

**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL PERİFERİK SİNİR HASARINDA**  
**NİMODİPİNİN ETKİSİ**

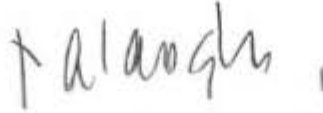
**Dr. Mehmet ALPTEKİN**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Olarak hazırlanmıştır.**

## SINAV JÜRİSİ



**Jüri Başkanı: Prof. Dr. Osman Ekin ÖZCAN**



**Jüri Üyesi: Prof. Dr. Selçuk PALAOĞLU**



**Jüri Üyesi: Prof. Dr. Ömer ARAN**



**Jüri Üyesi: Prof. Dr. Bülent ELİBOL**



**Jüri Üyesi: Doç. Dr. Servet İNCİ**

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın bütün aőamalarında yardımlarını esirgemeyen ve tez danışmanlığımı üstlenen Sayın Prf. Dr. Selçuk Palaoğlu'na , EMG laboratuvarlarının olanaklarını sunan Sayın Doç. Dr. Göluy Nurlu'ya, Elektron mikroskopisi olanaklarını sunan Sayın Doç. Dr. H. Selçuk Sürücü'ye, Dr. M. Bülent Özdemir'e ve teknisyen Baki Ayten'e, istatistik çalışmalarında yardımını esirgemeyen Dr Beyza Akdağ' a, özellikle çalışmanın çeşitli aőamalarında yardımcı olan Sayın Dr. Atilla Akbay'a, Beyin ve Sinir cerrahisi eğitimini almıő olmaktan büyük mutluluk ve onur duyduğum HÜTF Nöroşirürji Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine, çalışma arkadaşlarıma ve beni her konuda destekleyen aileme teşekkür ederim.

## ÖZET

Günümüzde insanlar çeşitli travmalara maruz kalmakta ve bunların bir kısmında da periferik sinir yaralanması oluşmaktadır. Tıbbi ve mikrocerrahi yöntemlerdeki gelişmelere rağmen periferik sinir yaralanmalarında çoğu kez tam iyileşme sağlanamamaktadır.

Travma sonrası fonksiyonel sinir rejenerasyonu için: 1-Aksonal kesi sonrası nöron canlı kalmalı. 2-Proksimal uçtan rejenere olan akson distal sinir güdüğüne gitmeli. 3-Aksonlar kendi uç organ hedefleriyle birleşmelidir.

Travma sonrası intrasellüler kalsiyumun artması proteolitik enzimleri aktive ederek hücre ölümüne sebep olur. Nimodipin santral sinir sistemi hücrelerinde kalsiyumun hücre içine girişini engelleyerek hücre hasarını azaltır. Çalışmanın amacı nimodipinin periferik sinir yaralanmasında hücre yıkımını azaltıcı ve rejenerasyonu artırıcı etkisinin araştırılmasıdır.

Deneyde cinsiyet farkı gözetmeksizin, 250-300gr ağırlığında, erişkin Albino Ratlar kullanıldı. Xylocaine ve ketamin karışımıyla uyutulan ratların siyatik siniri disseke edilerek mikro kateter balonuyla birlikte sert plastik bir tüp içine yerleştirildi. İşlem öncesi bileşik kas aksiyon(BKAP) potansiyeli kaydedildi; sonra sinire amplitüdde %40-%60 arası ve %90 üzerinde düşme oluncaya kadar basınç uygulanarak hafif ve ağır iki ayrı periferik sinir lezyonu oluşturuldu. Her grupta ratların yarısına feeding tüp yardımıyla 15mg/kg gün nimodipin 10 gün süreyle peroral verildi; diğer yarısına standart gıda ve su verildi. Tüm gruplarda basınç uygulandıktan 4 hafta sonra tekrar bileşik kas aksiyon potansiyelleri (BKAP) kaydedilip istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Her gruptan doku örneği alınıp elektron mikroskopik olarak incelendi. Tedavi sonrası ağır travma + nimodipin grubunun bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitüdü ağır travma grubunun amplitüdünden (P: 0.008) belirgin olarak daha yüksek bulundu. Ağır travma + nimodipin grubunun latansı ağır travma grubunun latansından (P: 0.022) belirgin olarak daha kısa kaydedildi. Hafif travma gruplarını karşılaştırılmasında önemli bir fark saptanmadı.

Elektrofizyolojik ve elektron mikroskopik verilere göre hafif travma 4 haftada tedavi verilmeden de tama yakın iyileşmektedir. Ağır travmada ise (amplitüdde %90 üzeri düşme) bu sürede spontan iyileşme mümkün değildir; ancak nimodipin tedavisi verilen ağır travmada iyileşme hem daha hızlı hemde tama yakındır.

Anahtar kelimeler: Nöropati, nimodipin, periferik sinir, travma

## ABSTRACT

Nowadays, people get exposed various traumas and some of them cause peripheral nerve injury. In spite the improvements in varying medical and microsurgical procedures, complete recovery cannot be achieved in peripheral nerve injuries.

For a functional neuronal regeneration, after trauma 1-Neuron should stay alive after axonal cut, 2-Axon regenerating from the proximal end meet the distal nerve end, 3- Axons should meet their target end organs.

Increase in intracellular calcium after trauma causes cell death by means of activating proteolytic enzymes. Nimodipine decreases CNS cell destruction by inhibiting  $Ca^{2+}$  influx into the cell. Aim of this study is to evaluate the effect of nimodipine on decreasing cellular destruction and improving regeneration.

Without sex discrimination, 250-300 gr weighing adult, Albino rats were used. A mixture of xylocaine and ketamine was used for anesthesia. Sciatic nerve was explored and placed into a hard plastic tube together with a micro-catheter balloon. Compound muscle action potentials were recorded before performing pressure on the nerve. Then two lesions of mild and severe were created on two different nerves by applying pressure on the nerves until the amplitude of the first nerve in the first group decreased to a range of 40-60% and the others to a point over 90%. 15 mg/kg day nimodipine was given per orally to the half of the rats in all groups by using a feeding tube for 10 days. The others were fed with standard food and water. 4 weeks after performing pressure, compound muscle action potentials were recorded in all groups and statistical comparison was made. The tissue samples were taken from each group, and electron microscopic studies were performed. After treatment the compound muscle action potential amplitude of the severe trauma + nimodipine group was obviously higher than the severe trauma groups amplitude (P:0.008). The latency of the severe trauma + nimodipine group was recorded significantly shorter than the latency of the severe trauma group (P: 0.022). In the comparison of the mild trauma groups no important difference was found.

Depending on the electrophysiological and electron microscopical data mild lesions recover almost completely in 4 weeks even without any treatment. As for the severe lesion (over 90% decrease in the amplitude) spontaneous recovery is not possible at the same time period. But for the severe lesions treated with nimodipine the recovery is faster and almost complete.

Key words: Neuropathy, Nimodipine, Peripheral Nerve, Trauma

## 1 GİRİŞ ve AMAÇ

Nöropati veya periferik nöropati kuvvet kaybı, duyu bozukluğu ve/veya refleks değişikliklerle seyreden yaygın periferik sinir lezyonudur. Periferik nöropati kalıtsal yada edinsel olabilir. Diabet, alkol, nutrisyonel sebepler, Guillain-barré, travma, herediter sebepler, endokrinolojik bozukluklar, tuzaklanma, üremi, radyasyon, amiloid, AIDS, porfiria, enfeksiyon, sarkoidoz, toksinler başlıca nöropati nedenleridir.

Mononöropati, çoğunlukla travma yada tuzaklanmaya bağlı tek bir sinirin hastalığı için kullanılırken mononöropati multipleks ise iki yada daha fazla sinirin genellikle sistemik bir hastalığa bağlı tutulumu için kullanılır.

Nöropati sebepleri arasında travmanın yeri bilinmektedir. Travma sonucu oluşan periferik sinir yaralanmalarını tanımlayan birçok sınıflama vardır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan Seddon sınıflamasına göre, travmaya sekonder periferik sinir patolojileri üçe ayrılır; Nöropraksi, Aksonetmezis ve Nörotmezis (1).

Bölgesel bası uygulamanın periferik sinirlerde harabiyet yaptığı bilinmektedir. Hafif bası fizyolojik blok oluşturmakta ve bası kalkar kalkmaz sinirin işlevleri geri dönmektedir. İnsanlarda yapılan gözlemler, basınçlı cuff yada klempile oluşan bloğun, bölgesel iskemiye bağlı olduğunu düşündürmektedir (Lewis, Pickering ve Rothschild 1931). Şiddetli bası sinir liflerini parçalayarak Wallerian dejenerasyona sebep olabilir. Bu durumda sinir, hasar gördüğü alanın distalinde uyarılabilirliğini yitirmekte ve iyileşme daha uzun sürmektedir (Seddon, 1943; Denny-Brown Brenner, 1944a). Bu iki sinir hasarından farklı olarak, orta dereceli basıya bağlı hasarlar da vardır. Bu lezyonlarda hasar bölgesinin distalinde, sinirin uyarılma özelliği korunur ve bölgesel iletim bloğu oluşur. Bu tipteki hasarın iyileşmesi, birkaç hafta sürebilir (Erb, 1876; Déjérine ve Bernheim, 1899; Seddon, 1943) (12).

Nimodipine, 1,4-dihidropiridin grubundan bir kalsiyum kanal blokeri olup voltaja bağımlı L tipi kalsiyum kanallarını, büyük  $\alpha_1$  altbirimine bağlanarak bloke

eder ve hücre içine kalsiyum girişini azaltır (3,94). Kalsiyumun, rat beyinde glutamat bağladığı ve sinaptik membran proteinlerinin yıkımını başlattığı; bir thiol proteaz inhibitörü olan leupeptinin bunu engellediği gösterilmiştir. Hücre içi kalsiyumun artmasının proteolitik enzimleri aktive ederek, nörofilament ve mikrotübülleri de kapsayan hücre yapı taşlarının yıkımına sebep olduğu; bunun nimodipin tarafından önlendiği Arrigoni ve Cohadan tarafından gösterilmiştir (4,96). Nimodipinin, aksotomize rat motor nöronlarında aksonal büyümeyi hızlandırdığı yapılan pek çok çalışmada gösterilmiştir (5,6,7,8).

Bu çalışmanın amacı, daha önce geliştirilmiş olan nöropati modelinde, periferik sinir yaralanmasına bir kalsiyum kanal blokeri olan nimodipinin etkisini araştırmaktır (9).

## 2 GENEL BİLGİLER

### 2.1 TARİHÇE

Hipokrat'ın (M.Ö. 460-370) eserlerinde periferik sinir sistemi ayrıntılı olarak tanımlanmış olmasına rağmen periferik sinir kesisi ve iyileşmesi hakkındaki ilk çalışmaları Galen (M.S. 130-201) yapmıştır. Bilinen ilk sinir onarımı Guy de Chaulic (1300-1370) tarafından İtalya'da yapılmıştır (10,11).

Sinir dokusunun uyarılabilirliğini Glisson (1597-1677), sinirlerin fonksiyonel özelliklerini Galvani (1737-1798), akson, myelin kılıfları ve özelliklerini Fontana (1730-1805), nöronlar ve aksonlar arasındaki bağlantıyı Von Purkinje, Schwann hücrelerini ve fonksiyonlarını Schwann (1839) ortaya çıkarmıştır. Waller'in (1850) aksonal rejenerasyonunu tanımlaması sinir yaralanmalarının anlaşılmasında bir dönüm noktası olmuştur. Bernard, kürar ile yaptığı çalışmalarla sinir iletiminin biyokimyasal temelleri hakkında ilk bilgileri ortaya koymuştur (11,12,17).

Golgi ve Cajal 1906'da sinir hücrelerinin sinir sistemi ile ilişkisini ve yapısını açıklayan çalışmalarıyla Nobel ödülünü aldılar. Sherrington, bugün **sinaps** adı verilen fonksiyonel yapıdan ilk söz eden bilim adamıdır. Savaş yaralanmaları sonrası sinir onarımları ve klinik olarak sinir rejenerasyonunu ilk kez Tinel (1915) gözlemlemiş ve yayınlamıştır (12).

Bu alanda ikinci Nobel ödülü 1944'de Erlanger ve Gasser'e sinir liflerinin fonksiyonlarını açıklayan elektrofizyolojik çalışmalarından dolayı verilmiştir. Hodes, Larrabee ve German (1948) ise bu elektrofizyolojik testleri klinikte kullanılabilir duruma getirmişlerdir (11,12).

Periferik sinir cerrahisindeki ilk ayrıntılı çalışmalar Seddon (1948) tarafından savaş yaraları üzerinde, farklı seviyelerdeki sinir yaralanmalarının incelenmesiyle yapılmış ve kendi adıyla anılan "**Seddon sınıflaması**" nı geliştirmiştir. Onarım sonrası sinir rejenerasyonu, greftle onarım teknikleri ve



iskeminin sinir üzerine etkisi konularında öncülük eden önemli çalışmalar yapmıştır (12).

Sunderland periferik sinirlerin internal topografik anatomisi üzerinde çalışmalar yapmış ve daha sonra fasiküler sinir onarını tekniğinin gelişmesinde öncü olmuştur (13,14). Periferik sinir cerrahisine Millesi sinir onarımında greft gerginliğinin önemi, Terzis sinir yaralanması ve tedavi teknikleri, Moberg ve Dellon ise duyu üzerinde yaptıkları çalışmalarla önemli katkılarda bulunmuşlardır (12,15).

## 2.2 PERİFERİK SİNİR ANATOMİSİ

Sinir dokusu vücudun her tarafına dağılan entegre bir iletişim ağıdır. Anatomik olarak beyin, beyincik ve omurilik **merkezi sinir sistemi**'ni oluşturur. Merkezi sinir sisteminin emirlerini son organlara ulaştıran veya son organlardan aldığı bilgileri merkezi sinir sistemine ulaştıran sinir lifleri ve ganglionlarından oluşan yapıya da **periferik sinir sistemi** adı verilir. Sinir dokusunöronlar ve nöronların uzantıları olan aksonlar ile bunları destekleyen, koruyan, nöral aktiviteye katkı sağlayan, nöral beslenmeyi ve sinir sisteminin savunmasını sağlayan hücrelerden oluşur.

Periferik sinir kesitlerinde sinir lifleri, bunların arasında yer alan bağ dokusu, sinir liflerinin bir araya gelerek oluşturduğu fasiküller, sinirin beslenmesini sağlayan kan damarları, lenfatikler ve nervi nervorumlar görülür (11).

Omuriliğin değişik seviyelerinden çıkan sinirler pleksus denilen sinir ağlarını yaparlar. Bu sinir ağlarında sempatik lifler motor ve duyu sinirleri ile karışıp yeniden düzenlenir.

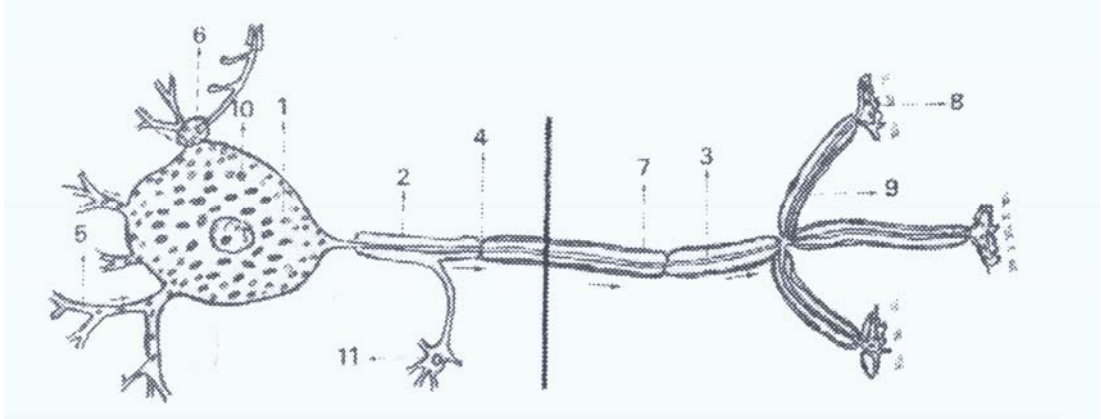
Periferik sinirlerin her biri postganglionik sempatik liflere ek olarak omuriliğin farklı seviyelerinden çıkan çok sayıda motor ve duyu liflerini de içerir. **Nöronlar** karmaşık yapısal özelliklere sahip, sinir sisteminin bağımsız, anatomik ve fonksiyonel birimleridir. Uyarıları (impuls) almak, değerlendirmek ve diğer hücrelere iletmek; belli hücrel etkinlikleri başlatmak; nörotransmitterleri ve diğer bilgi moleküllerini sentezlemek, depolamak ve salgılamaktan nöronlar sorumludur.

Nöronlar üç bölümden oluşur: **Dendritler**, uyarıyı çevre hücrelerden ve diğer nöronlardan almak üzere özelleşmiş uzantılardır (Resim 1) (16).

**Perikaryon**, nöronun gövdesi olup çekirdek ve çevresindeki stoplazmadan meydana gelir. Stoplazmada kaba endoplazmik retikulum, golgi kompleksi, ribozomlar ve mitokondriler bulunur. Perikaryon uyarıyı alır ve uyarı belirli düzeyin üstünde ise aksonlara aktarır (16).

**Akson** uyarıyı diğer nöronlara veya son organlara iletmek üzere özelleşmiş, bir nöronal uzantıdır. Aksonun, perikaryona yakın, genişlemiş kısmına akson tepeciği (**Akson hillock**) denir. Perikaryon ve dentritte bulunan, granüler endoplazmik retikulum ve ribozomlar akson tepeciğinde yoktur. Aksonun, aksoplazma denilen içeriği, üç tabakalı aksolemma denilen, bir zarla çevrilidir. Aksonların çapı genelde sabittir. Aksoplazma birkaç mitokondri, mikrotübül, nöroflaman ve granülsüz endoplazmik retikulum sisternalarını içerir. Granüllü endoplazmik retikulum ve poliribozomların olmaması aksonun gereksinimleri için perikaryona bağlı olduğunu gösterir. Akson kesilecek olursa kesinin distal kısmı yıkıma uğrar (16,17,18,19,21,34).

Aksonlar yapay olarak uyarılırsabu uyarı her iki yöne de yayılır. Uyarı aksonun kendi perikaryonuna ulaşır, ancak diğer nöronlar uyarılmaz ve yalnızca aksonun dallanmalarında bulunan uyarı bir diğer hücre uyarabilir. Bu, bir nöron, kas yada salgı yapan bir bez hücresi olabilir. Bu tür iletim **sinaps** denilen özel yapılar sayesinde olur. Sinaps bir aksonun dentritler veya perikaryonla, nadiren de diğer nöronun aksonuyla yaptığı bağlantıdır. Sinaptik bağlantı kas ve salgı bezi hücreleriyle de olabilir. Merkezi sinir sisteminde sinapsların çoğu aksodentritik veya aksosomatiktir, ancak dentrodentritik ve aksoaksonik sinapslarda vardır. Sinapslar hücrelerin membran potansiyelini değiştirerek işlevlerini yaparlar (16).



**Resim 1:** Bir motor nöronun şematik resmi **1:** Perikaryon, **2:** Myelin kılıfı, **3:** Akson, **4:** Ranvier nodu, **5:** Dentritler, **6:** Sinaps, **7:** Schwann hücresi, **8:** Motor son plak, **9:** Kollateral dal, **10:** Nissl cisimciği, **11:** Oligodendrosit.

Aksonlar yalnızca uyarıları iletmekle kalmaz; aynı zamanda bazı makromolekülleri de taşır. **Aksoplazmik transport** denilen bu taşıma, perikaryondan periferine doğru (somatofugal) yada periferden perikaryona doğru (somatopedal) olabilir. Radyokimyasal ve histokimyasal çalışmalar, aksoplazmik transportun 0,25-1mm/gün'den (yavaş aksonal iletim) 468mm/gün'e (hızlı aksonal iletim) kadar değişen hızlarda olduğunu göstermiştir. Yavaş somatofugal taşınma hızı, rejenerasyon olan ve gelişen nöral dokuda aksonal büyüme hızına eşittir. Motor ve duyu aksonları arasında, taşınan maddeler ve hızları açısından farklılık yoktur. Somatopedal taşınma, nörotransmitterlerin ve intraaksonal proteinlerin yeniden kullanımı için çok önemli bir mekanizmadır. Kolşisin, vinca alkaloidleri (Vinkristin, Vinblastin) ve mikrotübüler bozulmaya sebep olan diğer ilaçlar hızlı aksonal iletimi durdururlar. Bu aksoplazmik iletim mekanizmaları, Ca-Mg-ATPaz tarafından kullanılan ATP'den gelen enerjiye bağlıdır (12).

Nöronlar işlevlerine göre, duyu (**afferent**) ve motor (**efferent**) nöronlar olarak sınıflandırılır. İnternöronlar ise en az iki nöron arasında bağlantı kuran nöronlardır (16).

Perikaryonun bir uzantısı olan aksonun **aksoplazma** denilen içeriği; 65-80 Angström kalınlığında aksolemma denilen trilaminar bir zarla kaplı visköz bir

sıvıdır. Aksoplazmanın temel içeriği mikrotübül ve nöroflamanlardan oluşur. Mikrotübüller, 5nm kalınlığında bir zarla çevrili, yaklaşık 25nm çapta, silindirik yapılardır. Mikrotübüller, sıklıkla mitokondri veya nöroflaman gibi komşu yapıları birleştirir. Mikrotübüller, olasılıkla aksonal transport mekanizmasını da etkiler. Nöroflamanlar, uzunlamasına düzenlenen, dallanmayan, yaklaşık 10nm çapta yapılardır. Hala fonksiyonları tam anlayamamıştır; ancak aksonal transport mekanizmasını etkiliyor olabilirler. Büyüme konileri (**growth cone**) aktine benzeyen, yaklaşık 5nm çapta, bir diğer flaman tipi içerirler. Aksoplazmada, ayrıca mitokondri, granülsüz endoplazmik retikulum (SER) ve multiveziküler cisimcikler de bulunur; nadiren ribozomlar ve glikojenozomlarda bulunabilir (16,17,21).

