremiteler için hem amplitudlar hem de latanslar ilaç grubunda kontrol grubuna göre istatikselsel olarak yüksek bulunmuştur. (*sırası ile sağ* $p=0.01$, $p=0.002$, *sol* $p=0.0007$ $p=0.02$).

Wolters ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada göstermişlerdir ki; aksonal rejenerasyon arttıkça ve remyelinizasyon ilerledikçe , liflerde oluşan değişim ve cevap arttığı için senkronizasyon ve amplitud artmaktadır.(67). Baykal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise latans değerlerinin uyarı ile kasılma potansiyellerinin başlaması arasında geçen süre olduğu , myelinizasyon için önemli bir gösterge olduğu belirtilmiştir(68). Bu çalışmada, 9. Haftadan itibaren ve özellikle de 12. Haftada yapılan EMG ölçümleri göstermiştir ki; ***GLP-1 sinir rejenerasyonunda myelinizasyonu ve total aksonal senkronizasyonu artırmaktadır ve sinir rejenerasyonunun daha hızlı olmasını sağlamaktadır.*** ($p<0.05$)

Sıçanların motor güçlerinin değerlendirilmesi için cerrahi öncesi 0.hafta, cerrahi işlem sonrası 1.-3.-6.-9. ve 12. Haftalarda Rivlin ve Tator tarafından tanımlanan 'eğimli alan metodu' için eğimli tahta yardımı ile tırmanma dereceleri izlenerek not edildi(69,71). 0. Hafta yapılan ölçümlerde sıçanların ortalama 70 derece açısalsel platformda düşmeden durdukları saptandı. 3.-6. Ve 9. Haftalarda yapılan motor testlerde ilaç ve kontrol grupları arasında istatikselsel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. (*sırası ile p değerleri;* $p=0.132$, $p=0.094$, $p=0.798$) . 1. Hafta ilaç gurubu motor test $60\pm 3,87$ °(median:60 °) , kontrol gurubu motor test $53,33\pm 2,46$ (median :55°) idi. 12.

Hafta ilaç gurubu motor test $65 \pm 2,89^\circ$ (median: 65°), kontrol gurubu motor test $54,29 \pm 1,89^\circ$ (median : 55°) idi. 1. Ve 12. Haftalarda yapılan motor testlerde ise ilaç gurubu sıçanlarda motor fonksiyon anlamlı şekilde daha iyi gerçekleşti. ($p=0.001$). Özellikle 12. Haftada ortalama 65° lik eğimli alan tutunma açısı sıçanlardaki siyatik fonksiyonların büyük ölçüde geri dönüş gösterdiğinin önemli bir bulgusudur.

Literatüre baktığımızda ototomi (otokanibalizasyon) insidansı sinir hasar tipi ile yakın ilişkili olduğu ve tam sinir kesilerinde daha fazla görüldüğü bildirilmiştir, ototomi nedeni olarak da distalde oluşan hiperaljezi ve nöropatik ağrı gösterilmiştir(72), Martins ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada %42 gibi yüksek oranda ototomi görülmüştür, bu çalışmada ise literatürden farklı olarak ilaç gurubunda hiç ototomi görülmemiştir, kontrol gurubunda ise %25 oranında ototomi görülmüştür. GLP-1 'in periferik sinirlerde nöroprotektif etkisi ile hiperaljeziyi ve ototomiye engellediğini düşünmekteyiz.

Sinir fonksiyonlarını her ne kadar fonksiyonel ve elektromyolojik olarak inceleyip değerlendirebilsek , literatürde sinir iyileşmesinin evrelerinin incelendiği ve monitörize edildiği bir yöntem rastlanmamıştır, bu çalışmada Soif marka stereomikroskop (45x büyütme) ve Md30 marka video kayıt cihazı (3.2x büyütme) kullandık, 1.-3.-9. Ve 12. Haftalarda her gruptan birer sıçanın EMG kaydı ve motor testi tamamlandıktan sonra stereomikroskop ile sinir rejenerasyonu izlendi ve kayıt altına alındı, bu kayıtlarda subjektif olarak görüldü ki; 1. Hafta da sağ siyatik sinirlerde (kesip bırakılan taraf) kesi bölgelerinde retraksiyon oluştuğu , özellikle ilaç grubu proksimal segmentte kontrol gurubuna göre yoğun damarlanma artışının olduğu ve distal ve proksimal segmentler arasında flu-fibroz bir bandın oluştuğu görüldü. 3. hafta görüntülerinde ise kesi bölgesinden dallanmanın başladığı ancak bu dallanmanın ilaç gurubunda çok daha geniş bir yüzeyde olduğu görüldü, 9. Hafta değerlendirmesinde ilaç gurubunda kesi bölgesinde distal ve proksimal kutuplar arasında jelatinöz bir bütünlüğün sağlandığı görüldü, ancak bu bütünlük kontrol gurubunda sağlanmamıştı. 12. haftada ise bu jelatinöz kılıfın başta damarlanmasındaki aşırı artış olmak üzere kılıf içindeki aksonlar net bir şekilde izlenmekte idi. Sol siyatik