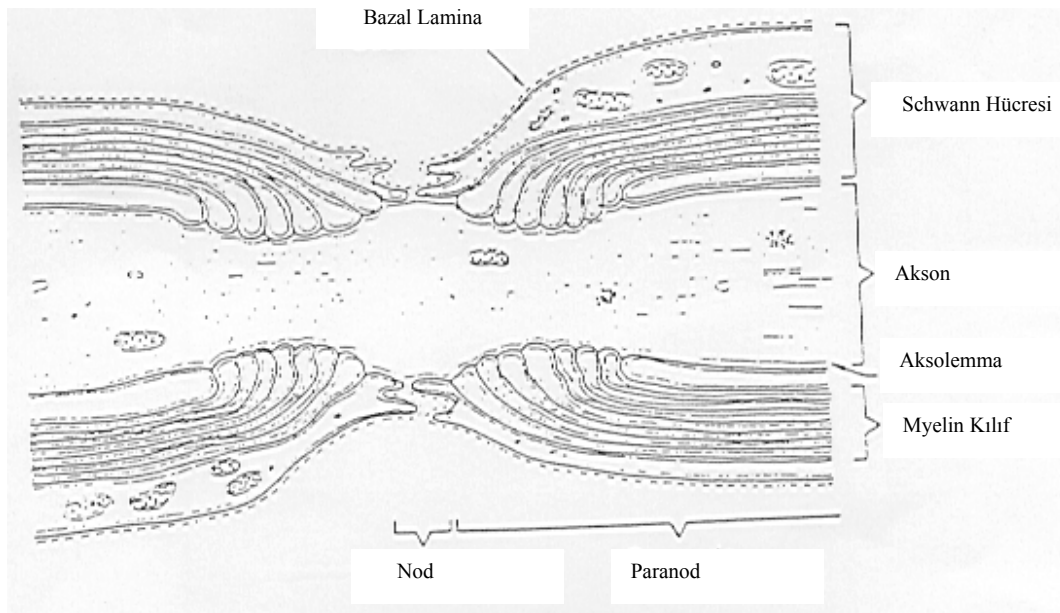
### 2.2.1 Sinir lifleri

Sinir lifleri, özel kılıflarla sarılmış aksonlardan oluşur. Bu kılıf periferik sinirlerde Schwann hücreleri, merkezi sinir sisteminde ise oligodentrositler tarafından yapılır (Resim 1). Lif grupları, beyin ve omuriliğin traktuslarını ve periferik sinirleri oluşturur. Myelinli ve myelinsiz olmak üzere, iki tip sinir lifi vardır. Küçük çaplı aksonlar, genelde myelinsiz lifleri oluştururlar.

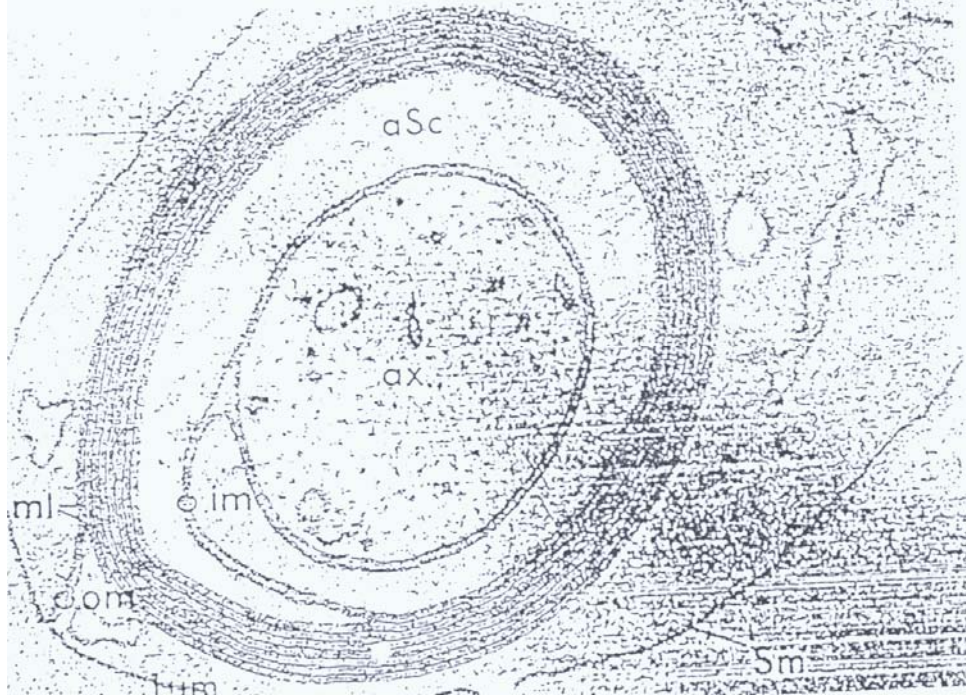
Schwann hücreleri, periferik sinir sisteminin nöroektodermal kökenli, satellit hücreleridir. Bütün aksonlar, myelin üreten bu hücreler tarafından değişen derecelerde sarılır. Büyümekte olan aksonlar myelinleninceye kadar mitozla bölünen Schwann hücresiyle eşit hızda büyür. Aksonun myelinizasyonu tamamlandığı zaman, Schwann hücresinden kaynaklanan, özel bir membranın bir çok tabakasıyla sarılmış durumdadır. Myelin kılıf, çok tabakalı bir proteofosfolipiddir. Bu kılıfın kalınlığı, sarılan aksonun çapıyla değişir; büyük liflerde kılıf daha kalındır (17). Aksonu saran iki komşu Schwann hücresi arasında ve her iki Schwann hücresi ile akson arasında, özelleşmiş bir yapı olan **Ranvier nodu** bulunur. İki nod arasına **internod** denir ve bir Schwann hücresi tarafından yapılır. Internodun uzunluğu, aksonun çapına bağlı olarak değişir. Ranvier nodunda myelin kılıf, tam kesintiye uğrar. Bu geçiş bölgeleri, hücre dışı iyonların aksona ulaşmasına olanak verirler (Resim 2a). Bu yapı; myelinli liflere özgü, noddan noda atlayarak çok hızlı ilerleyen özel bir iletme sebep olur. Bu iletim tipine **saltatuar iletim** denilir (17,18).

Nodal bölgede aksonda daralma olur; bu daralama büyük liflerde göreceli olarak daha fazladır. Schwann hücresi ve myelin mitokondriden zengin sitoplazma içeren sarmallar yaparak nodda sonlanır. Bu sarmalların uç noktaları Schwann hücresi ve akson arasında özel bir temas şekli sağlayarak Schwann hücresi ile akson arasındaki iyonik ve metabolik değişikliklerde rol alır (12,17).

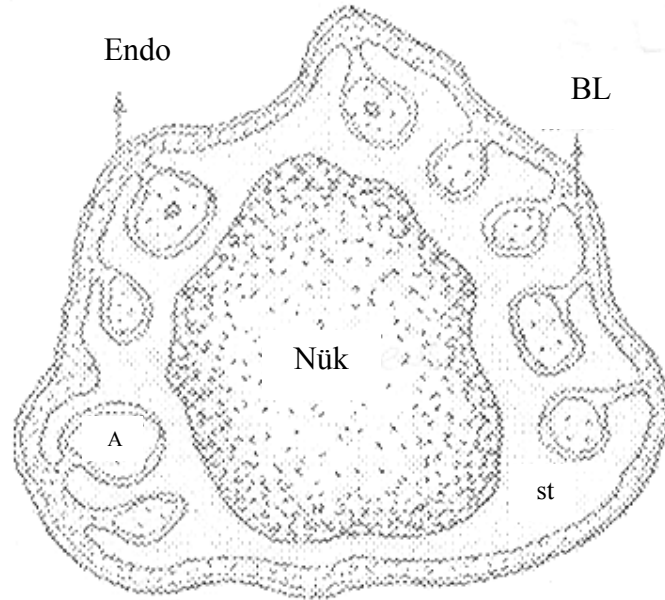
Schwann hücresinin en iç bölümü **adaksional sitoplazma**; hafifçe daha geniş olan ve myelinin etrafını saran bölümü **abaksional sitoplazma** olarak adlandırılır. Myelin üzerinde abaksional ve adaksional sitoplazmayı birleştiren **Schmidt-Lanterman yarıkları** bulunur. Bu yapı myelin kılıfın uzama yeteneğini sağlar (Resim 3). Adaksional sitoplazma tam bir döngüyü biraz geçen döngü yapar; bu üstüste gelen bölgede Schwann hücresinin komşu membran yüzeyleri karşı karşıya gelerek **iç mezaksonu** oluşturur. Abaksional sitoplazmanın döngü yapmasıyla karşı karşıya gelen membranlarda **dış mezaksonu** oluşturur (12,17) (Resim 2b).



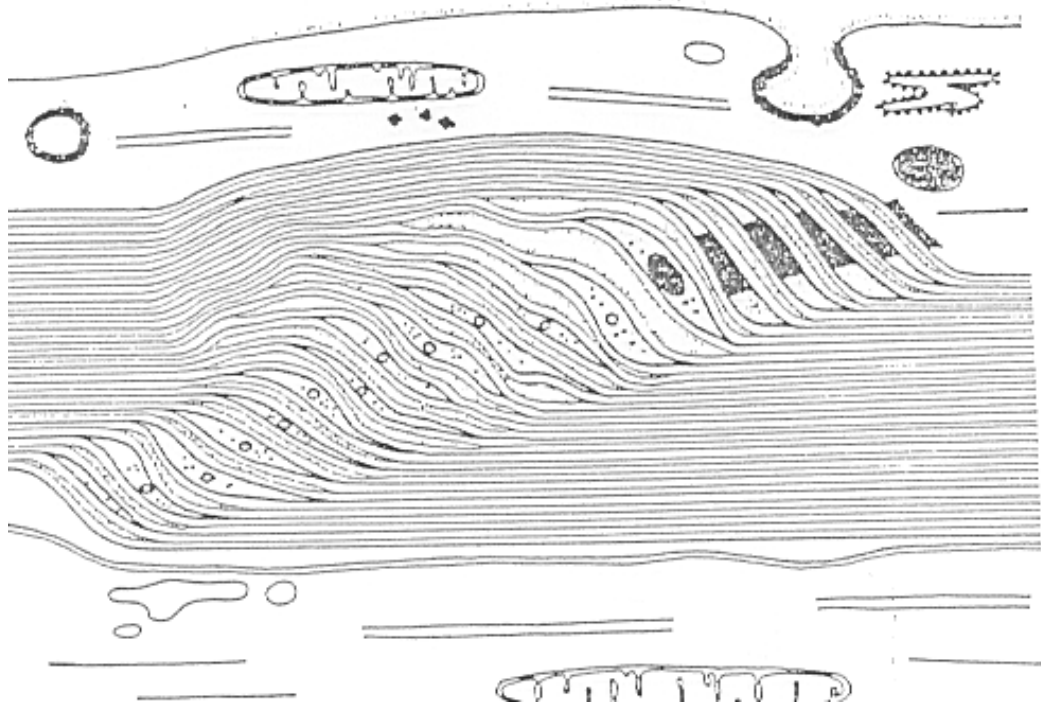
**Resim 2a:** Bir myelinli aksonun boyuna kesiti



**Resim 2b:** Bir myelinli aksonun enine kesiti (om: Dış mezakson, im:İç mezakson, ax: Akson, aSc: Adaksonal sitoplazma, ml: Myelinin koyu çizgileri, Sm: Shwann hücre membranı)



**Resm 2c:** Myelinsiz aksonların enine kesiti (Nük: Schwann hücre çekirdeği, st: sitoplazma, BL: bazal lamina, Endo: endonörium, A: akson)



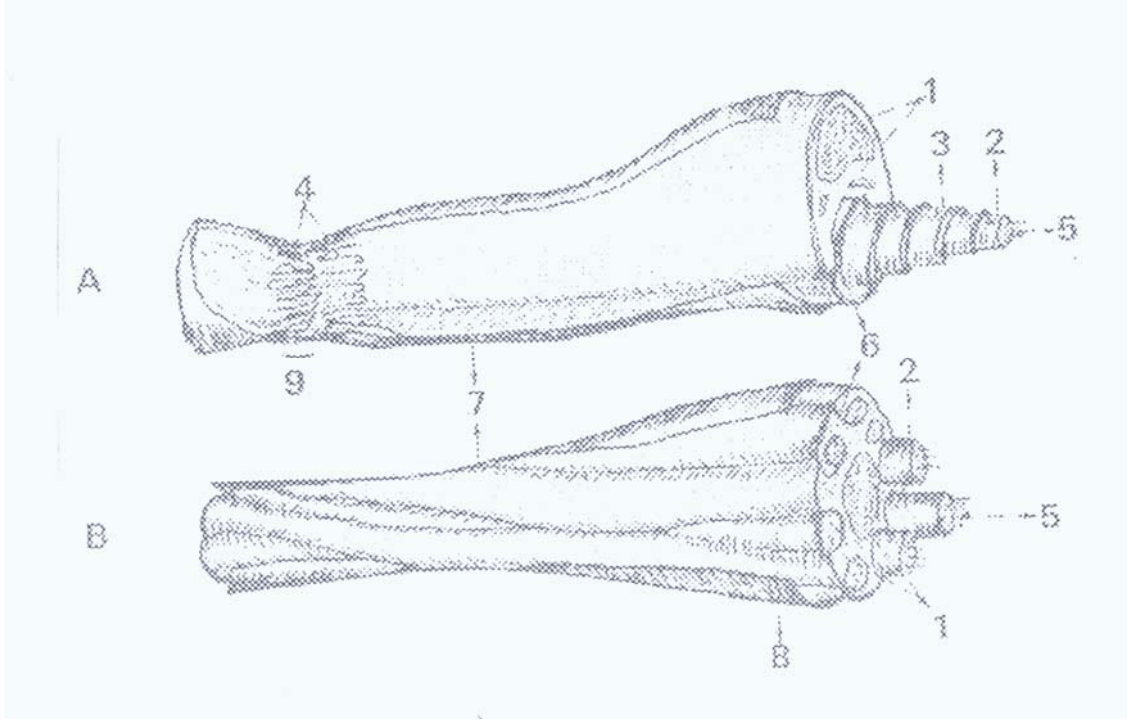
**Resim 3:** Schmidt-Lanterman yarıklarının ultrastruktürel görünümü

Schwan hücreleri ranvier nodunu da geçen bazal lamina tarafından sarılır ve akson için tübüler bir kılıf oluşur. Bazal lamina iç endonöriumdan kaynaklanan kollojen fibriller içerir.

Myelin kılıf spiral olarak düzenlenen bir yapıyla karakterizedir. Bu kılıf protein ve lipid tabakalarının silindirik olarak değişmesini içerir. Bu düzenlenmede lipid moleküller hidrofobik dış kısmı; protein tabakası hidrofilik iç kısmı yapar. Embriyolojik çalışmalarda, myelin oluşmasında ilk basamağın Schwan hücresinde bulunan yarığa aksonun girmesinin olduğu gösterilmiştir. Daha sonra bu yarığın kenarları bir araya gelir ve iki kenarın plazma zarının karşı karşıya gelmesiyle mezakson oluşur. Henüz anlaşılmayan bir mekanizmayla mezakson akson çevresinde birçok kez dolanır. Bu dolanım sayısı myelin kılıfın kalınlığını belirler. Myelinin kalınlığı, akson boyunca aynı olup aksonun çapına göre değişir.

Periferik sinir sistemindeki myelinsiz aksonların da tamamı, Schwan hücreleri ve bazal lamina ile sarılmıştır (Resim 2c). Bunlarda Ranvier nodu olmayıp komşu Schwan hücrelerinin sınırları çok sayıda birbirine giren parmaklı çıkıntılarla belirsizleşir (16).

Periferik sinirlerde iletim hızı akson çapının karesiyle doğru orantılı olarak artar. Myelin kılıf da iletim hızını önemli ölçüde artırır. Bazal lamina, endonöral kollajen ve retikülerden oluşan yapıya tüp veya kılıf denilir ve sinir lifine destek görevi görür (Resim 4). Dejenerasyon sonrası, tüp şeklinde varlığını sürdürerek rejenerasyon olan aksone iskelet görevi görür.



**Resim 4:** **A:** Myelinli sinir lifi, **B:** Myelinsiz sinir lifi. **1:** Schwann hücrenin çekirdeği ve stoplazması, **2:** Akson, **3:** Myelin kılıf, **4:** Ranvier boğumunda Schwann hücre interdigantasyonları, **5:** Mikrotübül ve nöroflamanlar, **6:** Mesakson, **7:** Bazal lamina, **8:** Myelinsiz aksonun yandan görünüşü, **9:** Ranvier boğumu.



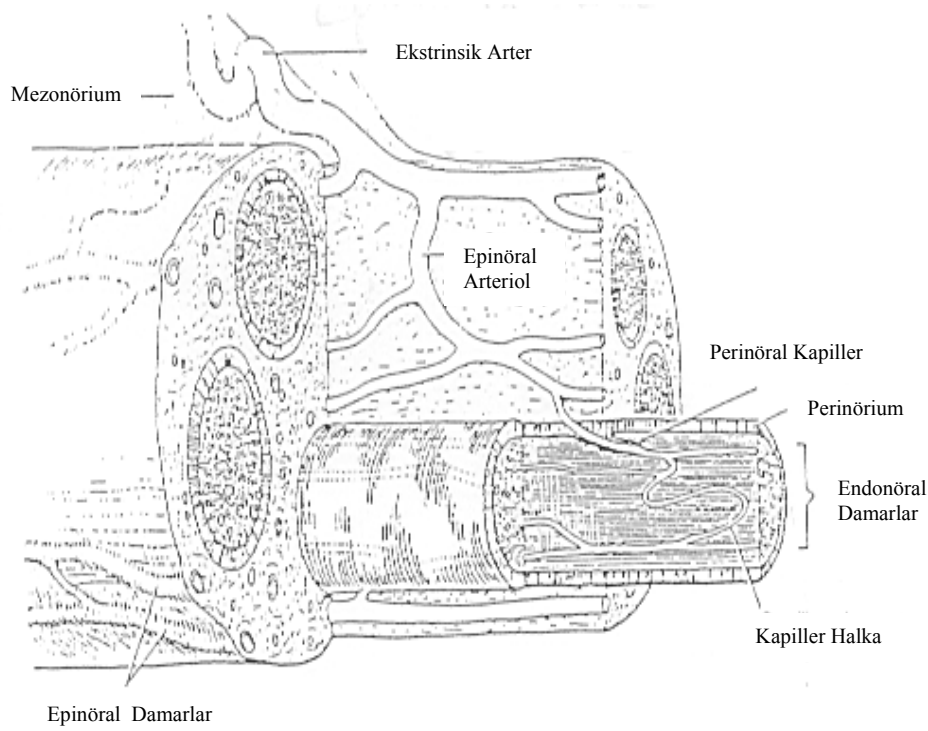
### 2.2.2 Bağ dokusu

Farklı sinir kesitlerinde bağ dokusu oranı %25-85 arasında değişir. Sinirin gerilme gücünü bağ dokusu temin eder ve travmaya karşı aksonları korur.

Periferik sinirlerde üç farklı bağ dokusu katı vardır. Bunlar **epinörrium**, **perinörrium** ve **Endonörrium**'dur.

#### **Epinörrium:**

Gevşek bağ dokusu olup kollajen ve elastik liflerden oluşur. Sinir gövdesine yaklaştıkça yoğunluğu artar. Periferik siniri çevreleyen yağ dokusuyla birleşirler (19). Ekstremiteler hareketleri sırasında ve travmaya karşı periferik siniri koruyucu bir tabaka olarak görev yapar. Gerilmeye karşı direnci sınırlıdır; gerilme artarsa fasiküller tarafından giderilmeye çalışılır (20,21). Epinörriumun siniri çepeçevre saran dış kısmına dış epinörrium; her bir fasikülü saran iç kısmına ise iç epinörrium denir. Dış epinörrium siniri altındaki fasiyaya bağlar. Bu kısma mezonörrium da denir (12). Epinörriumun kalınlığı, kişiye, sinire ve kesit alınan yere göre kesit alanının %25-75'i arasında değişir. Ancak eklemlere yakın bölgelerde daha kalın olduğu bilinmektedir (11,18,21,22). Epinörriumda fibroblastlar, makrofajlar ve mast hücreleri diğer bölgelerdeki bağ dokusundaki ile aynı oranlarda bulunur. Fakat epinörrium daha fazla miktarda yağ dokusu içerir ve bunun travmaya karşı koruyucu görevi vardır (12,18,21,38). Birkaç fasikülden oluşan periferik sinirlerde epinörrium içinde fasiküllere paralel olarak uzunlamasına seyreden arter, ven ve lenfatikler bulunur. Burdaki arterlerler anastomotik arteriol ağı ile birleşir (Resim 5). Bu arterlerin tıkanması veya inflamasyonu vaskülitte seyreden hastalıklardaki sinir hasarının en önemli nedenidir (18).



**Resim 5:** Periferik sinirin damarlanması

### **Perinörium:**

Her bir fasikülü saran sıkı ve kuvvetli bir bağ dokusudur. İlk kez 19.yy. da Henle tanımlamıştır. Perinörium, kollajenle ayrılan bir çok yassılaştırmış hücre tabakaları ve bazal laminadan oluşur. Bu hücre tabakalarının sayısı fasikülün çapına bağlıdır; büyük fasiküllerde daha çoktur ve on-onbeş tabakaya kadar çıkabilir (18,21). Gerilmeye karşı endonöral yapıları koruyucu mekanik bariyer işlevi yanında difüzyon bariyeri olarak da görev yapar. Perinöral difüzyon bariyerinin fasikülün iç ortamının düzenlenmesi yanında toksin, antijen ve virus gibi makromoleküllere karşı koruyucu görevleri vardır. Bu bariyer travma ve iskemiye karşı son derece dayanıklıdır. Ancak bozulması halinde sinir iletimi olumsuz yönde etkilenir (11,12,18,21,23,24,25). Perinöral hücreler iç ve dış yüzeyde bazal lamina ile birleşerek lamelleri oluşturur. Bu özelleşmiş fibroblastlar arasındaki uzaklık

90 Angström kadardır. Bu sayede difüzyon bariyeri işlevinde çok önemli olan sıkı bağlantılar (Tight junction) oluşur (18,24). Perinöral kılıf en küçük sinir dalına kadar ilerlerken hücre tabakası giderek azalır ve sonunda tek tabaka kalır. Bunlar duyu cisimciklerinde sonlanarak uç alıcıları oluştururlar. Periferik sinirdeki epinöral kılıf merkezde dura ile birleşirken, perinörium ise pia-araknoid ile devamlılık gösterir. Perinörium, epinöral damarlarla endoneural damarları birleştiren arteriol ve venüller tarafından delinir (12,18)

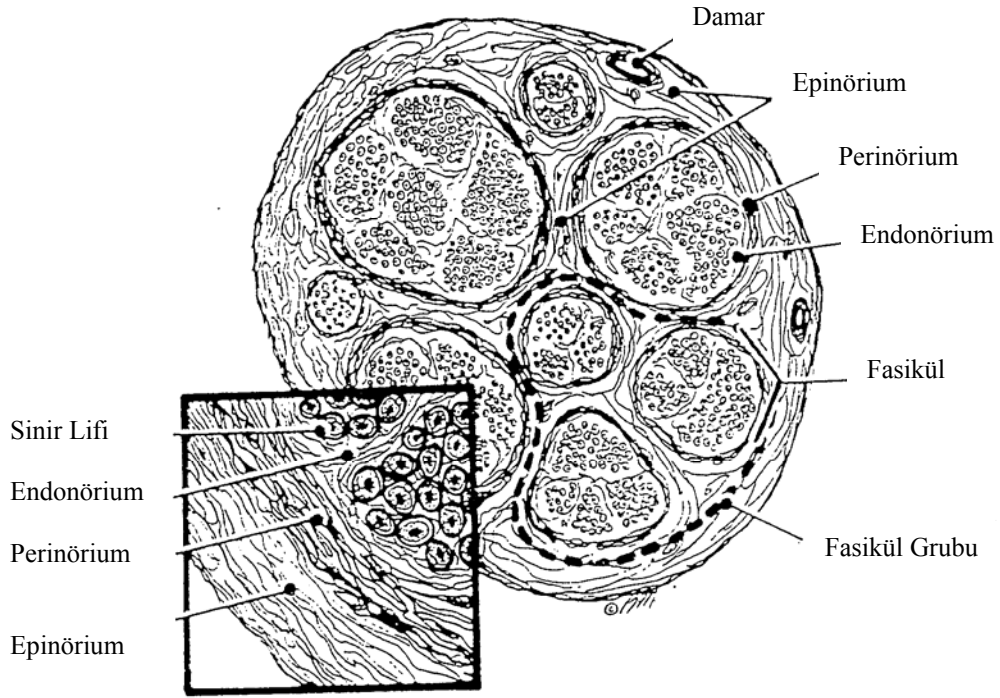
### **Endonörium:**

Sinir liflerini çevreleyen gevşek bağ dokusuna verilen addır. Endonöral kollajen lifler perinöriumdakilerle aynı çaptadırlar ve çoğunlukla sinir lifi boyunca uzunlamasına düzenlenirler. Kapillerler ve sinir lifleri çevresinde yoğunlaşırlar (18). Endonöriumun içinde aksonlar, Schwann hücreleri, kollojen lifler, fibroblastlar, kapiller damarlar, az sayıda mast hücresi ve makrofajlar vardır (12,38). Mast hücreleri sinir yaralanması sonrası, kan sinir bariyeri bozulmasından ve endonöral geçirgenlik artışından sorumludur. Mast hücrelerinden salınan myelinolitik aktiviteli enzimler demyelinizasyona sebep olur (38). Endonöriumdaki kollajen lifler her bir sinir lifini ve onların çevresindeki Schwann hücrelerini iki ayrı kılıf oluşturacak şekilde sarar. Bunlar; Schwann hücrelerinin hemen dışında bulunan, Ranvier nodunda içeri yönelen, nörolemma da denilen iç endonöral kılıf ile Ranvier nodundan içeri yönelmeyen, uzunlamasına düzenlenmiş kollajen liflerin bir tabakasından oluşan dış endonöral (Key-Retzius) kılıftır. Dış kılıftaki uzunlamasına yerleşen kollajen lifler ve Schwann hücre bazal laminası yaralanan sinirin rejenerasyonunda görev alır. Myelinsiz lifler ve küçük myelinli liflerin iç ve dış endonöral kılıflarında görülebilir farklılık yoktur; kollajen lifler daha az sayıda ve daha az uzunlamasına düzenlenmişlerdir (18). En dış endonöral tabakayı, sinir liflerini oblik veya dairesel olarak saran kollajen lifler oluşturur. Nöropatide transvers endonöral alan çapı genelde artar (18). Endonöral alan, sinir işlevleri için uygun ortamı sağlar. Kılıfın bütünlüğü bozulursa endonöral içerik dışarıya çıkar (26).

### 2.2.3 Fasikül

Fasikül, endonörium içinde bulunan ve bir perinörium kılıfıyla çevrelenmiş akson topluluğudur. Sunderland tarafından funikulus da denilen fasiküller cerrahi olarak çalışılabilen enküçük sinir yapılarıdır. Her bir sinir içindeki fasikül sayısı sinirin seyri boyunca değişir. Periferik sinir gövdesi bir veya bir çok sayıda fasikülden oluşur. Fasiküller, sinir boyunca birbirine paralel seyreden kablolar gibi birbirinden tamamıyla ayrı değildir; intranöral plexus oluşturan bir çok bağlantıları vardır. Bu plexus oluşumu proksimalde daha belirgindir; perifere gidildikçe fasiküler bağlantı sayısı iyice azalır. Bu şekilde özel bir dal için sinir lifleri fasikül yada bir fasikül grubu içinde toplanır. Bir çok sinirde fasiküller epinörium içinde ayrı ayrı değil; iç epinöriumun yoğunlaşmış bölümüyle çevrilen gruplar şeklinde bulunur. Bunlara fasiküler gruplar denir. (Resim 6)

Sinir yaralandığında fasikülleri doğru olarak karşı karşıya getirmek her zaman mümkün olmaz; bu durumda fasikül grupları karşılıklı olarak birleştirilir. İnsanda periferik sinir fasiküllerinin çapı 0,04mm-2,0mm arasında değişir, nadiren 4mm'lik fasiküllere de rastlanır. Fasiküler yapılar mono, oligo veya polifasiküler olabilir (11).



**Resim 6:** Periferik sinirin kesitsel anatomisi

#### 2.2.4 Kan damarları

Periferik sinir oldukça zengin bir damarlanmaya sahiptir. Kan dolaşımı periferik sinirlerde iki kısımda incelenir; **ekstresek** ve **intrensek dolaşım**. Ekstresek sistem sinir boyunca adventisya içinde seyreden, **arteriya nervorum** ve bölgesel damarlardan oluşur. Sinirin adventisyası içinde seyreden bu damarlar, intrinsek dolaşım ile anastomoz yapan ve periferik sinir gövdesine giren segmental besleyici dalları verirler. Bu sistem sempatik uyarılardan ve lokal ilaçlardan etkilenir. İntrensek dolaşım ise periferik sinir bağ dokusu (epineurium, perineurium, endoneurium) içinde bulunan damar ağından oluşur. Bu sistem metabolik olaylardan, sempatik uyarılardan ve lokal ilaçlardan etkilenmez. Bu iki sistem periferik sinirin beslenmesini sağlar (11,12,28) (Resim 5).

Embriyolojik olarak periferik sinir sistemi ve vasküler sistem ortak ekseninde gelişir ve sinir komşu damardan segmental besleyicisini alır. Segmental besleyici damarlar epinöriumda asendan ve desendan dallara ayrılarak uzunlamasına seyreden bir damar ağı ile birleşir. Bu perinörium lamelleri arasındaki ikinci bir damar ağını besler. Perinöral damarlar endonöriuma girmeden önce karakteristik olarak oblik seyreder; ayrıca bütün katlarda damarlar kıvrımlıdır. Böylece gerilme durumunda damarların uzaması için bir rezerv oluşur. Ancak gerilme fazla olursa intranöral damarlar tıkanır ve sinir liflerinin beslenmesi bozulur (11,12,23,24). Perinöral pleksus, uzunlamasına düzenlenmiş kapillerlerden oluşan endonöral sistemle anastomoz yapar. Endonöral damar ağı arterioller, kapillerler ve venüllerden oluşur. Bu damar ağı fasikülün uzunluğu boyunca devam eder ve akım yönü travmayla değişebilir. Intranöral kapillerlerin bir kısmında kan akımı yoktur, bunlar travma sonrası yada ılık serum uygulanmasıyla işlevlerine başlar. Bunlara rezerv damarlar denir (11,12,21,23,30).

Venöz ağın intranöral yapısı arteriyel yapıya benzer ancak interfasiküler venüllerin sayısı arteriollerden fazladır. Arteriollerle yandaş seyreden venüller ve venöz pleksus büyük venlere dökülür (30).

Endonöral kapillerlerin endotel hücreleri arasında **sıkı bağlantılar (tight junctions)** vardır. Bu yapı kan-beyin bariyerine benzeyen ve geçirgenliği kontrol eden, kan-sinir bariyerinin oluşmasından sorumludur. Travma sonrası bu bariyer bozulup albumin gibi makromoleküller damar dışına çıkar ve proteinden zengin ödem oluşur. (12,21,23,37). Epinöral ve perinöral kapillerlerin endotelyal hücreleri arasında ise sıkı bağlantılar yoktur. Bu nedenle çevre dokulara biraz sızıntı olabilir (29). Epinöral, perinöral ve endonöral damarlar pleksuslar yaparlar; ancak perinöral ve endonöral pleksuslar her bir fasikül için ayrı mini bir dolaşım sağlar. Fasiküllerin damar yatağı oksijen ve besinleri sağlayarak intranöral ortamı sürdürür (12,23).

Geniş periferik sinirlerin yüzeyinde izlenen makroskopik arterioller, sinir onarımlarında proksimal ve distal sinir güdüğünün birleştirilmesinde yardımcı olurlar (27). Her iki ucundan kesilmiş ve çevre dokudan ayrılmış sinir segmentinin beslenmesi yalnızca eksterensek sistem tarafından sağlanabilir. Bu özellikten faydalanılarak serbest vaskülerize sinir grefti tekniği geliştirilmiştir (30)

### 2.2.5 Lenfatikler

Epinöriumda arterlerle yandaş seyreden lenfatik kapillerler bulunur. Endonöriumda ve fasiküller içinde lenfatik kapillerler yoktur. Fakat sinir lifleri arasında sıvı dolu endonöral boşluklar vardır. Bu endonöral boşluklarla lenfatikler arasında perinörium etkin bir bariyer oluşturur. Bu sebeple travma sonrası kan-sinir bariyerinin bozulmasıyla oluşan endonöral ödem dışarıya çıkamaz; fibroblast invazyonu ve endonöral skar gelişebilir (11,23,24,31,38)

### 2.2.6 Sinirler

Periferik sinirlerin, **nervi nervorum** denilen özel sinirleri ve perivasküler pleksus yoluyla vazomotor innervasyon sağlayan sempatik sinir lifleri ile sinirin ağrı duyusunu sağlayan serbest sinir sonlanmaları vardır. Bunlar epinörium, perinörium ve endonöriumun her birinde bulunup duyu ve sempatik lifler içerirler (12,18,23).

## 2.3 PERİFERİK SİNİR YARALANMALARI

Periferik sinir yaralanması; sinir iletiminin ve aksonal bütünlüğün kaybını kapsar. Yaralanan bölgenin proksimalinde ve distalinde, hedef organlarda dejeneratif değişiklikler olur (11,32,33). Bu yaralanmaları **Sunderland** çok sayıda alt gruba ayırmış olmasına rağmen prognozun saptanması ve tedavi açısından **Seddon** sınıflaması daha kullanışlıdır (1,34) (Resim 7).

Sunderland sınıflaması:

1. Birinci derece; kompresyon veya iskemi sonrası iletim bloğu vardır, aksonun bütünlüğü korunmuştur ancak demyelizasyon olabilir. Seddon sınıflamasında nöropraksi denilen lezyondur. Genelde 2-3 haftada tam olarak iyileşir.
2. İkinci derece; aksonun bütünlüğü bozulmuş, ancak endonörium sağlamdır. Seddon sınıflamasında eşdeğeri aksonotmezistir. Wallerian dejenerasyon gelişir, iyileşme aylarca sürebilir ve uygun hedef organlar reinnerve olur.

3. Üçüncü derece; akson bütünlüğünün bozulması yanında endonöral tüp bütünlüğünde kaybolmuştur; perinörium ve epinörium sağlamdır. Reinnervasyon interfasiküler fibrozisin oranına bağlı olarak zayıfla tam arasında değişebilir. Rejenerasyon sırasında aksonlar yanlış hedef organlara yönelebilir.

4. Dördüncü derece; epinörium dışında tüm bağ dokusu bütünlüğü kaybolmuş ve endonöral yapı bozulmuştur. Yoğun skatris dokusu bulunup sinir genişlemiş ve sertleşmiştir. Nöroma gelişebilir. Büyüyen aksonlarda, fasiküller arası yoğun karışıklık olması sebebiyle iyileşme hiçbir zaman tam olamaz. Cerrahi onarım endikasyonu vardır.

5. Beşinci derece; tam kesi söz konusudur. Nöral yapı yanında tüm bağ dokusu katlarının bütünlüğü yok olmuştur. Cerrahi onarım olmadan iyileşme mümkün değildir.

6. Altıncı derece; birinciden dördüncü dereceye kadar olan yaralanmaların karışımıdır. Arada korunmuş duyu fasikülleri olabilir (11,12,21).

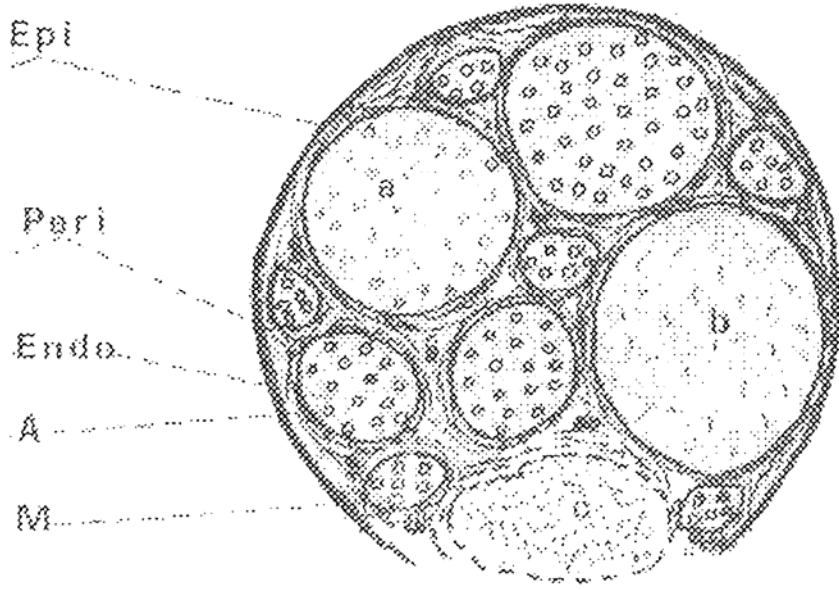
Seddon, periferik sinir yaralanmalarını üç gruba ayırmıştır;

1-Nöropraksi,

2-Aksonetmezis,

3-Nörotmezis.





**Resim 7:** Yaralanmış bir sinirin enine kesiti (**a:** Nöropraksi, **b:** Aksonetmezis, **c:** Nörotmezis, **Epi:** Epinörium, **Peri:** Perinörium **Endo:** Endonörium, **A:** Akson, **M:** Miyelin)

### 2.3.1 Nöropraksi

En hafif sinir yaralanması olup; Wallerian dejenerasyonu görülmez. Nöroprakside bazal lamina sağlam, akson bütünlüğü korunmuş, fakat aksonal iletim bozulmuştur. Yaralanma bölgesinde akım bloğu vardır; ancak yaralanmanın proksimalinde ve distalinde akım olabilir. Kontüzyon tarzı sinir zedelenmeleri, künt travma, hafif kompresyon, iskemi veya ileri derecede sinir gerilmesi sonucu oluşur. Bu durum, saatler ve aylar içinde (ortalama 2-3 hafta) iyileşir. (12,21).

Tanıda ve tedavide sinirde oluşan hasarın nasıl ortaya çıktığı önemlidir. Hafif derecede bası veya kontüzyon nöropraksiye sebep olur. Nöropraksiye örnek

olarak uzun süre bacak bacak üstüne atmakla oluşan, peroneal sinir felci ve cumartesi gecesi felci (**saturday night palsy**) verilebilir. Nöropraksidede oluşan patoloji, biyokimyasal yapıdaki değişiklik ve myelin kılıfın etkilenmesine bağlıdır. Sinir palpasyon, inspeksiyon ve hatta mikroskopide bile normal olabilir. En ileri formunda akson korunurken, segmental demyelizasyon oluşur. Büyük myelinli liflerin iskemiyeye, myelinsiz ve küçük çaplı myelinli liflerden daha az hassas olduğu gösterilmiştir. İskemiyi izleyen serbest radikal hasarına periferik sinirler, diabetik kişilerde daha duyarlıdır (1,21,34,69,71).

Nöropraksidede segmental iletim bloğu vardır. Geçici iske mi veya basıya bağlı olarak ortaya çıkabileceği gibi bölgesel demyelizasyon sonucuda gelişebilir (10,21). Nöropraksidede görülen duyu azalması, aksonal kesilerdeki kadar ciddi olabilir. Elektrofizyolojik değerlendirmelerle aksonal bütünlüğün saptanması çok önemlidir; ancak akut durumlarda bu mümkün olmayabilir. Çünkü yaralanmadan hemen sonra yaralanma alanının distalinde iletim bir müddet daha devam eder. Kronik dönemde yapılan çalışmalar, iletim özelliklerinin bölgesel anomalilerinden çok, süreklilik kaybına bağlı iletimin durması şeklinde olmaktadır. Birkaç aksonda görülen iletim, sinir bütünlüğünün göstergesi olup, cerrahi girişim olmadan işlevsel bir iyileşmenin olabileceğini düşündürür. Aksonal bütünlük bozulmadan, işlev felcine sebep olan yaralanmalar, genellikle sinirin sıkışması sonucudur ve demyelizasyonla ilgilidir (35). (Resim 6)

### **2.3.2 Aksonetmezis**

Akson ve myelin kılıfta sürekliliğin kaybolduğu, ancak destek dokunun sağlam kaldığı sinir yaralanmasıdır. Epinörium, perinörium ve endonörium korunmuştur. Akım bloğuna ek olarak yaralanmanın distalindeki aksonda dejenerasyon da vardır. Yaralanmanın distalinde Schwann hücre proliferasyonu ve makrofajlar görülür. Wallerian dejenerasyonu ile birlikte, yaralanmanın derecesine bağlı olarak, proksimalde myelin tabaka, aksonal uzunluk ve çapta kayıp görülür. Hasarın hemen proksimalindeki bölümde iletimin azalması, akson çapında ve myelindeki azalmaya bağlıdır. Fibrilasyon, uyarı kaybından 2-3 hafta sonra başlar. İstemli hareket yapılmak istendiğinde kas aksiyon potansiyeli yoktur. Uyarının

distalinde hareket oluşmaz. Prognoz, bazal lamina, satellit hücreler ve bağ dokusu bütünlüğünün korunmuş olmasından dolayı iyidir (1,12,21,34).

### 2.3.3 Nörotmezis

Sinirde tam anatomik kesi olup endonörium, perinörium ve epinörium bütünlüğü bozulmuştur. Ancak bazı lezyonlarda, sinir bütünlüğü korunmakla birlikte sinirin iç yapısında bozulma görülebilir. Wallerian dejenerasyon vardır. Sunderland bu lezyonlara, endonörium, perinörium ve epinöriumun etkilenmesine bağlı olarak sırayla 3, 4 ve 5'inci derece demiştir (1,12,21,34).

Periferik sinir kesisinde sinir hücre gövdesinde ve proksimal uçta değişiklikler olur. Aksotomi sonrası nöron ölebilir. Yaşayan nöronda ise anatomik ve işlevsel değişiklikler başlar. Hücre gövdesinde hacim artması, nükleusta merkezden çevreye göç ve stoplazmada bazofilik cisimciklerin kaybı olur. Hücre, rejenerasyon için gerekli maddelerin yapımını hızlandırır. Nöronların uyarılabilirliği ve iletim işlevinden çok onarım ön plandadır (36). Kesi sonrası proksimalde görülen dejenerasyon, geriye doğru en yakın Ranvier noduna kadar ilerler (68). Kesik uçta, perineuriumun kesilmiş yada yırtılmış olması, ödemlenen fasiküllerin düzeninin bozulmasına ve dağılmasına sebep olur. Cerrahi onarım yapılmadan iyileşme mümkün değildir (12).