sinirlerdeki defektli (1 cm) nörotmezis modeli incelendiğinde ise distal kutupta sinirde oluşan dejenerasyonun daha hızlı olduğu, 9. Haftada oluşan ve kılıfsal bir bütünlük sağlayan jelatinöz kılıfın ise henüz oluşmadığı görüldü.12. haftada ise tomurcuklanmanın sağ siyatik sinirlere göre daha düzensiz ve geniş bir alanda distale ilerlediği görüldü,distal kutuplar ise ileri derecede dejenerasyona uğramıştı. Siyatik sinirin kesilip bırakılarak rejenerasyonun izlendiği sağ siyatik sinirlerde GLP-1 uygulanan sıçanlarda subjektif olarak iyileşmenin daha hızlı ve düzenli olduğu,tomurcuklanmanın ve distal proksimal kutuplar arası bütünlüğün daha erken sağlandığı görüldü. Siyatik sinirden 1 cm eksize edilerek oluşturulan sol kalça modelinde ise GLP-1 uygulanan sıçanlarla kontrol gurubu arasında subjektif olarak rejenerasyonun evreleri arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Jifeng ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada siyatik sinir defektli modeli 3 ay takip etmişlerdir, bizde stereolojik olarak anlamlı fark göremediğimiz sol siyatik sinirlerin(1 cm eksize edilen siyatik sinir) daha uzun süre takip edilmesi gerektiğine inanıyoruz(71).

Jifeng ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hematoksilen-eozilin ile yaptıkları histolojik değerlendirmede akson çapı-myelin yoğunluğu ve myelin kalınlığı sinir rejenerasyonunu değerlendirmek için ölçülmüştür(71), bizde 3. Ve 12. Haftada yaptığımız histolojik değerlendirme hem sağ hem de sol siyatik sinirlerde kontrol ve GLP-1 gurubunda wallerian dejenerasyonunun izlendiği ancak ilaç gurubundaki akson sayısının kontrol gurubuna göre oldukça fazla olduğu görüldü ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı($p<0.0000001$). 12. Haftada da sağ ve sol siyatik sinirlerde ilaç gurubunda kontrol gurubuna göre yeni oluşan akson sayısı istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde artmıştı ($p<0.005$).

Sonuç olarak; sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan nörotmezis modelinde GLP-1 'in etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, GLP-1 in sinir rejenerasyonuna olumlu etkileri olduğu özellikle 9. Hafta EMG deki amplitud artışı ve 12. Haftadaki EMG deki amplitud ve latans değerlerindeki istatistiksel olarak anlamlı artış ile gösterilmiştir. Aynı haftalardaki stereomikroskopik bulgularda EMG 'yi destekler şekilde idi ,ayrıca 12. Haftada yapılan histolojik bulgularda yeni akson oluşumunun ilaç gurubunda daha iyi olduğunun 12. Haftadaki eğimli yüzey tırmanma açısında sinirde olan rejenerasyonun

fonksiyonel olarak da kontrol gurubundan daha iyi olduğunu göstermiş histolojik , stereolojik ve EMG bulgularını desteklemiştir.



REFERANSLAR:

1. Shenaq SM, Kim JYS. Repair and grafting of peripheral nevre. In: Mathes SJ, editor. Plastic surgery. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006. Volume 1, p: 719–43
2. Winograd JM, Mackinnon SE. Peripheral nevre injuries: Repair and reconstruction. In: Mathes SJ, editor. Plastic surgery. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006. Volume 7, p: 47–514
3. Brushart TM. Nevre repair and grafting. In: Gren DP Operative Hand Surgery, Churchill Livingstone Inc. Fourth Ed.; Vol 2, 1381-1403, 1998
4. Madison RD, Archibald SJ, L.Robert. Factors Contributing to Preferential Motor Reinnervation in the Primate Peripheral Nervous System. The Journal of Neuroscience, December 15, 1999, *19*(24):11007–11016
5. Lundborg Göran. Nerve regeneration and repair. A review. Acta Orthop Scand. 1987;58(2):145–69.
6. John V. Priestley. Promoting anatomical plasticity and recovery of function after traumatic injury to the central or peripheral nervous system. Brain (2007), 130, 895-897
7. Lundborg G. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: Evolving neuroscientific concepts and clinical significance. J Hand Surg [Am]. 2000;25(3):391–414.
8. Mark G. Burnett M.D. Zager E.L. Pathophysiology of peripheral nerve injury: A brief review. Neurosurg Focus. 2004;15:16(5) E1.