### 2.3.4 Dejenerasyon

Periferik sinir kesisini izleyen, en dramatik nöronal cevap, hücrenin ölmesi ve rejenerasyon için uygun nöron havuzunun azalmasıdır. Nöronal ölüm, proksimal lezyonlarda daha fazladır. Yaşayan nöronlarda, granüler endoplazmik retikulumun yıkılması sonucu, perikaryon içindeki Nissl cisimciklerinde dağılma (**kromatolizis**) gerçekleşir. Hücre gövdesi ve çekirdekçiği genişler, çekirdek kenara gider ve dendritik ağaç küçülür. Hücre metabolizması, akson rejenerasyonu, hücre işlevlerinin ve canlılığının devamı için proteosenteze kayar. Nöroflaman, tübülün, aktin ve growth associated protein gibi hücre yapı proteinlerinin yapımı artar. Bu proteinlerin distale taşınma hızı, erişkin ratlarda 0.8mm/gün gençlerde ise 1.5mm/gün'dür

(11,21,68). Yaralanma sonrası ikinci ve üçüncü haftalarda hücre içi değişiklikler en yüksektir. Schwann hücre adezyonu ve proliferasyonu, periferik sinir basısını takiben 2-4 hafta; sinir kesisinden sonra ise 1-2 hafta en yüksek seviyelerdedir (11,21,36,67).

Aksotomi sonrası distal sinir ucunda dejenerasyon olur. İlk kez Waller (1850) tarafından tanımlandığı için “**Wallerian Dejenerasyon**” denmiştir. Kesi sonrası açığa çıkan proteolitik enzimler lizisi başlatır. Nöroflaman ve mikrotübül gibi yapı proteinleri yıkılıp hücre çatısı dağılır. Bu işlev, aksoplazmada kalsiyumun aktive ettiği enzimlerin yaptığı bir nöroflaman yıkımı olduğu için, kalsiyuma bağlıdır. Aksonal yıkım ürünleri ve myelin debrisin uyardığı Schwann hücre proliferasyonu, yaklaşık 10-14 saat sonra başlayıp, iki hafta kadar sürer. Kesinin distalindeki aksonal debris ve myelin yıkım ürünleri, Schwann hücreleri ve makrofajlar tarafından fagosite edilerek rejenerasyon olan aksone yol hazırlanır. Bölgeye fibroblast göçü ile yıkım ürünlerinin temizliği aylar içinde tamamlanır. Wallerian dejenerasyon sırasında, endonöral bağ dokusu kılıfı tanınabilir bir yapı olarak kalır. Çoğalan Schwann hücreleri, rejenerasyon için gerekli myelin yapımını üstlenir. Bazal lamina ile sarılı Schwann hücre kolonları Büngner bantlarını oluşturup rejenerasyon olan aksonlara klavuzluk yaparlar (11,12,18,19,21,36,49,68).

Periferik sinir kesisi sonrası kas veya duyu cisimcikleri gibi hedef organlarda dejenerasyon olabilir. Buna rağmen hedef organlar, yıllarca reinnervasyon kapasitelerini koruyabilir (12). Duyu siniri kesilerindeki reinnervasyonun varlığı klinik testler ve subjektif duyum ifadelerine dayalı olarak saptanmaya çalışılır. Deride denervasyon sonrası trofik değişiklikler görülür (39,50). Duyusal reinnervasyon çalışmalarında, yeterli innervasyon için optimum denervasyon süresi belirlenememiştir (13,15,40,50). Duyu sinirlerindeki reinnervasyonun yeterliliğinin saptanmasında, klinik olarak koruyucu duyunun geri gelmiş olması ve iki nokta ayırımının olabildiği kadar küçük olması önem taşır.

Hedef organ kas ise, histolojik özellikleri korunmakla birlikte liflerde atrofi gözlenir (33). Atrofi başlangıçta çok hızlı olup dördüncü aydan sonra daha yavaş ilerler. 4.-5. aylardan sonra atrofi %80-90'a ulaşır (14). Denervasyon, iki üç yıldan fazla sürerse, denerve kas fibrozise gider ve zaman içinde kontraktürler gelişir (41).

### 2.3.5 Rejenerasyon

Aksonal tomurcuklanmayı başlatarak rejenerasyonu sağlayan mekanizmalar hala tam olarak aydınlatılmamıştır. Rejenerasyonun başlaması, yeni gen ekspresyonu ve proteinlerle ilgilidir. Büyüme konileri (**growth cone**), aksotomi sonrası proksimal aksonun en uç kısmındaki aksonal genişlemedir. Büyüme konileri, granülsüz endoplazmik retikulum, nörofalman, mikrotübül, mitokondri, lizozom ve diğer veziküller bakımından oldukça zengindir. Buradan aksonal tomurcuklanma ile rejenerasyon başlar. Rejenerasyon işleminde aksonlar, nonnöronal hücreler ve ekstrasellüler elemanlar rol oynar. Diğer taraftan yaralanma bölgesindeki nörotrofik (humoral) ve nörotropik faktörlerin rejenerasyondaki etkileri deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Rejenerasyon sırasında genellikle tübülün yapımı ve taşınması artmıştır (12,36,42,43).

Fonksiyonel bir sinir rejenerasyonu için üç işlemin başarıyla tamamlanması gereklidir:

1-Aksonal kesi sonrası nöron gövdesi canlı kalmalıdır.

2-Nöronlar proksimal uçtan aksonu rejenere etmeli ve rejenere akson ucu distal sinir ucuna gitmelidir.

3-Rejenere aksonlar proksimal uçtan çıkıp kendilerine ait uç organ hedefleriyle birleşmelidir (27,44).

Dejenere sinir kılıflarından ve denerve dokulardan salınan trofik faktörlerin, akson rejenerasyonunu tetiklediğine inanılmaktadır. Deneysel çalışmalar, rejenerasyon oranı ve yönünü, hedef organın etkilediğini göstermiştir (43,73,75,84,85,87). Kesinin proksimal ucunun, en distalindeki Ranvier nodu düzeyinde, Schwann hücrelerinin kontrakte olmasıyla, yaralanmayı izleyen 20 saat içinde, aksonal tomurcuklanma başlar. Tomurcuklanma karakteristik olarak çok sayıdadır; bir tek akson 25 adet tomurcuk verebilir. Bu tomurcuklardan birisi, hedef organla bağlantı kurduğu zaman, bu akson olgunlaşır ve diğer tomurcuklar dejenere olur (11,12,21,49). Rejenere aksonlar, distal uçtaki endonöral tüpler içine doğru ilerler. İlerlemenin hızı canlı türlerine göre değişir; insanlarda ortalama günde

1mm'dir (51,68). Rejenere aksonlar ve kollateralleri, distaldeki endonöral tüplere, birbirinden bağımsız olarak, rastgele girerler. Maalesef her aksonal rejenerasyon normal sinir fonksiyon ve morfolojisiyle sonuçlanmaz. Akson uçları kesi hattını geçemez veya distaldeki endonöral tüpe giremezse nöroma oluşturur yada fonksiyonel bir reinnervasyon oluşamaz.

Duyusal rejenere bir aksonun kollateralleri yada aksonun kendisi farklı duyu reseptörlerine gidebileceği gibi; motor aksonlar da duyu endonöral tüplere girerek uygunsuz duyu-motor reinnervasyonuna sebep olabilir (36,52,53).

Rejenere aksonun çevresini kuşatan Schwann hücreleri hem akson büyümesi için uyarıcıdır; hem de proksimalden distale myelinlenmeyi başlatır. Promyelinli lifler, doğru hedef organa ulaştıktan sonra proksimalden distale doğru akson çapı artar. Ancak hiçbir zaman kesi öncesi myelin kalınlığı ve akson çapına erişemezler. Rejenerasyon hızı erişkin ve fetusta aynı olmakla birlikte, remyelinizasyon hızı fetusta erişkine göre daha fazladır (36,54,66). Bu sırada promyelinli rejenere aksonlara uygulanan bası ve mikrotravmalar, kılıf kalınlığı ve akson çapının daha da küçülmesine sebep olur (55).

Bir çok deneysel entübülasyon çalışmasında, aksotomi sonrası distal sinir dokusunun rejenerasyonu desteklediği ve rejenerasyon yönünü etkilediği gösterilmiştir (43,72,73,74,75,76,77,78,79,80,81,82,83,84,85). Sinir rejenerasyonunda sinir hücresinin yaşamını ve büyümesini destekleyen humoral faktörlere **Nörotrofik faktörler**; büyüyen, rejenere olan, sinir uçlarına yapışarak onların büyüme yönünü etkileyen faktörlere ise **Nörotropik faktörler** denir. Son çalışmalar, rejenerasyon ve aksonal uzamada hücre adezyon moleküllerinin, büyüme faktörlerinin ve reseptörlerin önemli rolleri olduğunu göstermiştir. Nörotrofik faktörlerin ise lif maturasyonunda ve doğru rejenerasyonda kolaylaştırıcı etkileri vardır (12,56,57,58,64).

### 2.3.6 Büyüme faktörleri ve özel proteinler

**NGF (Nerve Growth Factor)** : 1959 yılında Cohen tarafından tanımlanan bir makromoleküldür. Duyu ve sempatik sinirlerin, rejenerasyonunda ve

gelişmesinde önemli görevi olduğu gösterilmiştir. Sinir kesisinden etkilenen hedef organ tarafından salgılanır. Sinir terminalleri tarafından alınıp hücre gövdesine taşınır ve hücre metabolizmasını etkiler. Akson yaralanmasını izleyen aksonal reaksiyonu ve hücre ölümünü engeller. 1983 yılında dejenere sinir ucundan salınan ve motor sinirlerle ilişkili olan MNGF tanımlanmıştır (12,27,56,57,86).

**BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor) :** Beyin ekstrelerinden izole edilen 12kDa ağırlıkta bir makromoleküldür. Dorsal kök ganglionlarındaki nöron canlılığının devamı ve hücre ölümünü azaltıcı etkileri *invivo* çalışmalarla gösterilmiştir. Ayrıca kortikal nöron kültürlerinde apoptotik hücre ölümüne karşı etkili olduğu bilinmektedir (27,57,97).

**aFGF ve bFGF (Asidik ve Bazik Fibroblast Growth Factor) :** Heparine yüksek duyarlılığı olan potent bir mitojendir. Madison ve arkadaşları tarafından yapılan *invivo* çalışmalarda özellikle aFGF' nin, periferik sinir lezyonlarının onarımı sonrasında nöronal canlılığı artırdığı gözlenmiştir. Bu etki, duyu sinirlerinde motor sinirlere göre daha fazladır. bFGF ise periferik sinirlerdeki aksonal rejenerasyonu uyarır (57).

**NLK (Neuroleukin) :** 56 kDa molekül ağırlığındadır. Merkezi sinir sisteminde, fetal spinal nöronların büyüme ve canlılığını etkiledikleri; immün sistemde ise immünglobulin salınımını başlattıkları gösterilmiştir. NLK' nın aslında glikolitik bir enzim olan fosfoglikoizomeraz olduğu genetik incelemelerde gösterilmiştir (57).

**CTNF (Ciliary Neurotrophic Factor) :** İlk olarak 1976 yılında tanımlanmış olan bir büyüme faktörüdür. Sağlam periferik sinirler, kalp, göz, v.b. birçok dokudan izole edilebilir. Etkisini akson ve Schwann hücreleri arasındaki etkileşimle yapar.. Motor, sempatik ve duyu nöronlarının canlılığını artırdığı gösterilmiştir. İnnervasyonunu yitirmiş hedef organlardan ve kesinin distal ucundan salgılanan bu nöronal büyüme faktörleri, aksonun sinir sistemi içinde yer alan nöronlarını etkileyerek dolaylı yoldan aksonal rejenerasyonu sağlamaktadır (65).

### 2.3.7 Hücre Adezyon molekülleri

Hücre-hücre, hücre-substrat ilişkilerini içeren tanımlanmış moleküllerin listesi hızla büyümektedir. Periferik sinir sistemine özgün hücre-yüzey moleküllerinin en iyi tanımlanmış olanları: **N-CAM, Ng-CAM, N-Catherin, P8-4, TAG-1, LAMP** (Limbic system Associated Membrane Protein) ve **Astrotactin**'dir (36,57).

**N-CAM** (Neural Cell Adhesion Molecule) : Schwann hücresinde ve büyüme konisinde bulunup akson büyümesinde görev alır (36).

**Ng-CAM** (Neuron-glia Cell Adhesion Molecule) : Sinir kesisini takiben aksonda ve Schwann hücresinde miktarı artar (36).

Hücre adezyon moleküllerinin periferik sinir sisteminin gelişmesi sırasında, myelinizasyon başlar başlamaz düzeyleri azalır. Periferik sinir yaralandığında (normal sinir gelişiminde olduğu gibi) N-CAM ve Ng-CAM düzeyi Schwann hücre yüzeyinde yeniden artmaktadır (36,56,59).

### 2.3.8 Sinir rejenerasyonundan sorumlu ekstrasellüler matriks molekülleri

**Laminin, Fibronektin, Cytotactin, Thrombospondin, AMOG ve MAG** (Myelin Associated Glycoprotein) tanımlanmış başlıca moleküllerdir. Fibronektin nispeten nonspesifiktir. Bunlar, Schwann hücre adezyonunu ve proliferasyonunu artırır. Ayrıca Schwann hücre morfolojisini etkileyerek rejenerasyon oranını artırdıkları da gösterilmiştir. Nöronal büyüme faktörleri ile hücre adezyon molekülleri arasında dinamik bir ilişki vardır (27,57,60,67).

### 2.3.9 Non-nöronal hücreler ve reseptörler:

Sinir onarımına katkıda bulunan en önemli iki nöron dışı hücre; şüphesiz **Schwann hücresi** ve **makrofajlar**dır (61). Makrofajların yalnızca dejenere myelini ortadan kaldırmakla kalmayıp yara iyileşmesini hızlandırıcı etkileri de olduğu



bilinmektedir. Makrofajlar endotel hücre göçünü etkiler, Schwann hücrelerine mitojen verir ve denerve Schwann hücrelerinden NGF salgısının başlamasında etkilidirler (62). Bu alanda yapılan çalışmalarda, Schwann hücreleri ile rejenere aksonlar arasında olası moleküler ilişkiler açığa çıkarılmıştır (63). Yapılan çalışmalar sinir kesisini takiben Schwann hücreleri üzerindeki NGF' nin artarak rejenerasyon ilerledikçe akson üzerinde daha distalde yerleşik yeni reseptörlere doğru yer değiştirdiğini, sonra da hücre ana gövdesine geri taşındığını göstermiştir (56).

Non-nöronal hücreler, büyüme faktörleri, adezyon molekülleri ve aksonlar arasındaki bu karmaşık ilişki, periferik sinir rejenerasyonunda önemli rol oynamaktadır.

## 2.4. KALSİYUM KANALLARI ve NİMODİPİN

### 2.4.1 Kalsiyum Kanalları

Hücre içine kalsiyum girişini sağlayan başlıca iki çeşit kanalı vardır. Bunlar **reseptöre bağımlı** ve **voltaja bağımlı** kalsiyum kanallarıdır.

Reseptöre bağımlı kanallar, hücre membranında özel bir protein (G protieni) aracılığıyla bir reseptöre kenetlenmiştir ve reseptörün, uygun bir agonist tarafından aktive edilmesiyle açılırlar. Bu kanallar kalsiyum dışında  $\text{Na}^+$  iyonunu da geçirirler ve kalsiyum antagonistleri tarafından güçlü bir şekilde bloke edilmezler.

Voltaja bağımlı kalsiyum kanalları, 250 kD molekül ağırlığında bir glikoproteindir. Bu kanalların üç alt tipi vardır; **L-tipi** güçlü depolarizasyonla açılır ve uzun süre açık kalır, **T- tipi** kısa süreli açık kalır, **N-tipinin** açılması için transmembran potansiyeli aşırı negatif olmalı ve güçlü depolarizasyon yapılmalıdır. Deneysel periferik sinir yaralanmasını izleyen dönemde gelişen allodininin mekanizmasında spinal kord N-tipi kalsiyum kanallarının rol oynadığı gösterilmiştir. L-tipi kalsiyum kanalları dihidropridin grubu kanal blokerlerine duyarlıdır.  $\text{Cd}^{++}$  ve  $\text{Mn}^{++}$  gibi büyük divalen katyonlar, kalsiyum kanallarının büyük bir kısmını bloke ederler (3,94,95).

## 2.4.2 Kalsiyum Kanal Blokerleri

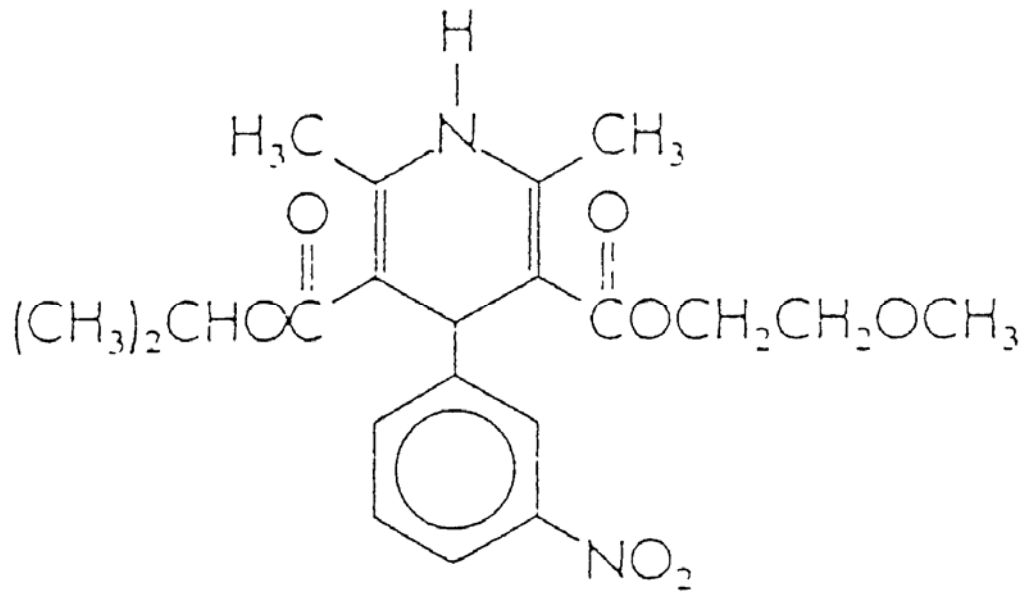
Kalsiyum kanal blokerleri, kalsiyum kanallarını kapatarak hücre içine kalsiyum girişini engelleyen maddelerdir. 1962 yılında Hass va Hartfelder, verapamil'in koroner vazodilatör etkisini bildirdiler. Fleckenstein 1967 yılında, kalp kası hürelerine kalsiyum girişinin, eksitasyon-kontraksiyon kenetlenmesini etkilediğini bildirdi. Rougier ve Coraboeuf 1969 yılında, hızlı Na<sup>+</sup> kanallarının tetrodotoxin tarafından bloke edildiğini bildirdiler. 1969 yılında Rougier, yavaş kanalların (kalsiyum kanalı) Mn<sup>++</sup> tarafından engellendiği ancak tetrodotoxin tarafından engellenmediğini gösterdi. Kohlhardt ve arkadaşları, kalsiyum akışını verapamil ve gallopamilin engellediğini 1972'de gösterdiler (3).

Kalsiyum kanal blokerleri beş gruba ayrılır: **1-Fenilalkilaminler** (Verapamil, Gallopamil) **2-Dihidropiridinler** (Nicardipine, Nifedipine, İsradipine, Amlodipine, Felodipine, Nisoldipine, Nitrendipine ve Nimodipine) **3-Benzotiazepinler** (Diltiazem) **4-Difenilpiperazinler** (Flunarizine, Trimetazadine, Ranolazine) **5-Diarilaminopropilamin** (Bepridil) (3)

Bunların büyük bir kısmı antihipertansif ve koroner vazodilatör olarak kullanılır. Yalnızca nimodipin, subaraknoid kanamada nöroprotektif olarak kullanılmıştır. Ayrıca bir çok deneysel çalışmada, nimodipinin periferik sinir rejenerasyonunu hızlandırdığı da gösterilmiştir (5,6,7,8,87,88,89).

## 2.4.3 Nimodipin

Nimodipin, bir dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokeridir (Resim 8). Oral alımı takiben tama yakın absorbe olur. Plazma proteinlerine yüksek oranlarda bağlanır ve karaciğerde ilk geçiş etkisine uğrar. Metabolitleri inaktiftir. Hepatik sirozda yarı ömürleri uzar. Yağda çözünür olması nedeniyle nimodipin, kan-beyin bariyerini geçer ve subaraknoid kanama sonrası, vazospazma bağlı nörolojik kayıpların tedavisinde etkilidir. Subaraknoid kanama sonrası erken dönemde (ilk 96 saat) başlanmalıdır. Yaygın vazodilatasyona bağlı baş ağrısı, yüzde kızarma, baş dönmesi, periferik ödem ve pulmoner ödem gibi yan etkileri vardır.



**Resim 8:** Nimodipinin kimyasal yapısı

### 3 GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındıktan sonra Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi ve Deney Hayvanları Ünitesinde Nöroloji ve Anatomi Anabilim Dallarının katkılarıyla yapılmıştır.

Araştırmada cinsiyet farkı gözetmeksizin, 250-300gr ağırlığında, erişkin toplam 44 adet Albino Rat kullanıldı. Ratlar önce hafif ve ağır siyatik sinir travması uygulanan iki gruba ayrıldı. Daha sonra her bir grup kendi içinde nimodipin verilen ve verilmeyen iki alt gruba ayrılarak toplam 4 grup oluşturuldu.

Travmadan 1 ay sonra gruplardaki denekler sakrifiye edilmeksizin siyatik sinirleri elektrofizyolojik, histolojik ve elektron mikroskopik olarak karşılaştırıldı.

#### 3.1 STANDART HAZIRLIK

##### 3.1.1 Anestezi

Denekler, bir gece önceden aç bırakıldı. Deneklerin hepsi tartılıp cerrahi işlemler genel anestezi altında gerçekleştirildi. Bu amaçla deneklere Xylocaine (Rhompun®, %2'lik solüsyon Bayer, İstanbul) 10mg/kg ve ketamin hidroklorür (Ketalar®, %5'lik Solüsyon, Parke-Davis lisansı ile Eczacıbaşı İlaç Sanayi, Levent, İstanbul) 50mg/kg karıştırılarak intramüsküler verildi.

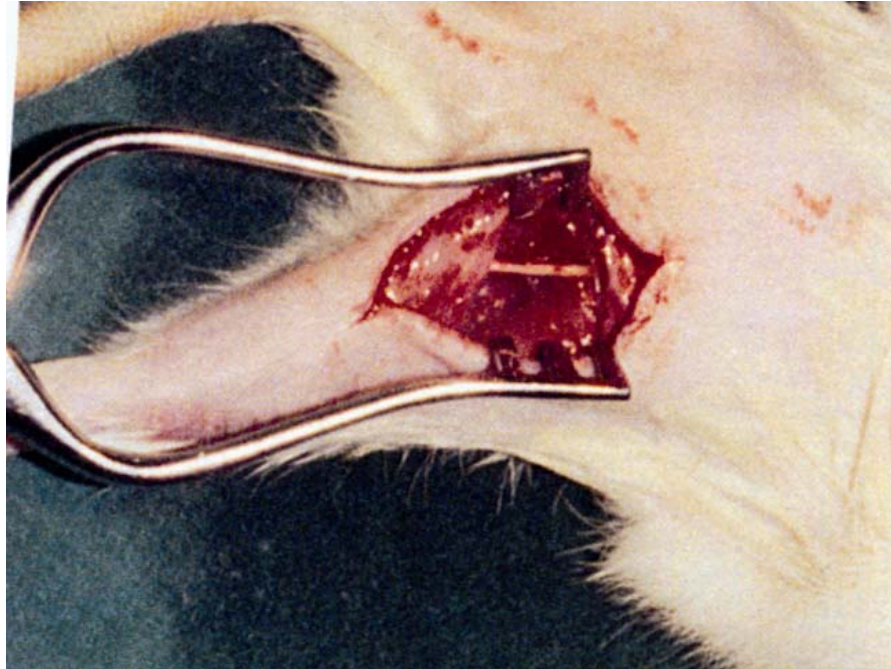
##### 3.1.2 Standart disseksiyon

Anestezi altında ratlar, prone pozisyonunda, dört ekstremitelerinden tespit edilip sacrum ve bacakları tıraş edildi (Resim 9). Polyvinylpyrrolidon iyod (polyod® %10'luk solüsyon, Drogosan İlaç Sanayi, Ankara) ile saha temizliği yapıldıktan sonra ekstremitelere eksenine paralel cilt insizyonu ile cilt-ciltaltı dokusu geçildi. Gluteus maksimus adelesi femoral kemik kenarından insize edilerek flep şeklinde kaldırıldı ve hemen altındaki siyatik sinir ortaya kondu. **Zeis Op-MI99** tipi cerrahi

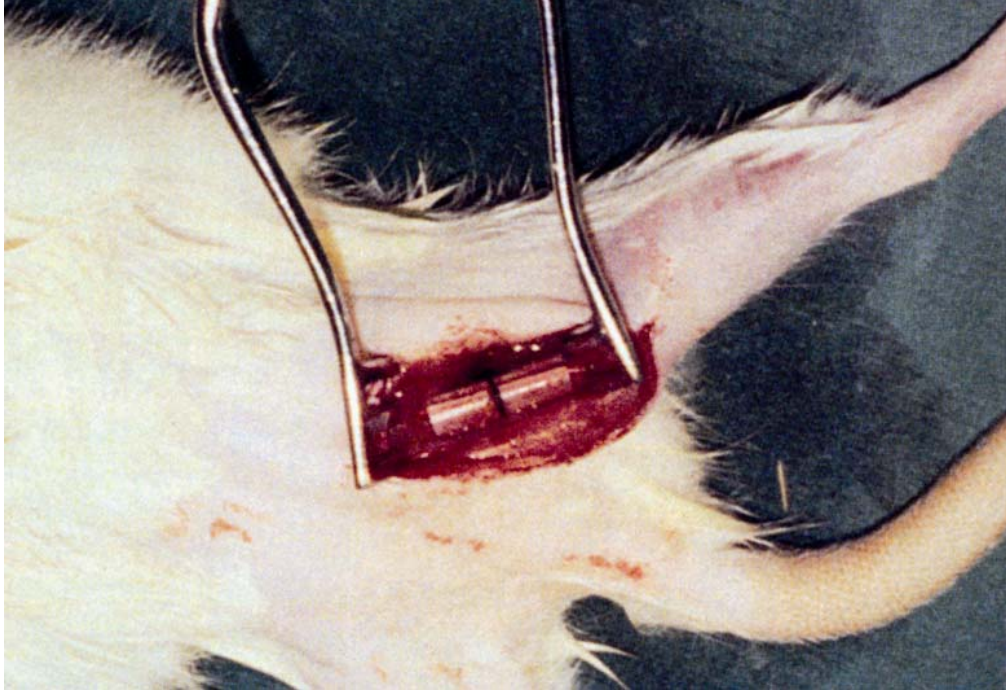
mikroskopu altında, X16 büyütmede, siyatik sinir korunarak çevre dokulardan mikrocerrahi teknikle disseke edildi. Daha sonra sert plastikten hazırlanan, 5mm boyunda tüp içine alındı. Deney boyunca deneklerin ısısı sabit tutuldu ve bu sırada sinirin kurumaması için sinirin üzerine %0.9 NaCl uygulandı. (Resim 10,11,12,13)



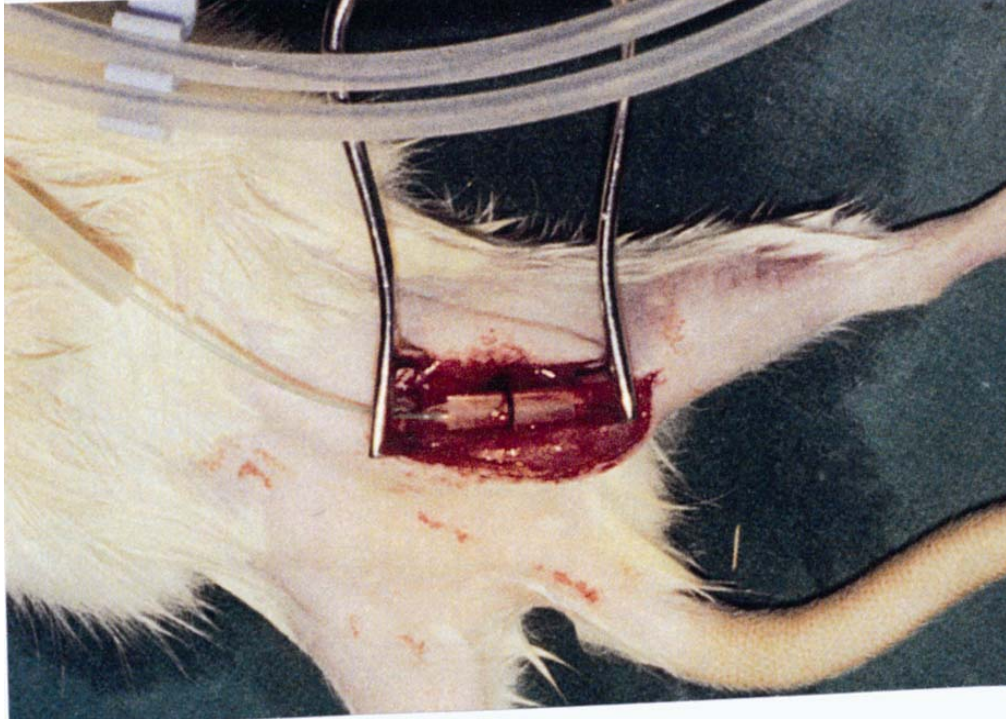
**Resim 9:** Standart hazırlık



**Resim 10:** Siyatik sinir disseksiyonu



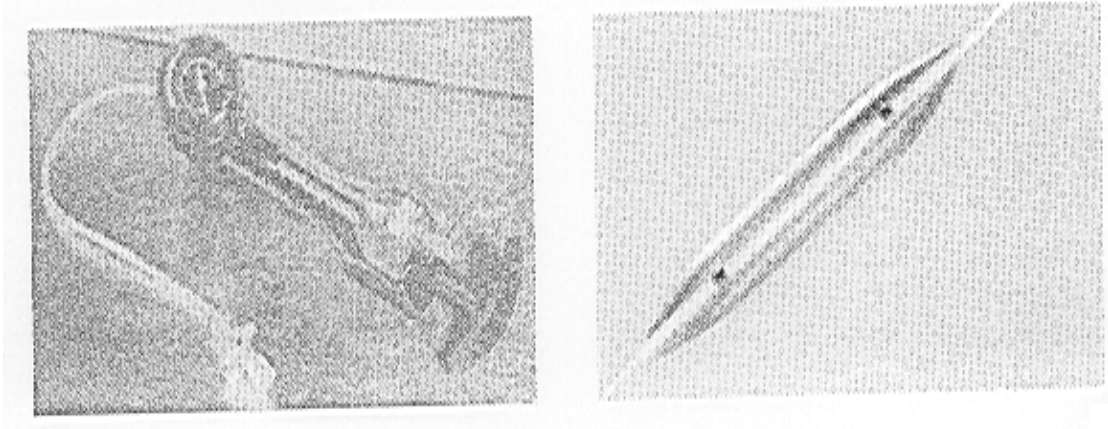
**Resim 11:** Siyatik sinirin tp içine alındıktan sonraki görünümü



**Resim 12:** Tp içine balon yerleştirildikten sonraki görünüm

### 3.1.3 Basınç Cihazı ve Balon dilatasyon katateri

Bu çalışmada, sinir üzerine kontrollü basınç uygulamak için balon anjioplastide kullanılan “**Encor 26 İnflation Device**” ve “**mikro balon katater**”lerinden faydalandı (Resim 13). Bu manometreli enjektörün ve mikro balon kataterin en önemli özelliği basıncı yavaşça artıran ve aniden sonlandıran bir mekanizma ile 0-26 atmosfer arasında basınç oluşturabilmesi ve istenilen basıncı sabit tutabilen bir kilit sisteminin olmasıdır. Bu çalışmada 20mm uzunluk ve 3mm çaptaki mikro balonlar kullanıldı.



**Resim 13:** Encor 26 inflation device ve mikrobalon kateteri.

## 3.2 ÇALIŞMA PROTOKOLÜ

Çalışmada hafif ve şiddetli travma uygulandıktan sonra deneklerin yarısına nimodipin verilerek iki kontrol ve iki deney grubu oluşturuldu (Tablo 1).

**Tablo 1.** Grupların özellikleri ve deneklerin dağılımı

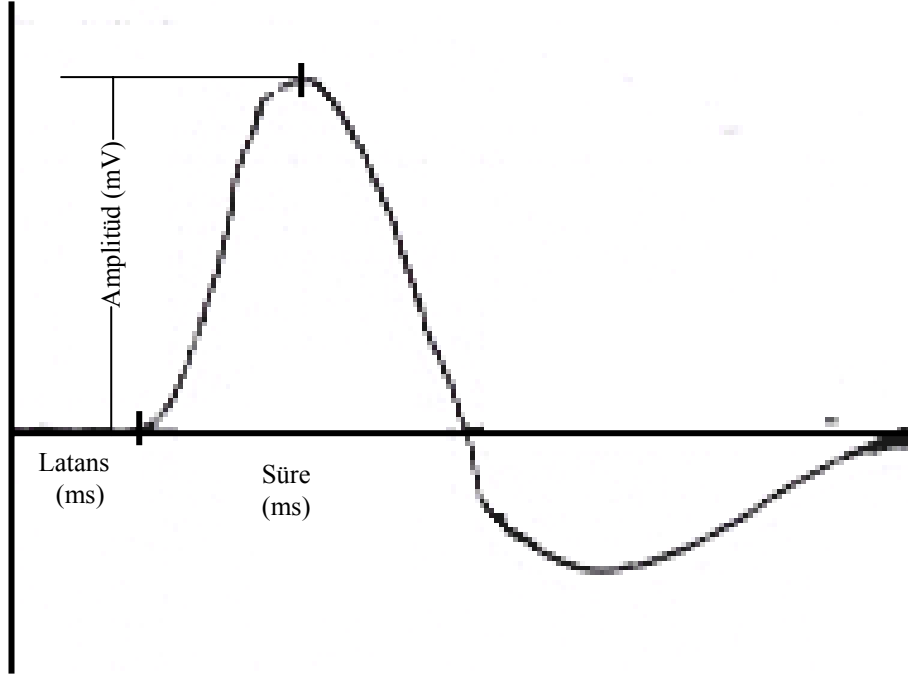
Grup	Basınç	Amplitüdde Düşme	Tedavi
Hafif Travma (n=12)	1 atm	%40-60	-
Hafif Travma + Nimodipin (n=12)	1 atm	%40-60	Nimodipin
Ağır Travma (n=10)	2 atm	%90<	-
Ağır Travma + Nimodipin (n=10)	2 atm	%90<	Nimodipin

### 3.2.1 Gruplar

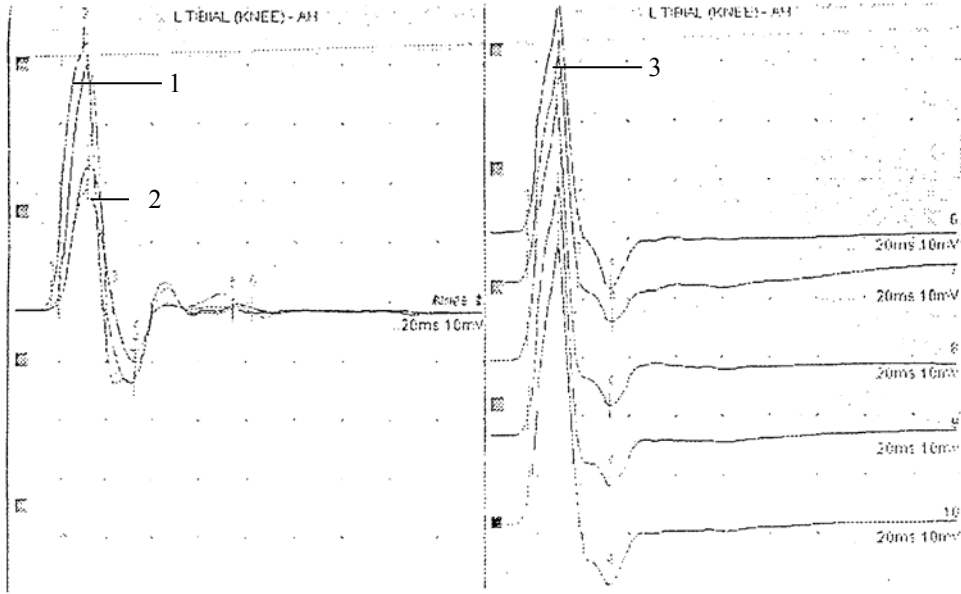
#### 3.2.1.1 Hafif Travma Grubu (n=12)

Hafif travma grubunda, deneklerin siyatik sinirleri standart şekilde disseke edilip sert plastikten hazırlanan, 5mm boyunda bir tüp içine alındı. Daha sonra aynı tüp içine mikro balon yerleştirildi. Basınç uygulanmadan bileşik kas aksiyon potansiyeli (BKAP) kaydedildi (Resim 14). Sinire amplitüdde %40-%60 arası düşme oluncaya kadar, 1 atmosfer basınç uygulanarak hafif tipte perferik sinir lezyonu oluşturuldu. Hafif travma uygulanmış olan bu gruptaki denekler standart gıda ve su ile beslendi. Bir ay sonra tekrar bileşik kas aksiyon potansiyel kayıtları alındı (Resim 15). Grup içinden randomize seçilen bir denegin siyatik siniri eksize edilip elektron mikroskopik olarak incelendi. Doku kesitleri, bası uygulanan bölgeden sinirin aksına dik geçecek şekilde yapıldı (Resim 20).





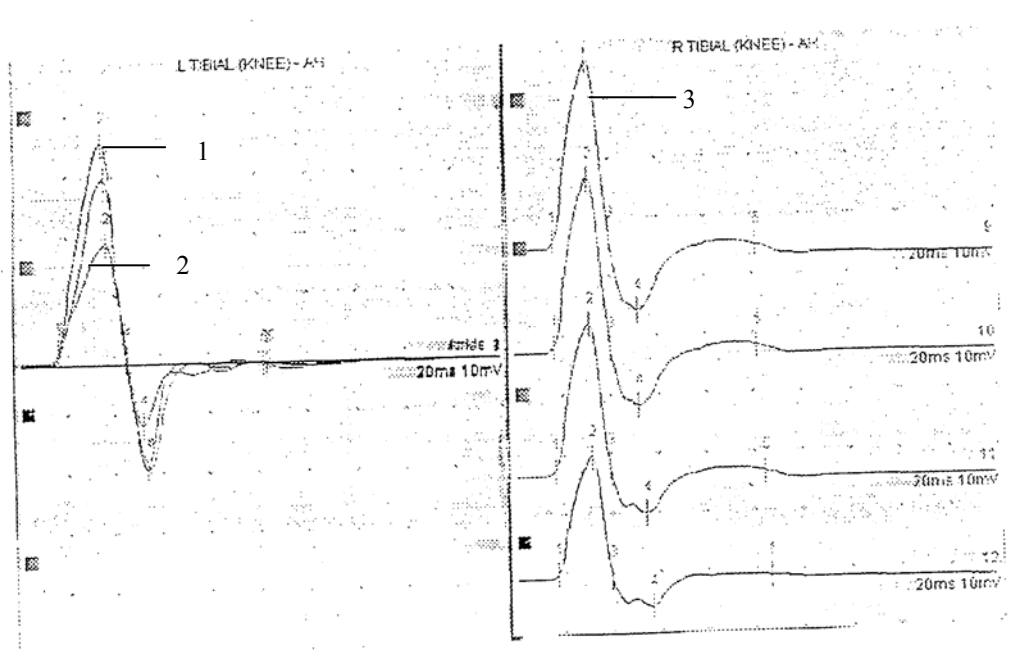
**Resim 14:** Bası öncesi normal bileşik kas aksiyon potansiyelinin görünümü.



**Resim 15:** Hafif travma grubunun bileşik kas aksiyon potansiyeli kayıtlarından bir örnek. (1- Bası öncesi, 2- Basıdan sonra, 3- Tedavi sonrası ampilütüdü)

### 3.2.1.2 Hafif Travma + Nimodipin Grubu (n=12)

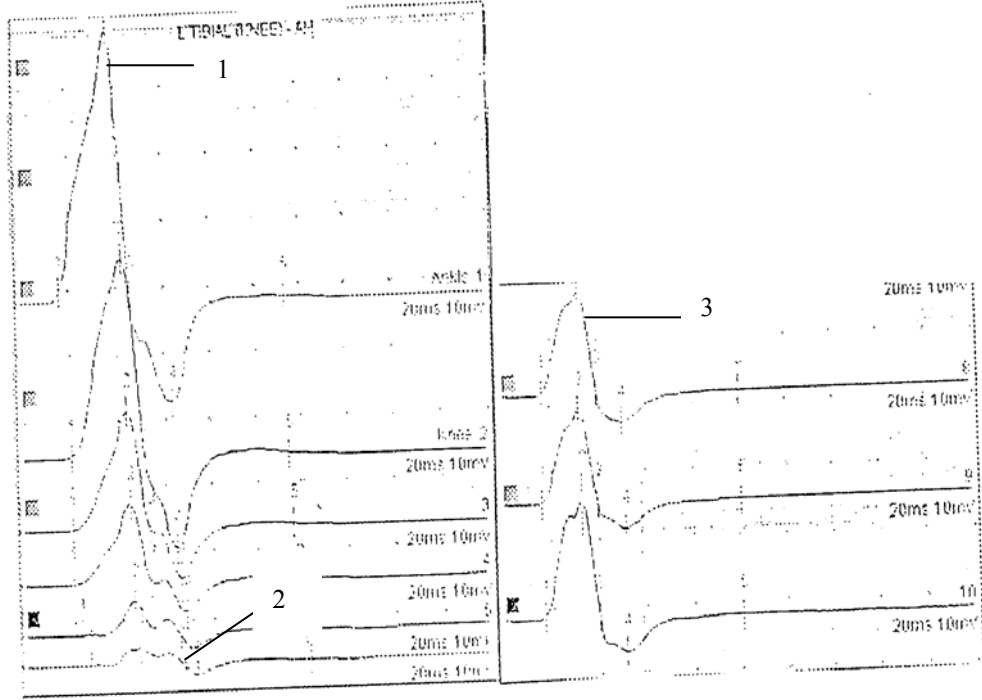
Hafif travma+nimodipin grubunda, deneklerin siyatik sinirleri standart sekide disseke edilip sert plastikten hazırlanan, 5mm boyunda tüp içine alındı. Daha sonra aynı tüp içine mikro balon yerleştirildi. Basınç uygulanmadan bileşik kas aksiyon potansiyeli kaydedildi. Sinire amplitüdde %40-%60 arası düşme oluncaya kadar, 1 atmosfer basınç uygulanarak hafif tipte perferik sinir lezyonu oluşturuldu. Bu gruba, standart gıda ve su yanında, feeding tüp yardımıyla, 15mg/kg/gün nimodipin, 10 gün süreyle oral yoldan verildi. Bir ay sonra tekrar bileşik kas aksiyon potansiyel kayıtları alındı (Resim 16). Grup içinden randomize seçilen bir deneğin siyatik siniri eksize edilip elektron mikroskopik olarak incelendi. Doku kesitleri, bası uygulanan bölgeden sinirin aksına dik geçecek şekilde yapıldı (Resim 21).