9. S.Karşıdağ, A.Özcan, Ş.Şahin, ve ark Farklı seviyelerde ve onarım tiplerindeki periferik sinir iyileşmesinin elektrofizyolojik ve histopatolojik olarak değerlendirilmesi. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2008;42(4):278-283
10. Muhammad Mirajullah. Shen Xinya. Schwann Cells: Leader Of Nervenkit *Review Article*
11. Lundborg G.Rosén B. Hand function after nerve repair. *Acta physiologica*, 2007, Vol: 189, Issue: 2, pp. 207-17.
12. Terenghi G. Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors. *J Anat.* 1999;194(Pt 1):1-14.
- 13.Fehmann HC,Habener JC,insulintropic glukagan like peptid-1(7-36)(7-37) amid. A new incretin hormon.*Trends Endocrinol Metab.*1992;3:158-163.
- 14.Jolivalt C.G.,Fineman M, Deacon C.F., Carr.R.DCalcutt N.A.GLP-1 signals via ERK in peripheral nevre and prevents nevre dysfunction in diabetic mice.*Diabetes,Obesity and Metabolism* 13:990-1000,2011
15. Avcı G, Akan M, Yıldırım S, Aköz T. Sinir Onarımı ve Greftleme. *T Klin Tıp Bilimleri* 2002;22:428-7
16. Özlem Çınar. Ratlarda oluşturulan siyatik sinir travma modelinde ketorolak trometamin'in etkileri. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı.Uzmanlık tezi:2008
17. Zubair a.L. Robert A. B. Christina.L. Nerve growth factor enhances peripheral nerve regeneration In non-human primates. *Scand j plast reconstr hand surg* 33: 393-401, 1999

18. Mattias K. Sköld L, Mikael S. Karolinska Institutet 200-year anniversary. Symposium on traumatic injuries in the nervous system: injuries to the spinal cord and peripheral nervous system – injuries and repair, pain problems, lesions to brachial plexus. Perspective Article 12 May 2011 doi: 10.3389/fneur.2011.00029
19. Canale TS ed. Campbells's Operative Orthopaedics 10th ed. vol 4 3221-46
20. Andrew D Gaudet, Phillip G Popovich, Matt S Ramer. Wallerian degeneration: Gaining perspective on inflammatory events after peripheral nerve injury. Gaudet et al. Journal of Neuroinflammation 2011, 8:110
21. Toby A. F, Young-Jin S. Extrinsic and intrinsic determinants of nerve regeneration. Journal of Tissue Engineering. 2(1) 2041731411418392
22. Kissin I, Freitas F C, Mulhern L H. Sciatic Nerve Block with Resiniferatoxin: An Electron Microscopic Study of Unmyelinated Fibers in the Rat. Anesth Analg 2007;105:825–31)
23. Bajrovi F F, Sketelj J, Jug M et al, The effect of hyperbaric oxygen treatment On early regeneration of sensory axons after nerve crush in the rat. Journal of the Peripheral Nervous System 7:141–148 (2002)
24. Millesi H, Meissl G, Berger A. The interfascicular nerve grafting of the median and ulnar nerves. J Bone Joint Surg; 54 A, 727, 1972.
25. Terzis JK, Smith KL. Repair and grafting of the peripheral nerve. McCarthy JG, May JW, Litter WJ, editors. Plastic surgery. Philadelphia: WB Saunders; 1990. Volume 1, p: 630–97
26. Garbay B, Heape AM, Sargueil F, Cassagne C. Myelin synthesis in the peripheral

nervous system. *Prog Neurobiol.* 2000;61(3):267–304.

27. Lundborg G. Structure and function of the intraneural microvessels as related to trauma, edema formation and nerve function. *J Bone Joint Surg*; 57 A: 938, 1975.

28. Lundborg G. Ryedevik B. Effects of stretching the tibial of the rabbit. A preliminary study of the intraneural circulation and the barrier function of the perineurium. *J Bone Joint Surg*; 55 B: 390, 1973.