**Resim 16:** Hafif travma+nimodipin grubunun bileşik kas aksiyon potansiyeli kayıtlarından bir örnek. (1- Bası öncesi, 2- Basıdan sonra, 3- Tedavi sonrası amplitüdler)

### 3.2.2.3 Ağır Travma Grubu (n=10)

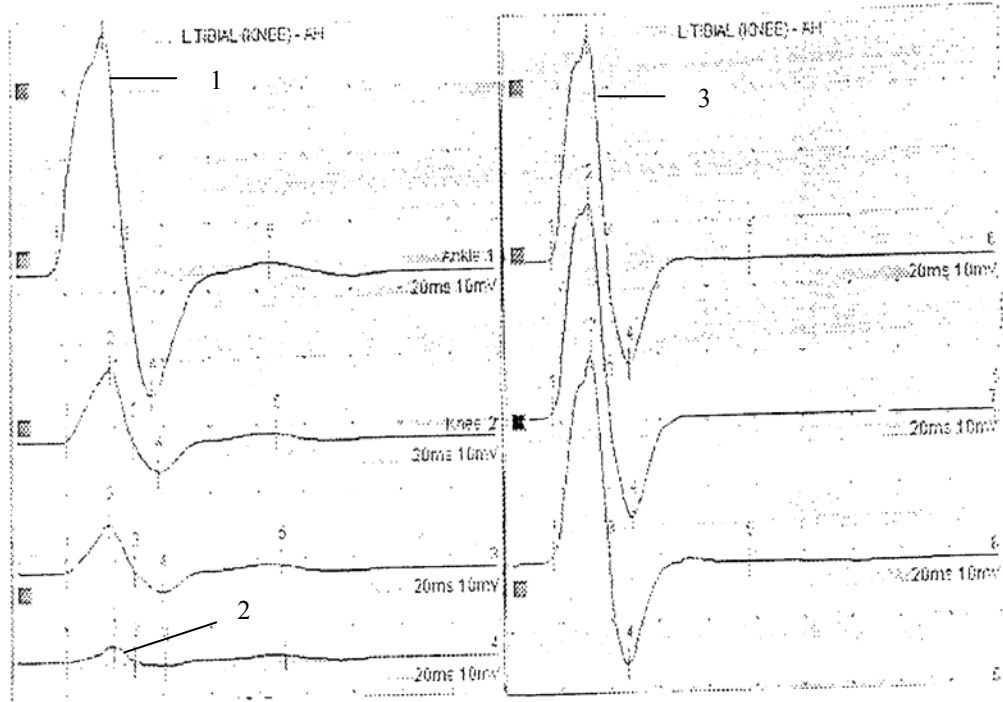
Ağır travma grubunda, deneklerin siyatik sinirleri standart şekilde disseke edilip sert plastikten hazırlanan, 5mm boyunda tüp içine alındı. Daha sonra aynı tüp içine mikro balon yerleştirildi. Basınç uygulanmadan bileşik kas aksiyon potansiyeli kaydedildi. Sinire amplitüdde %90'dan daha fazla düşme oluncaya kadar, 2 atmosfer basınç uygulanarak ağır periferik sinir lezyonu oluşturuldu. Denekler daha sonra standart gıda ve su ile beslendi. Bir ay sonra tekrar bileşik kas aksiyon potansiyel kayıtları alındı (Resim 17). Grup içinden randomize seçilen bir deneğin siyatik siniri eksize edilip elektron mikroskopik olarak incelendi. Doku kesitleri, bası uygulanan bölgeden sinirin aksına dik geçecek şekilde yapıldı (Resim 21).



**Resim 17:** Ağır travma grubunun bileşik kas aksiyon potansiyeli kayıtlarından bir örnek. (1- Bası öncesi, 2- Basıdan sonra, 3- Tedavi sonrası amplitüdler)

### 3.2.1.4 Ağır Travma + Nimodipin Grubu (n=10)

Ağır travma+nimodipin grubunda, deneklerin siyatik sinirleri standart şekilde disseke edilip sert plastikten hazırlanan, 5mm boyunda tüp içine alındı. Daha sonra aynı tüp içine mikro balon yerleştirildi. Basınç uygulanmadan bileşik kas aksiyon potansiyeli kaydedildi. Sinire amplitüde %90'dan daha fazla düşme oluncaya kadar, 2 atmosfer basınç uygulanarak ağır perferik sinir lezyonu oluşturuldu. Bu gruba standart gıda ve su yanında feeding tüp yardımıyla 15mg/kg/gün nimodipin, 10 gün süreyle oral yoldan verildi. Bir ay sonra tekrar bileşik kas aksiyon potansiyel kayıtları alındı (Resim 18). Grup içinden randomize seçilen bir denegin siyatik siniri eksize edilip elektron mikroskopik olarak incelendi. Doku kesitleri, bası uygulanan bölgeden sinirin aksına dik geçecek şekilde yapıldı (Resim 21).



**Resim 18:** Ağır travma+nimodipin grubunun bileşik kas aksiyon potansiyeli kayıtlarından bir örnek. (1- Bası öncesi, 2- Basıdan sonra, 3- Tedavi sonrası amplitütler)

### 3.2.2 Nimodipin

Bu çalışmada kullanılan nimodipin (Nimotop®, Bayer AG Lisansı ile, Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti. İstanbul) ; %5'lik metil selüloz içinde çözülerek ml'de 15mg nimodipin olacak şekilde, günlük taze olarak hazırlandı (90). Plastik feeding tüp yardımıyla, 15mg/kg/gün nimodipin 10 gün süreyle oral yoldan tek doz halinde verildi.

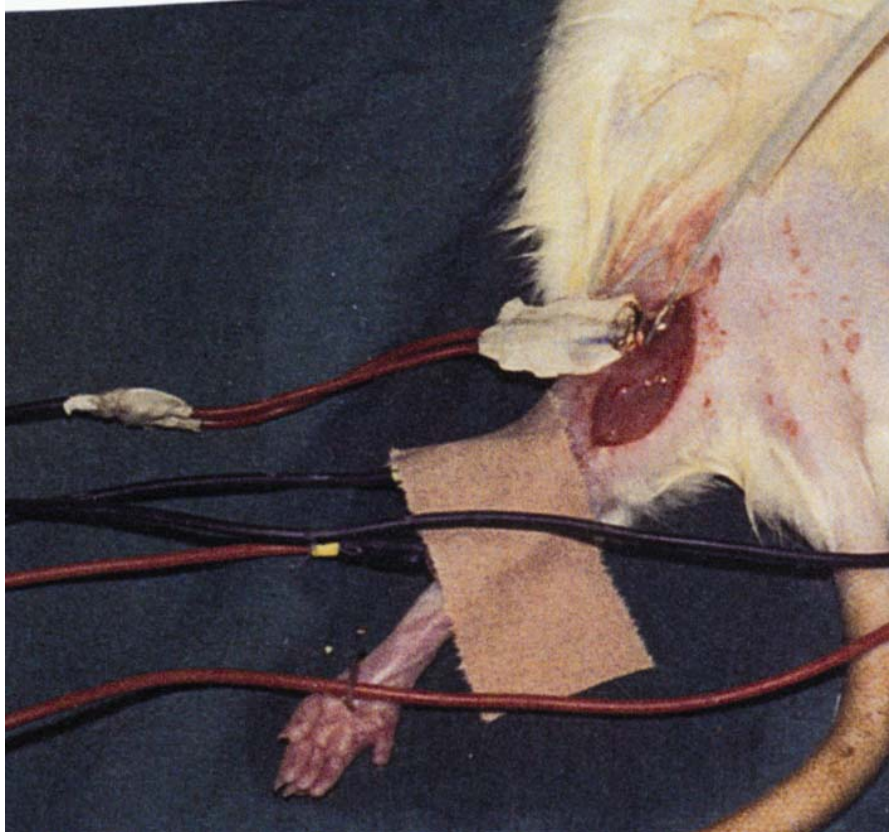
## 3.3 DEĞERLENDİRME

### 3.3.1 Elektrofizyolojik Değerlendirme

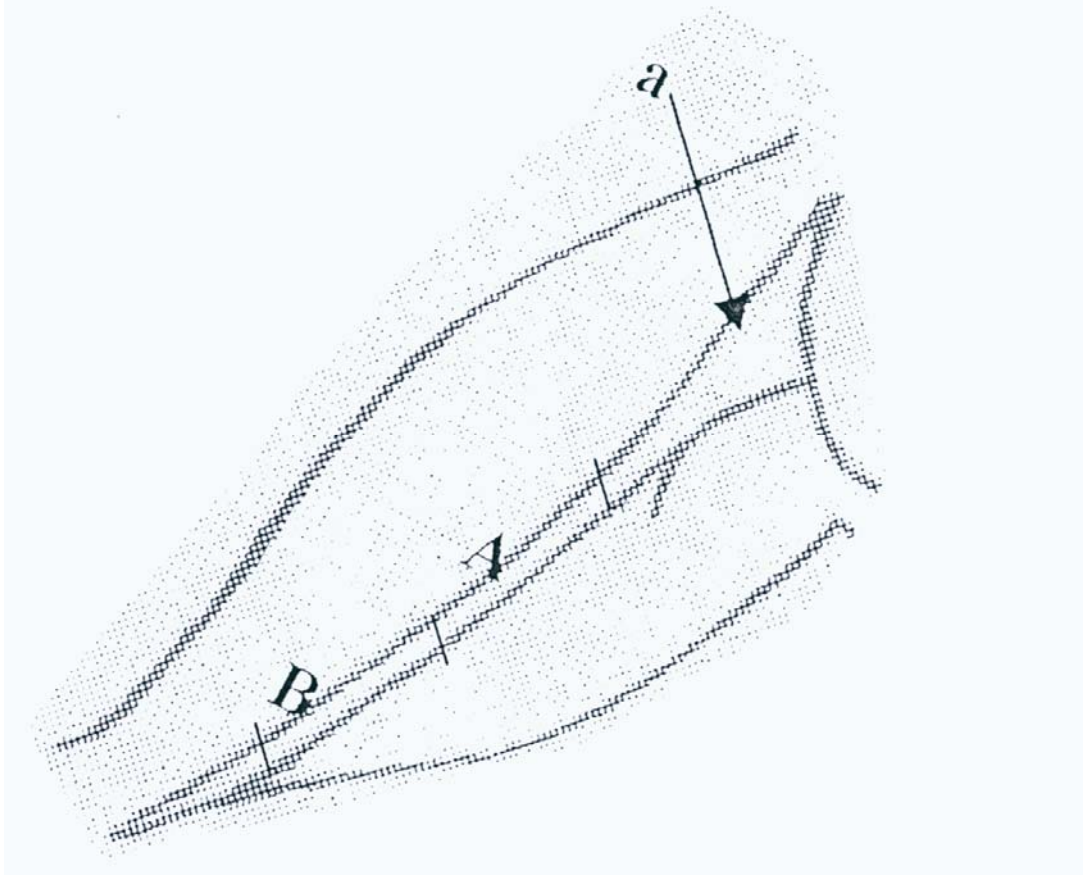
Her bir denekte sinir iletimleri insitu olarak çalışıldı. Elektrofizyolojik kayıtlar **MEDELEC SYNERGY** cihazıyla alındı. Siyatik sinir uyarımı için, aralarında 2mm uzaklık olan termoplastik materyal içine gömülerek uçlarındaki 2mm'lik kısımları dışında izole edilmiş, bipolar tungsten metal elektrotlar, katod distale gelecek şekilde sinirin üzerine yerleştirildi. Kayıtlar, aktif elektrot gastroknemius kasının tam üzerine gelecek şekilde, tüyleri tıraş edilmiş cildin üzerine, referans elektrot ise aynı kasın tendonu üzerine yerleştirilmiş, Ag/AgCl'den yapılan, 1 cm çapında yüzeyel elektrotlarla alındı. Topraklama elektrodu ise tüyleri tıraş edilmiş olan kuyruğun üzerine yerleştirildi. En düşük amplitüdde uyarıyla alınan en yüksek cevap kaydedildi. Uyarılar filtre band aralığı 3Hz-10KHz, 0.1 msn'lik akımla verildi. Bütün deneklere basınç uygulamadan önce uyarı verilerek bileşik kas aksiyon potansiyeli kaydedildi. Elde edilen bileşik kas aksiyon potansiyelinin bazal çizgiden ilk yukarı sapsmasının olduğu yer latans (ms) olarak değerlendirildi. Bileşik kas aksiyon potansiyelinin amplitüdü (mV), süresi (ms) ve alanı (mVms) değerlendirmeye alındı. Hafif travma grubunda amplitüddeki düşme %40-60 arasında oluncaya kadar, şiddetli travma grubunda ise amplitüd %10'un altına düşünceye kadar basınç uygulamaya devam edildi. Bası süresince 30 sn aralıklarla uyarı verilerek bileşik kas aksiyon potansiyeli kayıtları alındı (Resim 14,15,16,17,18,19,20).



**Resim 19:** Medelec synergy cihazı.



**Resim 20:** EMG elektrotlarının yerleştirilmesi.



**Resim 21:** Doku kesitinin alındığı bölgenin şematik görünümü. (a: uyarının verildiği bölüm, A: Bası yapılan ve EM inceleme için alınan bölüm, B: Basının distali)

### 3.3.2 Elektron Mikroskopisi

Çalışmada alınan biopsi materyallerinin 2 mm<sup>3</sup> ebadını aşmamasına ve derhal +4 dercedeki fiksatife konulmasına özen gösterildi. Kullanılan solusyon, Sorenson fosfat tamponuyla (SPB) hazırlanmış %2,5'lik gluteraldehit solusyonu idi. Bu fiksatifte 24 saat kalan dokular, Sorenson tamponuyla 15 dk boyunca 3-4 kez değiştirilerek yıkandı. Kullanılan Sorenson tamponu 1/15 Molar Sodyum fosfat dibazik (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 'den %20 ve 1/15 Molar potasyum fosfat /KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>) %80 oranında karıştırılarak hazırlandı. Sorenson fosfat tamponunun pH'ı 7,38 idi.

Yıkama işleminden sonra dokular %2'lik osmium tetroksitten 1 birim, SPB'den 1 birim karıştırılarak hazırlanan solusyonda 1 saat postfiksasyona alındı. Tekrar Sorenson tamponuyla 15 dk yıkandıktan sonra değişik konsantrasyonlardaki alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi.

Daha sonra gömme amacıyla kullanılan araldit'in dokuya diffüze olması için propilen oksit ve taze araldit karışımlarından geçirildi.

Elde edilen bloklardan **LKB NOVA ultratom** ile önce 1-2 $\mu$ 'luk yarı ince kesitler alındı. Lam üzerinde toluidin mavisi ile boyanan kesitler ışık mikroskobu ile incelendi. Aynı ultratom kullanılarak alınan 60-90 nm kalınlığındaki ince kesitler, uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlandı. İnce kesitler **JEOL JEM 1200 EM** ile incelendi.



## 4. BULGULAR

### 4.1 Elektrofizyolojik Bulgular

#### 4.1.1 Hafif Travma Grubu:

Deneklerin bası öncesi bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitüdü ortalama  $27.09 \pm 5.38$  mV bulundu. Bası sonunda amplitüd ortalama  $12.94 \pm 4.04$  mV (ilk değer %47.77'si) değerine düştü. İlk kayıta elde edilen ortalama değerler: latans  $1.54 \pm 0.22$  ms, süre  $2.91 \pm 0.64$  ms ve alan  $47.56 \pm 12.5$  mVms olarak ölçüldü. Bası sonunda latans ortalama  $1.72 \pm 0.19$  ms (ilk değer %111.68'i), süre ortalama  $2.8 \pm 0.34$  ms (ilk değer %96.22'si) ve alan ortalama  $21.71 \pm 7.31$  mVms (ilkdeğerin %45.65'i) olarak ölçüldü. Amplitüdle birlikte alan azalırken sürenin çokaz kısaldığı ve latanstaki uzamanın ise çokaz olduğu görüldü. Bu grup standart gıda ve su dışında herhangi bir tedavi almadı. Bir ay sonraki kayıtlarda amplitüd  $24.66 \pm 5.24$  mV (ilk değer %91.03'ü), latans  $1.8 \pm 0.18$  ms (ilk değer %116.88'i), süre  $3 \pm 0.82$  ms (ilk değer %103.09'u) ve alan  $42.66 \pm 9.7$  (ilk değer %89.69'u) bulundu (Tablo 2).

**Tablo 2:** Hafif travma grubunun bileşik kas aksiyon potansiyeli değerleri (KO: Bası öncesi, KS: Bası sonrası, TS: Tedavi sonrası KS-KÖ: Bası öncesine göre bası sonrası % olarak değişim, TS-KO: Bası öncesine göre tedavi sonrası % olarak değişim).

	Latans (ms)	Amplitüd (mV)	Süre (ms)	Alan (mVms)
KÖ	$1.54 \pm 0.22$	$27.09 \pm 5.38$	$2.91 \pm 0.64$	$47.56 \pm 12.5$
KS	$1.72 \pm 0.19$	$12.94 \pm 4.04$	$2.8 \pm 0.34$	$21.71 \pm 7.31$
TS	$1.8 \pm 0.18$	$24.66 \pm 5.24$	$3 \pm 0.82$	$42.66 \pm 9.7$

KS-KÖ (%)	+11.68	-52.23	-3.78	-54.35
TS-KÖ (%)	+16.88	-8.97	+3.09	-10.3

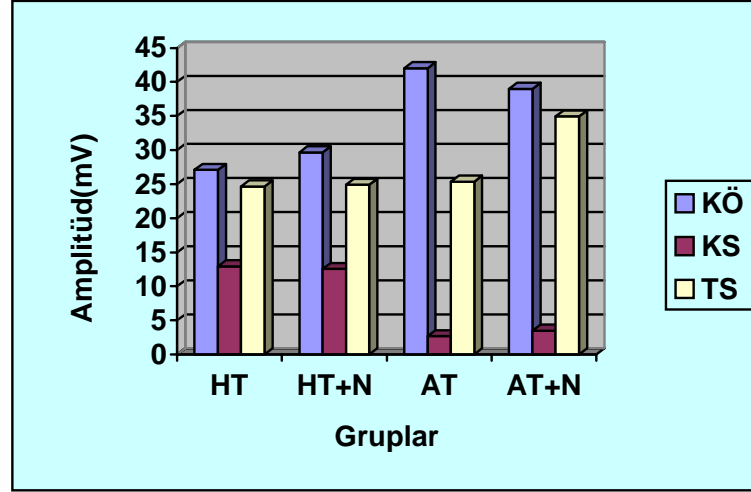
#### 4.1.2 Hafif Travma + Nimodipin Grubu:

Bu grupta deneklerin bası öncesi amplitüdü ortalama  $29.66 \pm 5.46$  mV olarak kaydedildi. Bası sonunda amplitüd ortalama  $12.54 \pm 4.26$  mV (ilk değerın %42.28'i) değerine düştü. İlk kayıta elde edilen ortalama değerler: latans  $1.51 \pm 0.15$  ms, süre  $2.6 \pm 0.46$  ms ve alan  $45.11 \pm 6.27$  mVms olarak ölçüldü. Bası sonunda latans ortalama  $1.69 \pm 0.15$  ms (ilk değerın %111.92'si), süre ortalama  $2.55 \pm 0.49$  ms (ilk değerın %98.07'si) ve alan ortalama  $17.87 \pm 5$  mVms (ilkdeğerın %39.61'i) olarak ölçüldü. Amplitüdle birlikte alan belirgin olarak azalırken latans ve sürenin ise çokaz kısaldığı görüldü. Bu gruptaki denekler standart gıda ve suya ek olarak nimodipin tedavisi aldı. Bir ay sonraki kayıtlarda amplitüd  $24.91 \pm 8.26$  mV (ilk değerın %83.99'u) , latans  $1.69 \pm 0.19$  ms (ilk değerın %111.92'si), süre  $2.75 \pm 0.68$  ms (ilk değerın %105.77'si) ve alan  $37.88 \pm 12.2$  mVms (ilk değerın %83.97'si) bulundu (Tablo 3).

**Tablo 3:** Hafif travma+nimodipin grubunun bileşik kas aksiyon potansiyeli değerleri (KO: Bası öncesi, KS: Bası sonrası, TS: Tedavi sonrası KS-KÖ: Bası öncesine göre bası sonrası % olarak değişim, TS-KO: Bası öncesine göre tedavi sonrası % olarak değişim).