29. Mauricio E. Vargasa, Junryo Watanabea, Simar J. Singh et all. Endogenous antibodies promote rapid myelin clearance and effective axon regeneration after nerve injury. *PNAS.* June 29.2010.vol. 107.no. 26.11993–11998

30. Hirakawa H, Okajima S, Nagaoka T, Takamatsu T, Oyamada M. Loss and recovery of the blood-nerve barrier in the rat sciatic nerve after crush injury are associated with expression of intercellular junctional proteins. *Exp Cell Res.* 2003;284(2):196–210

31. Lundborg G. Structure and function of the intraneural microvessels as related to trauma, edema formation, and nerve function. *J Bone Joint Surg Am.* 1975;57(7):938–48.

32. Rempel D, Dahlin L, Lundborg G. Pathophysiology of nerve compression syndromes: Response of peripheral nerves to loading. *J Bone Joint Surg Am.* 1999;81(11):1600–10

33. Seddon HJ, Medawar PB, Smith H. Rate of regeneration of peripheral nerves in man. *J. Physiol* 1943;102:191-15

34. Hart M A, Terenghi G, Wiberg M. Neuronal death after peripheral nerve injury and experimental strategies for neuroprotection. *Neurol Res* 2008; 30: 999–1011

35. Rummler LS, Gupta R. Peripheral nerve repair. *Curr Opin Orthop* 2004;15:215-9

36. Kemp W P S, Walsh S K, Midha R. Growth factor and stem cell enhanced conduits In peripheral nerve regeneration and repair. *Neurol Res* 2008; 30: 1030–1038
37. R. Bruce donolf. Nerve regeneration: basic and applied aspects. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. Jan 1, 1995:16-24
38. Yuki Hara, Yasumasa Nishiura, Naoyuki Ochiai. New Treatment for Peripheral Nerve Defects: Reconstruction of a 2 cm, Monkey Median Nerve Gap by Direct Lengthening of Both Nerve Stumps. DOI 10.1002/jor.21476
39. Brushart TM. Nevre repair and grafting. In. Green DP, Hotchkiss RN, Pederson WC, editors. *Green's operative hand surgery*. 4th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 1999. Volume 2; p: 1381- 403.
40. Baccari GC, Minucci S, De Paulis A and De Santis A. Interactions between nerves and mast cells in amphibians. *Mast Cells And Basophils*. Academic Press 2000:117-30
41. Thacker MA, Clark AK, Marchand F, McMahon SB. Pathophysiology of peripheral neuropathic pain: immune cells and molecules. *Anesth Analg*. 2007;105:838-47
42. Varejão AS, Meek MF, Ferreira AJ, Patrício JA, Cabrita AM Functional evaluation of peripheral nevre regeneration in the rat: walking track anallysis. *J Neurosci Methods* 2001;108:1-9
43. Krystell P, Baltazar R, Gonzalez-maciel A. Effects of glycine on electrical and histological properties of a rat peripheral nerve injury model. *Ulus travma acil cerrahi derg* 2009;15(2):103-108

44. Perry T, Holloway WH, Weerasuriya A, et al. Evidence of GLP-1-mediated neuroprotection in an animal model of pyridoxine-induced peripheral sensory neuropathy. *Exp. Neurol* 2007 february;203(2):293-301.
45. O'Brien R. A., Ostberg A. J., Vrbova G. Protease inhibitors reduce the loss of nerve terminals induced by activity and calcium in developing rat soleus muscles in vitro. *Neuroscience*; 12: 637-646, 1984.
46. Kalliamen L K, Jejurikar S S, Liang L W. A specific force deficit exists in skeletal Muscle after partial denervation. *Muscle & nerve* january 2002;31-38
47. Santafe MM, Garcia N, Lanuza MA, Uchitel OD, Salon I, Tomas J. Decreased calcium influx into the neonatal rat motor nerve terminals can recruit additional neuromuscular junctions during the synapse elimination period. *Neuroscience*; 110(1):147-54, 2002.
48. Balice-Gordon R J, Lichtman J W. In viva observations of pre- and postsynaptic changes during the transition from multiple to single innervation at developing neuromuscular junctions. *The journal of neuroscience*, february 1993, 73(2): 834
49. Groothuis J T, Boot C R L, Houtman S. Does peripheral nerve degeneration affect circulatory responses to head-up tilt in spinal cord-injured individuals?. *Clin auton res* (2005) 15 : 99–106
50. Charles H. Tator, Izumi Koyanagi. Vascular mechanisms in the pathophysiology of human spinal cord Injury. *Neurosurgical Focus*. jan 1997;
51. Guha A, Tator C H, Rochon J. Spinal cord blood flow and systemic Blood pressure after experimental spinal Cord injury in rats. *Stroke* 1989;20:372-377
52. Shuxing wang, lin zhang, grewo lim. A combined effect of dextromethorphan and

Melatonin on neuropathic pain behavior in rats. *Brain res.* 2009 september 8; 1288: 42–49.