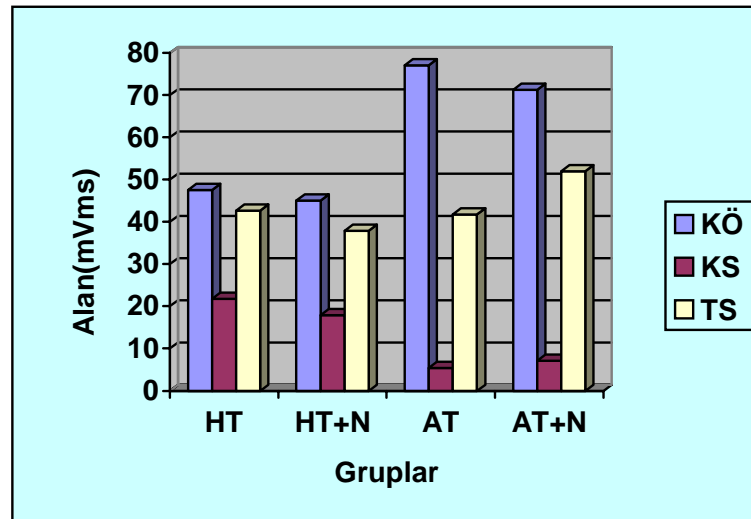
	Latans (ms)	Amplitüd (mV)	Süre (ms)	Alan (mVms)
KÖ	$1.51 \pm 0.15$	$29.66 \pm 5.46$	$2.6 \pm 0.46$	$45.11 \pm 6.27$
KS	$1.69 \pm 0.15$	$12.54 \pm 4.260$	$2.55 \pm 0.49$	$17.87 \pm 5$
TS	$1.69 \pm 0.19$	$24.91 \pm 8.66$	$2.75 \pm 0.68$	$37.88 \pm 12.2$
KS-KÖ (%)	-11.92	-57,72	-1.92	-60,39
TS-KÖ (%)	-11.92	-16	+5.77	-16.03

Hafif travma grubu ve hafif travma + nimodipin grubu Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Bası öncesi, amplitüd ( $p=0.198$ ), latans ( $p=0.47$ ), süre ( $p=0.112$ ) ve alanda ( $p=0.783$ ) istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Bası sonunda da, amplitüd ( $p=1$ ), latans ( $p=0.576$ ), süre ( $p=0.093$ ) ve

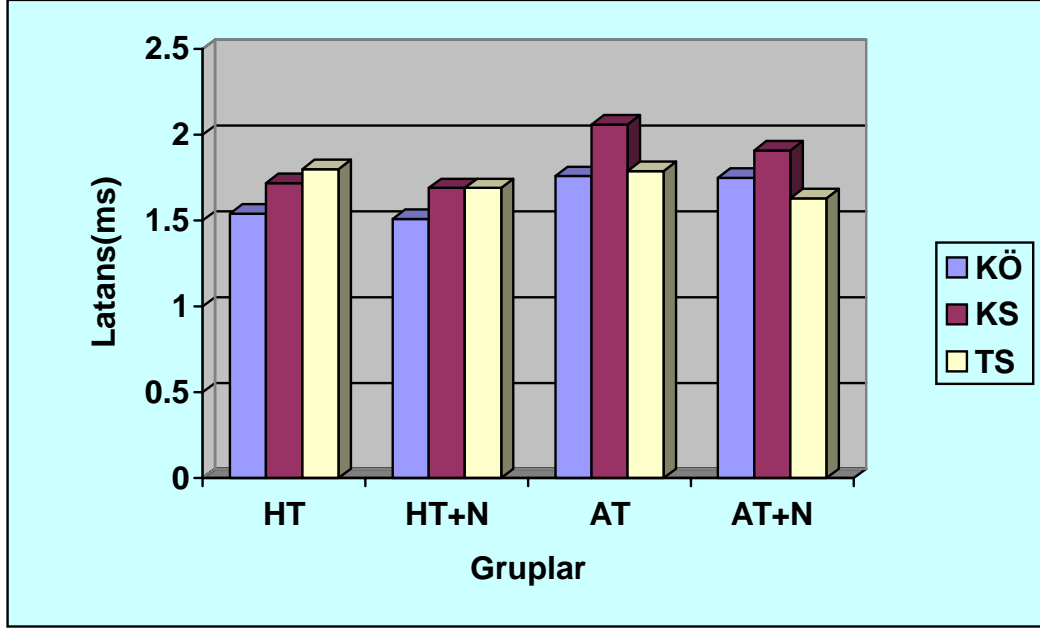


alanda ( $p=0.108$ ) istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. Bir ay sonraki kayıtlar karşılaştırıldığında da amplitüd ( $p=0.836$ ), latans ( $p=0.081$ ), süre ( $p=0.408$ ) ve alanda ( $p=0.291$ ), istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Grafik 1,2,3,4).

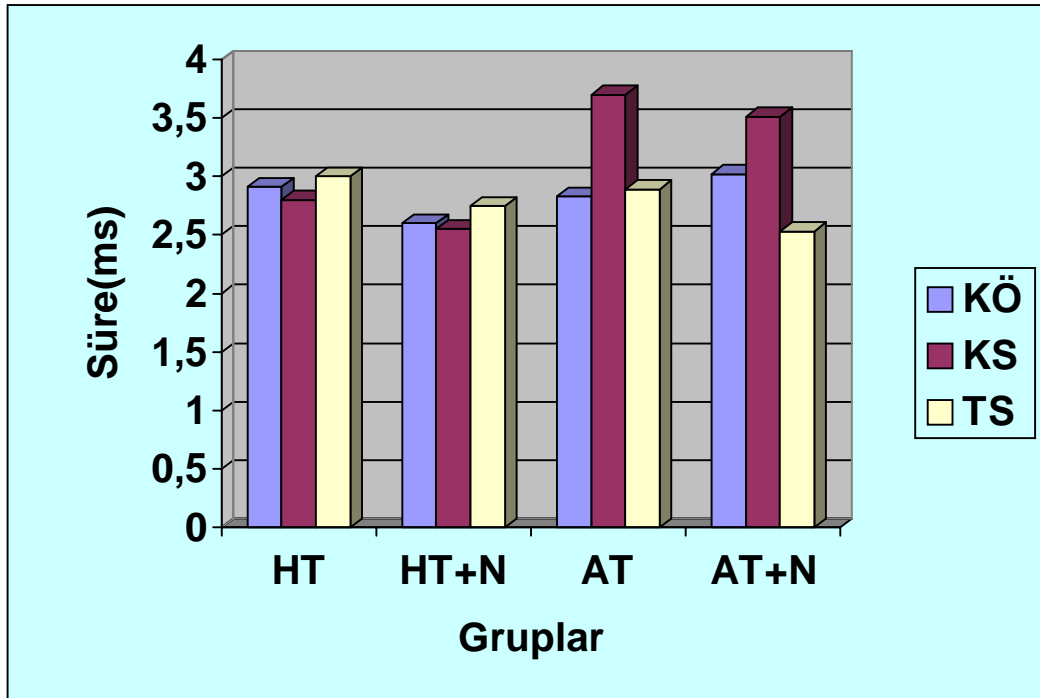
**Grafik 1:** BKAP amplitüdlerinin karşılaştırılması (KÖ: Bası öncesi, KS: Bası sonrası, TS: Tedavi sonrası, HT: Hafif travma grubu, HT+N: Hafif travma+nimodipin grubu, AT: Ağır travma grubu, AT+N: Ağır travma + nimodipin grubu).



**Grafik 2:** BKAP alanlarının karşılaştırılması (KÖ: Bası öncesi, KS: Bası sonrası, TS: Tedavi sonrası, HT: Hafif travma grubu, HT+N: Hafif travma+nimodipin grubu, AT: Ağır travma grubu, AT+N: Ağır travma + nimodipin grubu).



**Grafik 3:** BKAP Latanslarının karşılaştırılması (KÖ: Bası öncesi, KS: Bası sonrası, TS: Tedavi sonrası, HT: Hafif travma grubu, HT+N: Hafif travma+nimodipin grubu, AT: Ağır travma grubu, AT+N: Ağır travma + nimodipin grubu).



**Grafik 4:** BKAP sürelerinin karşılaştırılması (KÖ: Bası öncesi, KS: Bası sonrası, TS: Tedavi sonrası, HT: Hafif travma grubu, HT+N: Hafif travma+nimodipin grubu, AT: Ağır travma grubu, AT+N: Ağır travma + nimodipin grubu).

#### 4.1.3 Ağır Travma grubu:

Bu gruptaki deneklerde bası öncesi bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitüdü ortalama olarak  $42.01 \pm 4.25$  mV kaydedildi. Bası sonunda amplitüd ortalama  $2.66 \pm 1.21$  mV (ilk değer %6.33'ü) değerine düştü. İlk kayıttan elde edilen ortalama değerler: latans  $1.76 \pm 0.15$  ms, süre  $2.83 \pm 0.39$  ms ve alan  $77.06 \pm 13$  mVms olarak ölçüldü. Bası sonunda latans ortalama  $2.06 \pm 0.42$  ms (ilk değer %117.04'ü), süre ortalama  $3.7 \pm 0.8$  ms (ilk değer %130.74'ü) ve alan ortalama  $5.4 \pm 2.74$  mVms (ilkdeğerin %7'si) olarak ölçüldü. Amplitüdle birlikte alan azalırken, latans ve sürede uzama olduğu görüldü. Bu gruptaki denekler standart gıda ve su dışında herhangi bir tedavi almadı. Bir ay sonraki kayıtlarda amplitüd  $25.36 \pm 6.84$  mV (ilk değer %60.36'si) , latans  $1.79 \pm 0.15$  ms (ilk değer %101.7'si), süre  $2.89 \pm 0.64$  ms (ilk değer %102.12'si) ve alan  $41.76 \pm 13.91$  mVms (ilk değer %54.19'u) bulundu (Tablo 4).

**Tablo 4:** Ağır travma grubunun bileşik kas aksiyon potansiyeli değerleri (KO: Bası öncesi, KS: Bası sonrası, TS: Tedavi sonrası, KS-KÖ: Bası öncesine göre bası sonrası % olarak değişim, TS-KO: Bası öncesine göre tedavi sonrası % olarak değişim).

	Latans (ms)	Amplitüd (mV)	Süre (ms)	Alan (mVms)
KÖ	$1.76 \pm 0.15$	$42.01 \pm 4.25$	$2.83 \pm 0.39$	$77.06 \pm 13$
KS	$2.06 \pm 0.42$	$2.66 \pm 1.21$	$3.7 \pm 0.8$	$5.4 \pm 2.74$
TS	$1.79 \pm 0.15$	$25.36 \pm 6.84$	$2.89 \pm 0.64$	$41.76 \pm 13.91$

KS-KÖ (%)	+17.05	-93.67	+30.74	-92.99
TS-KÖ (%)	+1.7	-39.63	+2.12	-45.81

#### 4.1.4 Ağır Travma + Nimodipin Grubu:

Deneklerin bası öncesi bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitüdü ortalama  $38.97 \pm 3.6 \text{mV}$  olarak kaydedildi. Bası sonunda amplitüd ortalama  $3.47 \pm 1.7 \text{mV}$  (ilk değer %8.9'u) değerine düştü. İlk kayıta elde edilen ortalama değerler: latans  $1.75 \pm 0.1 \text{ms}$ , süre  $3.02 \pm 0.18 \text{ms}$  ve alan  $71.3 \pm 12.04 \text{mVms}$  olarak ölçüldü. Bası sonunda latans ortalama  $1.91 \pm 0.19 \text{ms}$  (ilk değer %109.14'ü), süre ortalama  $3.51 \pm 0.54 \text{ms}$  (ilk değer %116.23'ü) ve alan ortalama  $7.07 \pm 5.06 \text{mVms}$  (ilkdeğerin %9.92'si) olarak ölçüldü. Amplitüdle birlikte alan belirgin olarak azalırken latans ve sürenin bir miktar uzadığı görüldü. Bu gruptaki deneklere standart gıda ve suya ek olarak nimodipin tedavisi verildi. Bir ay sonraki kayıtlarda amplitüd  $34.94 \pm 5.93 \text{mV}$  (ilk değer %89.66'si), latans  $1.63 \pm 0.13 \text{ms}$  (ilk değer %93.14'ü), süre  $2.53 \pm 0.23 \text{ms}$  (ilk değer %83.77'si) ve alan  $52.04 \pm 8.37 \text{mVms}$  (ilk değer %73.23'ü) bulundu (Tablo 5).

**Tablo 5:** Ağır travma+nimodipin grubunun bileşik kas aksiyon potansiyeli değerleri (KO: Bası öncesi, KS: Bası sonrası, TS: Tedavi sonrası KS-KÖ: Bası öncesine göre bası sonrası % olarak değişim, TS-KO: Bası öncesine göre tedavi sonrası % olarak değişim).

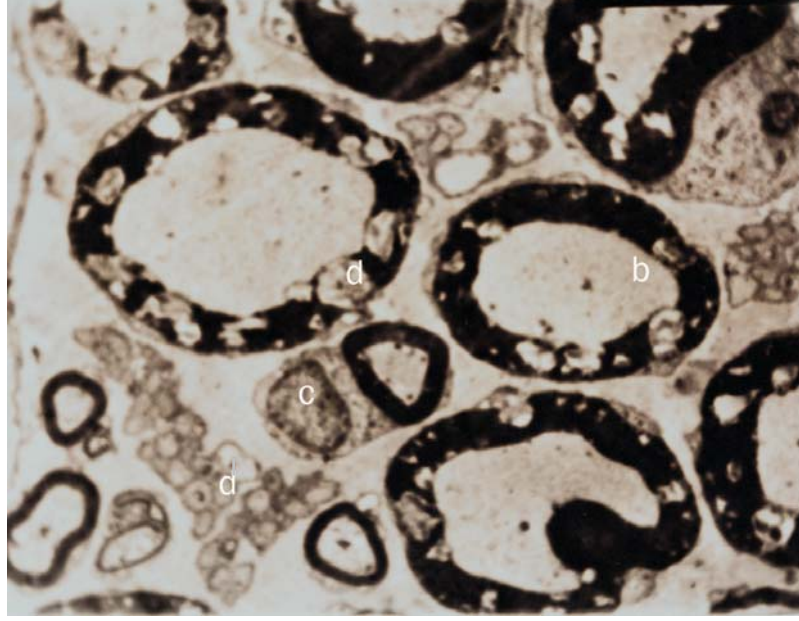
	Latans (ms)	Amplitüd (mV)	Süre (ms)	Alan (mVms)
KÖ	$1.75 \pm 0.1$	$38.97 \pm 3.67$	$3.02 \pm 0.18$	$71.3 \pm 12.04$
KS	$1.91 \pm 0.19$	$3.47 \pm 1.7$	$3.51 \pm 0.54$	$7.07 \pm 5.06$

TS	1.63±0.13	34.94±5.93	2.53±0.23	52.04±8.37
KS-KÖ (%)	+9.14	-91.1	+16.23	-90.08
TS-KÖ (%)	-6.86	-10.34	-16.23	-27.01

Ağır travma grubu ve ağır travma+nimodipin grubu Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Bası öncesi, amplitüd ( $p=0.198$ ), latans ( $p=0.76$ ), süre ( $p=0.208$ ) ve alanda ( $p=0.257$ ) istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Bası sonunda da, amplitüd ( $p=0.225$ ), latans ( $p=0.357$ ), süre ( $p=0.85$ ) ve alanda ( $p=0.344$ ), istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. Bir ay sonraki kayıtlar karşılaştırıldığında; ağır travma+nimodipin grubunun amplitüdü, ağır travma grubunun amplitüdünden ( $p=0.008$ ) belirgin olarak daha yüksek bulundu. Ayrıca ağır travma+nimodipin grubunun latansı, ağır travma grubunun latansından ( $p=0.022$ ) istatistiksel olarak anlamlı oranda daha kısa kaydedildi. Süre ( $p=0.183$ ) ve alanda ( $p=0.076$ ), istatistiksel olarak anlamlı fark olmamakla birlikte; ağır travma grubuna göre ağır travma+nimodipin grubunun bileşik kas aksiyon potansiyeli alanın daha geniş ve süresinin daha kısa olduğu görüldü (Grafik 1,2,3,4).

#### 4.2 Elektron Mikroskopi Bulguları

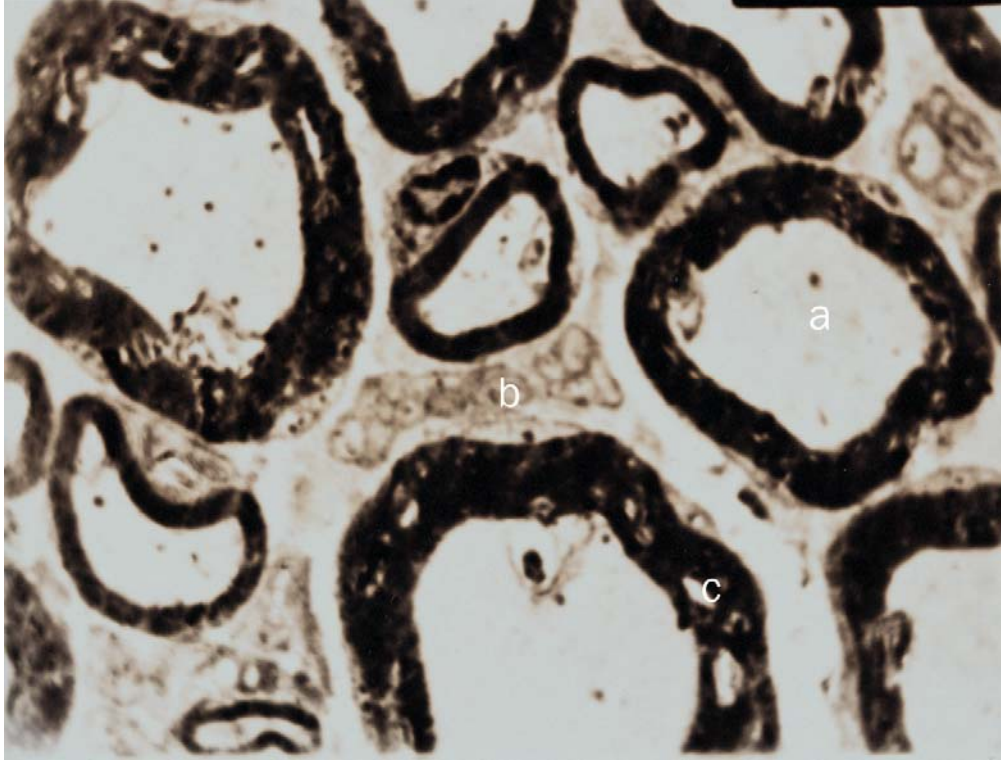
**Hafif travma grubu:** Yapılan TEM incelemelerinde myelinsiz ve myelinli aksonların sayılarında bir azalma saptanmadı. Kesit alanında normal myelinli ve myelinsiz aksonlar yanında ara sıra Schwann hücrelerine rastlanmaktaydı. Hiçbir kesitte patolojik bir bulgu gözlenmedi (Resim 22).



**Resim 22 :** Hafif travma grubunun elektron mikroskopik görünümü (a-Myelinsiz aksonlar, b-Myelinli akson, c-Schwan hücresi, d-Fiksasyon artefaktları).

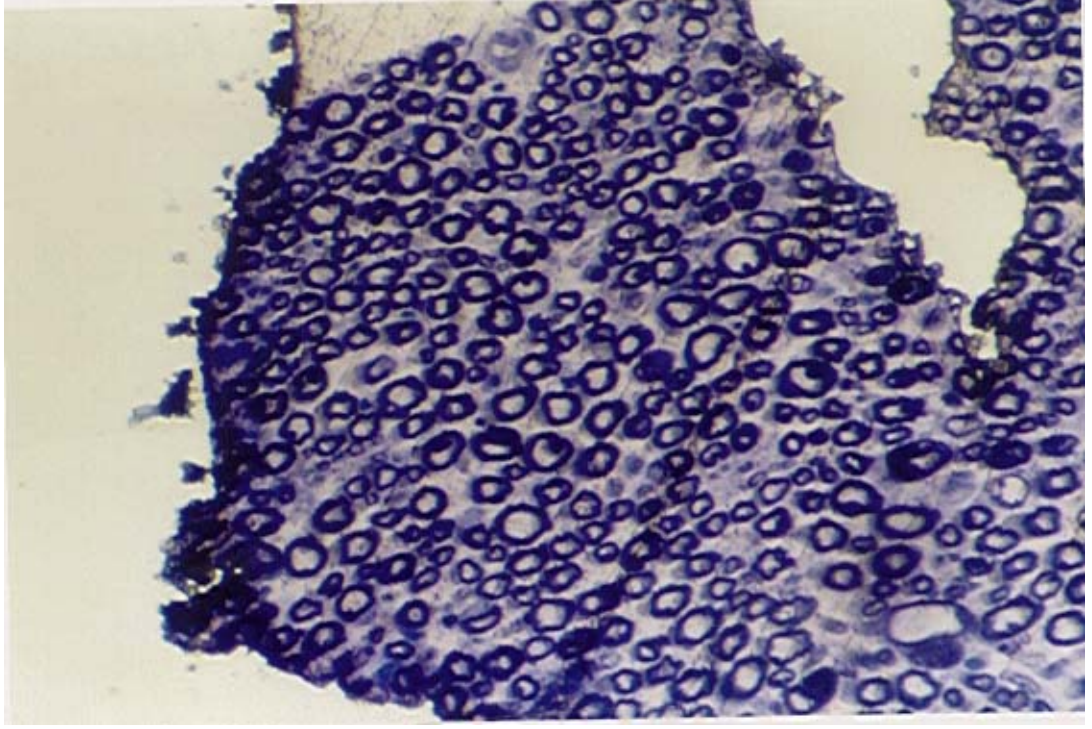
**Haif travma+ nimodipin grubu:** Bu grubun TEM incelemelerinde myelinli ve myelinsiz aksonların sayılarında bir azalma saptanmadı. Akson çapları ve myelin yapısı normal olup kesitlerde hiçbir patolojik bir bulgu gözlenmedi (Resim 23).





**Resim 23:** Hafif travma+nimodipin grubunun elektron mikroskopik görünümü (a-Myelinli akson, b-Myelinsiz aksonlar, c-Fiksasyon artefaktları).