53.Soroku Y, kozaburo K,Morimi N. Peripheral nerve structures of experimental diabetes rats and the effect of insulin treatment. *Tohoku j. Exp. Med.*, 1979, 127, 35-44

54.Meier JJ,Ritter PR, Jacob A, et all. Impact of exogenous hyperglucagonemia on postprandial concentrations of gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1 in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Aug;95(8):4061-5

55. Hare KJ, Vilsbøll T, Asmar M et all. The glucagonostatic and insulinotropic effects of glucagon-like peptide 1 contribute equally to its glucose-lowering action. *Diabetes.* 2010 Jul;59(7):1765-70. Epub 2010 Feb 11

56. Snyder EM, Carr RD, Deacon CF . Overnight hypoxic exposure and glucagon-like peptide-1 and leptin levels in humans. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2008 Oct;33(5):929-35

57. Li Y, Duffy KB, Ottinger MA et all. GLP-1 receptor stimulation reduces amyloid-beta peptide accumulation and cytotoxicity in cellular and animal models of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2010;19(4):1205-19.

58. Rigaud M, Gemes G, Barabas ME et all. Species and strain differences in rodent sciatic nerve anatomy: implications for studies of neuropathic pain. *Pain.* 2008 May;136(1-2):188-201. Epub 2008 Mar 7

59. Mehmet Bayramiçli. Sinirde Mikrocerrahi Çalışması.Deneysel Mikrocerrahi.2005 mayıs 1. Baskı:3;339-362

60.Huang J,Lu L, Zhang J, et all. Electrical Stimulation to Conductive Scaffold Promotes Axonal Regeneration and Remyelination in a Rat Model of Large Nerve Defect. *Plos One:* 2012;7(6):e39526.

61. Rodrigues MC, Rodrigues J, Glover LE, et al. Peripheral Nerve Repair with Cultured Schwann Cells: Getting Closer to the Clinics. *Sci. Wo.Jou.* 2012;2012:413091. Epub 2012 Jun 4
62. Subbana PK, Prasanna CG, Gunale BK. Et al. Acetyl salicylic acid augments functional recovery following sciatic nerve crush in mice. *J Brachial Plex P N İn.* 2007;4(2):3
63. Holst JJ, Orskov C, Nielsen OV, et al. Truncated glucagon-like peptide-1, an insulin releasing hormone from distal gut. *FEBS Lett.* 1987;211:169-173
64. Luis AL, Amado S, Geuna S, et al. Long term functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. *J Neurosci Methods.* 2007;163(1):92-104.
65. Perry T, Haughey N, Mattson M. et al. Protection and reversal of excitotoxic neuronal damage by GLP-1 and exendin-4. *The Journ. Of Pharmacol.* 302:881-888, 2002
66. Kaimal N, Schofield J, Zakı A. et al. effects of exenatide in poorly controlled type 2 diabetes. *Q J Med* March 2009, volume 261-p348-365
67. Wolthers M, Moldovan M, Binderup T et al. Comparative electrophysiological functional and histological studies of nerve lesions in rats. *Microsurgery.* 2005;25(6):508-19
68. Baykal S, Boz C, Çakır E. Et al. The effects of pentoxifylline in experimental nerve injury. *Turk J med Sci,* 32:207-210
69. Rivli AS, Tator CH. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in the rat. *J. Neurosurg.* 1977 Oct;47(4):577-81

70. Leal –Cardoso CH, Matos Brito BG, Lopes-Junior JH. Et all. Effects of estragole on the compound action potential of the rat sciatic nerve. *Braz J. Med Biol Res.* 2004 Aug;37(8):1193-8. Epub 2004 Jul 20.

71. Fisher PD, Peduzzi JD. Functional recovery in rats with chronic spinal cord injuries after exposure to an enriched environment. *J S Cord. Med.* 2007;30(2):147-55.

72. Roberto Sergio Martins, Mario Gilberto Siqueira, Ciro Ferreira da Silva . Correlation between parameters of electrophysiological, histomorphometric and sciatic functional index evaluations after rat sciatic nerve repair. *Arq Neuropsiquiatr* 2006;64(3-B):750-756