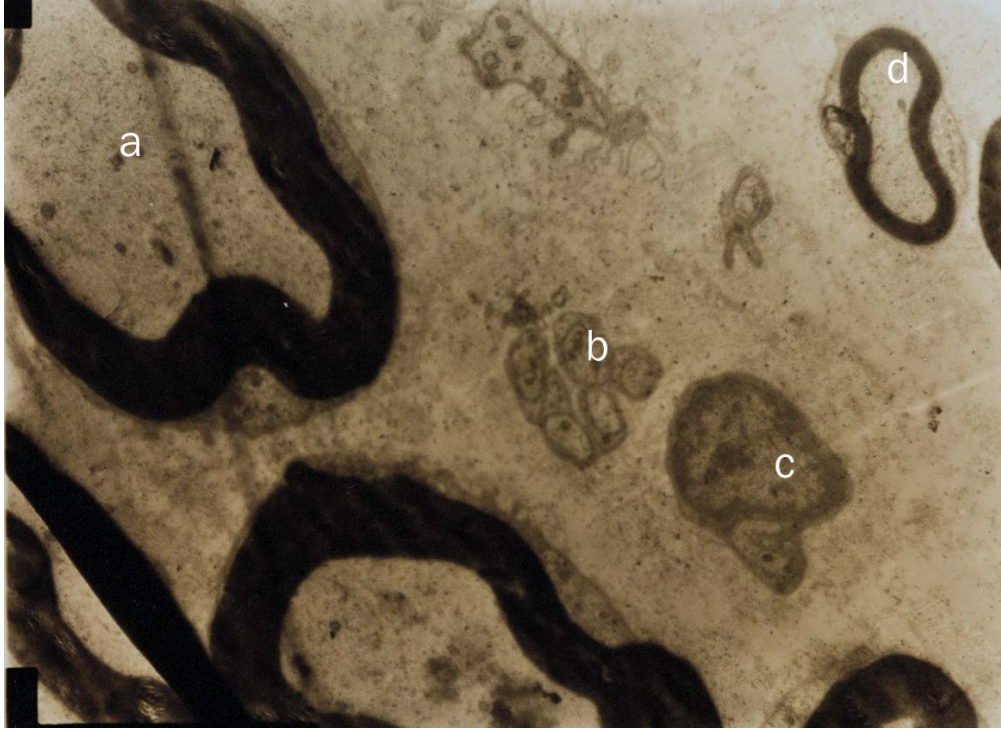
**Ağır travma grubu:** Ağır travma grubunun yapılan TEM incelemelerinde henüz rejenerasyonun tamamlanmadığını gösteren, aksonların sayılarında azalma, yoğun myelin debris, demyelinize aksonlar, myelinlenmeye yeni başlamış aksonlar ve henüz myelin kılıf oluşturmamış Schwann hücrelerine rastlandı (Resim 24,25,26,27,28,29).



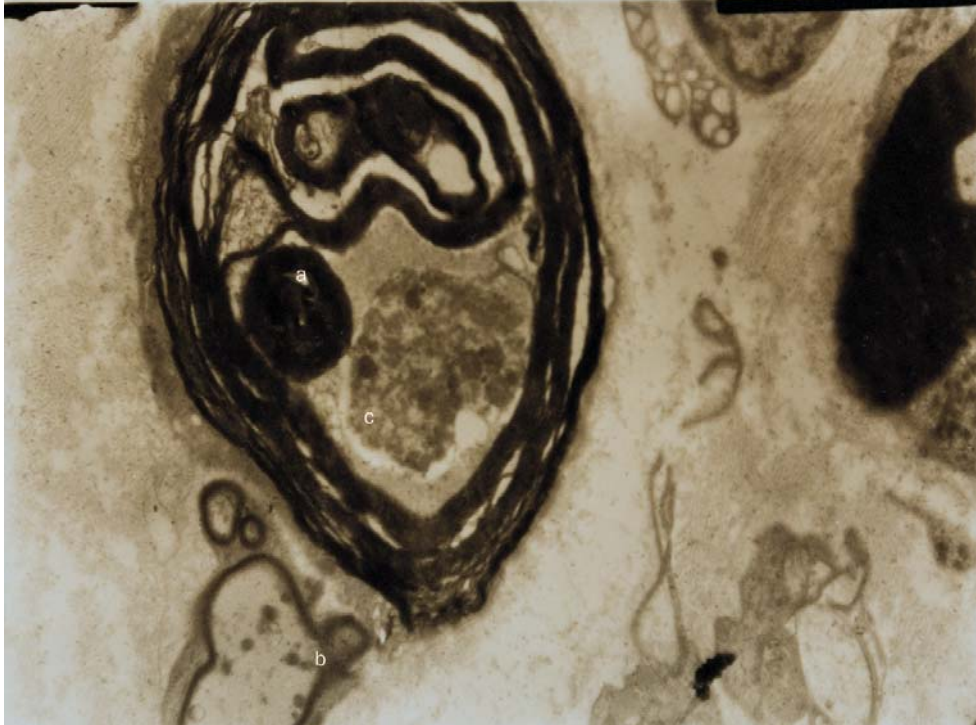
**Resim 24:** Ağır travma grubunun yarı ince kesiti, aksonlarda belirgin seyrelme dikkati çekmektedir.



**Resim 25:** Ağır travma grubunun elektron mikroskopik görünümü (a-Myelinlenmekte olan bir akson, b-myelin debris).



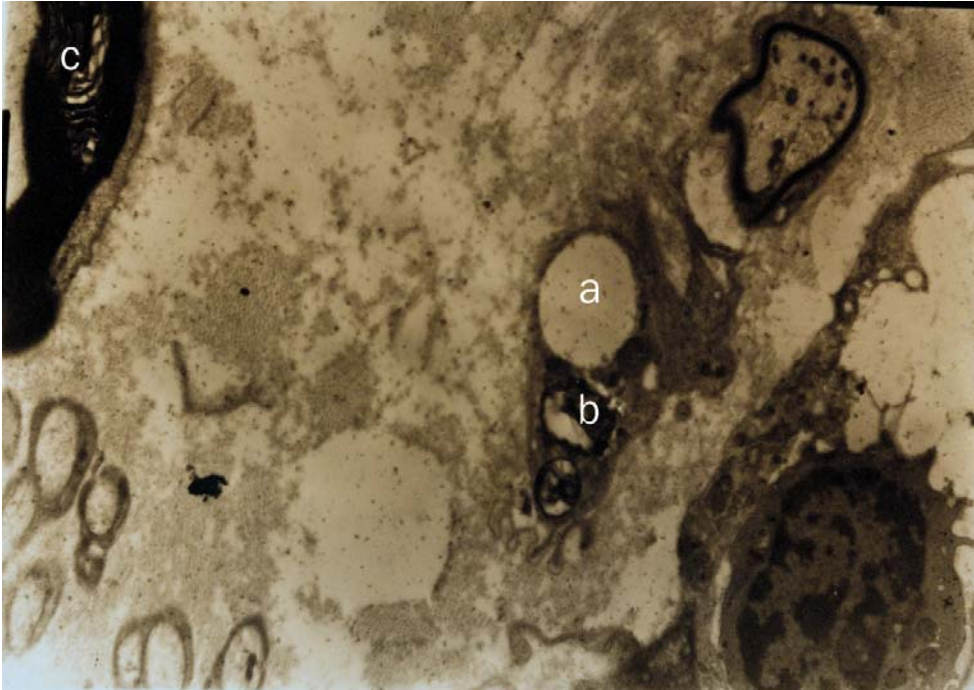
**Resim 26:** Ağır travma grubunun elektron mikroskopik görünümü (a-Myelinli akson, b-Myelinsiz aksonlar, c-henüz myelin sentezlememiş Schwann hücresi, d-Remyelinize Akson).



**Resim 27:** Ağır travma grubunun elektron mikroskopik görünümü (a-Yogun myelin debris birikimi ve miyelin infoldingi, b-Myelinlenmekte olan bir akson, c- Kenara itilmiş akson)

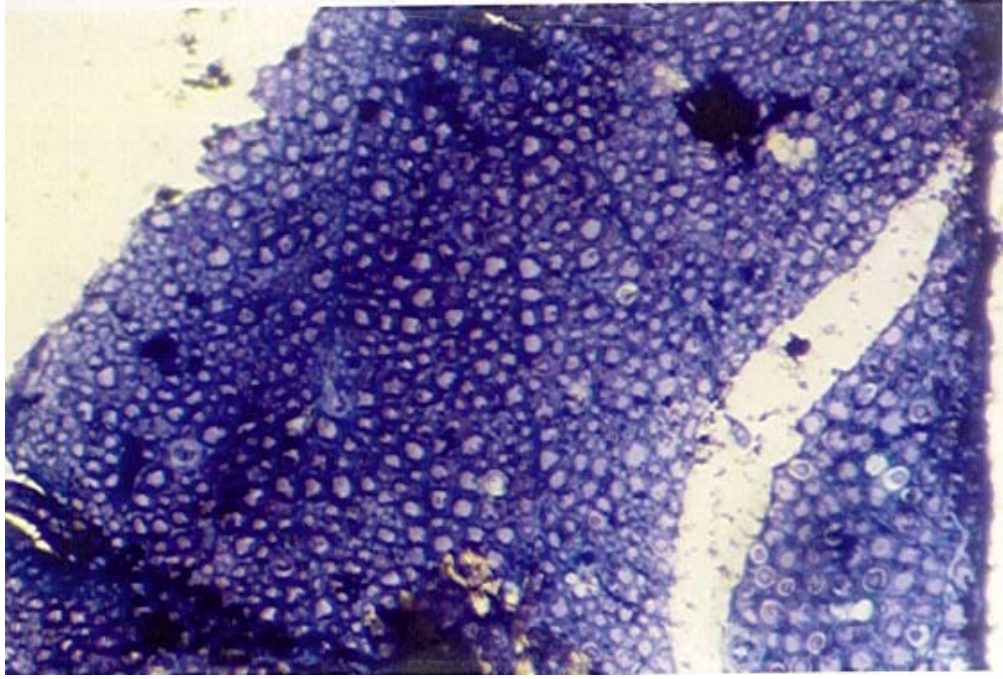


**Resim 28:** Ağır travma grubunun elektron mikroskopik görünümü (a-Myelin kılıf b-bol mitokondri içeren Schwann hücre stoplazması).

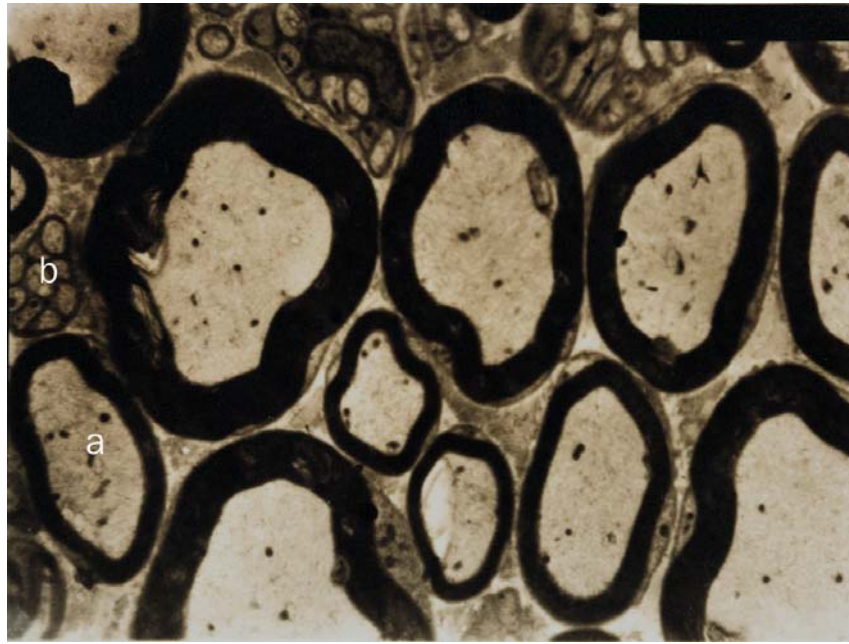


**Resim 29:** Ağır travma grubunun elektron mikroskopik görünümü (a-Demyelinize bir akson, b-myelin debris, c- Myelin kılıfta rüptür).

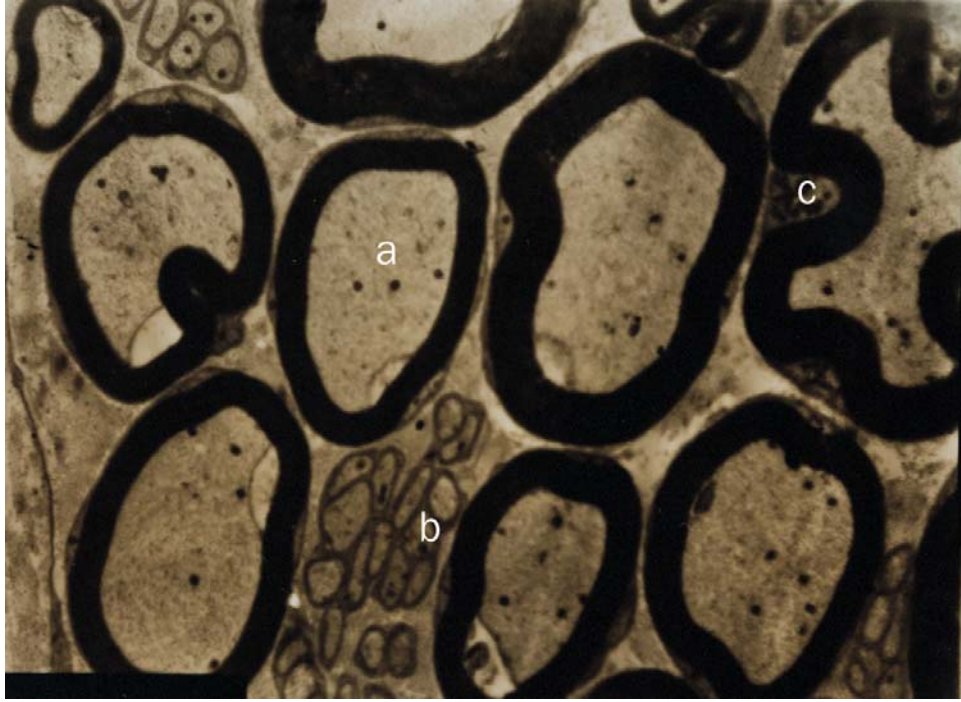
**Ağır travma+ nimodipin grubu:** Bu grubun TEM incelemesinde herhangi bir patolojik bulgu saptanmadı. Myelinli ve myelinsiz aksonların sayılarında azalma yoktu. Aksonların myelinlenmeleri normal olup nadiren myelin debris izlenmekteydi (Resim 30,31,32,33).



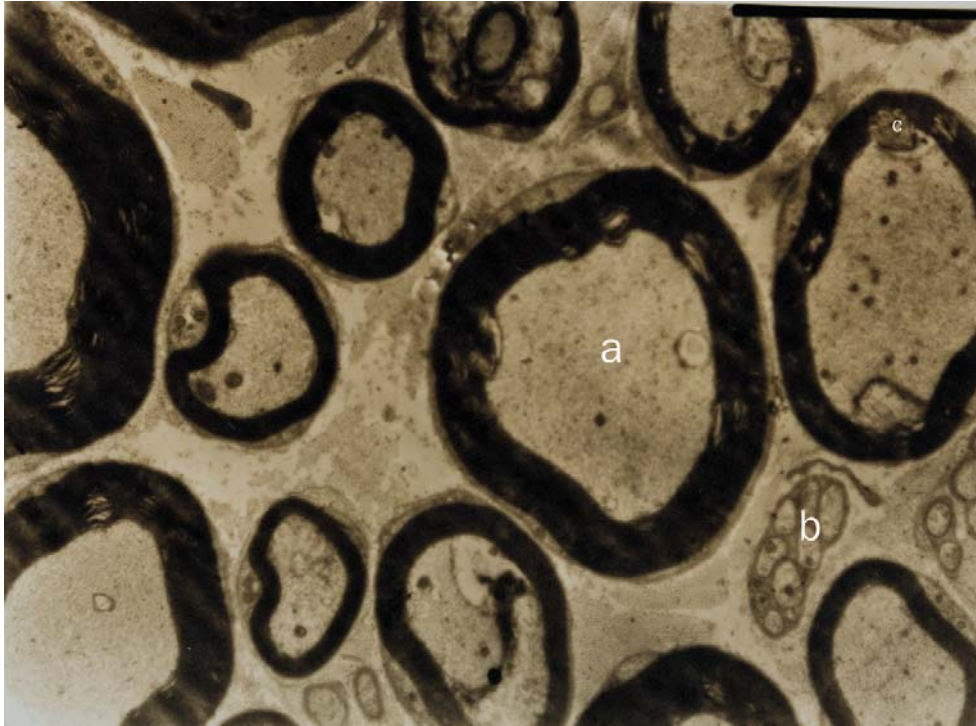
**Resim 30:** Ağır travma+nimodipin grubunun yarı ince kesitinin görünümü, aksonların yoğunluğu dikkati çekmektedir.



**Resim 31:** Ağır travma+nimodipin grubunun elektron mikroskopik görünümü (a-Myelinli akson b-myelinsiz aksonlar).



**Resim 32:** Ağır travma+nimodipin grubunun elektron mikroskopik görünümü (a-Myelinli akson, b-myelinsiz aksonlar, c-bol mitokondri içeren Schwann hücre stoplazması).



**Resim 33:** Ağır travma+nimodipin grubunun elektron mikroskopik görünümü (a-Myelinli akson, b-myelinsiz aksonlar, c-myelin debris).

## 5 TARTIŞMA

Periferik sinir nöropatileri edinsel ve kalıtsal olmak üzere ikiye ayrılır. Klinikte daha çok edinsel nöropati ile karşılaşılır. Cumartesi gecesi felci, uzun kemik kırıklarının tedavisi sırasında aşırı germeyeyle gelişen paraliziler ve hemodializ hastalarının üremik nöropatisi ve yine bu hastalıklarda arteriovenöz şanta bağlı olarak gelişen iskemik nöropatiler en sık görülen nöropati nedenleridir (91). Acil trakeal entübasyon yapılan hastaların bir kısmında daha sonra N. Laryngeus Superior'un iç dalında nöropraksi geliştiği bildirilmiştir (92). Ayrıca endotrakeal tüpün balonunun uzun süre şişirilmiş durumda tutulmasının, hypoglossal sinirin hyoid kemikle balon arasında sıkışarak nöropraksi gelişmesine sebep olduğu gösterilmiştir (93). Bazı ilaçlar da (cisplatin, testesteron...) toksik etkileri sebebiyle nöropatiye yol açabilmektedir (98,99,125).

Kazanılmış nöropatinin en sık karşılaşılan sebepleri : Diyabet, alkol bağımlılığı, beslenme bozuklukları, travma, tuzak nöropatisi, üremi, radyasyon, AIDS ve enfeksiyonlardır. Travma sonucunda ortaya çıkan sinir yaralanmaları çeşitli şekillerde derecelendirilmiştir. Seddon'un üç gruba ayırdığı sinir yaralanmalarını; Sunderland altı dereceli bir sistemde incelenmiştir (1,11,12,21,34).

Literatürde deneysel periferik nöropati modeli çok azdır. Deneysel olarak periferik sinir nöropatisi oluşturmak için farklı yöntemler denenmiştir (2,35,45,100,101,106). Bunlardan birinde, tavşanların tibial sinirleri elektrofizyolojik kayıt eşliğinde farklı oranlarda gerilmiş; düşük oranlarda germe ile sinirin aksiyon potansiyelinin amplitüdünde düşme olup daha sonra normale dönmüş, fakat yüksek oranlarda germe ile sinirde tam blok olup izleminde çok az düzelme görülmüştür (35). Burada görüldüğü gibi gerilim tipi travma çok güvenilir değildir. Çünkü epineurium içindeki elastik lifler sinirleri belirli oranda germeye karşı koruyabilir. Bu oran aşılsa sinirden

hiçbir yanıt alınmazken; bu sınırı geçmeyen germelerde sinirde hasar oluşmamaktadır.

Başka bir çalışmada ise travma oluşturmak için ısıdan faydalanılmış ve ratların siyatik sinirlerine lokal olarak 47-58 °C sıcaklık uygulanmış, daha sonra yapılan fizyolojik ve morfolojik incelemelerde, myelinsiz liflerin ısıdan çok zarar gördükleri; myelinli liflerin ise vaza nervorumlarında vazospazm olduğu ve buna bağlı gelişen iskemi sonucunda myelinli liflerin hasara uğradığı gözlenmiştir (100). Sinire uygulanan ısının şiddeti ne olursa olsun vaza nervorumlarda vazospazm gelişip iskemi sonucu myelinli liflerde hasar oluşur. Bu hasarın şiddetini kontrol altında tutmak mümkün değildir. Jia ve Pollock aralıklı tekrarlayan soğuk uygulamanın da iskemiye yol açarak sinir hasarı yaptığını göstermişlerdir (45).

Baboon'ların medial popliteal sinirleri üzerine, 10x5 cm'lik havalı manşon yardımıyla cilt üzerinden basınç uygulanmış ve anatomik değişiklikler incelenmiştir. Benzer bir çalışmada kedilerde yapılmış; lezyonun manşonun kenarında daha ağır olduğu, myelinde içe kıvrılma ve myelin lamellerde rüptür olduğu görülmüştür (101). Havalı manşon uygulamasına bağlı, üst ekstremité paralizisi olan, insanlarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki; kalıcı paralizinin önemli bir kısmının sebebi manşon uygulanan bölgedeki lokal iletim bloğudur (102). Mc Laren ve Rorabeck, köpeklerde yaptıkları çalışmalarda, ekstremité çapına göre daha geniş manşon kullanıldığında basıncın derin dokularda yoğunlaştığı ve sinir yaralanması riskinin arttığını göstermişlerdir (103). Mohler ve arkadaşları tavşanlarda yaptıkları çalışmalarda, basınçlı turnikenin sebep olduğu nöromusküler disfonksiyondan sorumlu asıl mekanizmanın mekanik hasar olduğunu ileri sürmüşlerdir (104).

Şiddetli bası sinir liflerini parçalayıp Wallerian dejenerasyonuna sebep olmaktadır. Böylece sinir, travmanın distalinde uyarılabilirliğini kaybetmekte ve iyileşmesi aylarca sürmektedir. Hafif dereceli bası fizyolojik blok oluşturmakta ve bası kaldırılır kaldırılmaz sinirin bütün işlevleri geri



gelmektedir. Lewis, Pickering ve Rothscild 1931 yılında yaptıkları çalışmalarla insanlarda basınçlı manşon veya klemple oluşturulan fizyolojik bloğun, lokal iskemiye bağlı olduğunu düşünmüşlerdir. Burada sözedilen bu iki lezyon dışında, birde orta dereceli basıya bağlı lezyonlar vardır. Bu orta dereceli basıya bağlı lezyonlarda, distaldeki uyarılabilirlik korunurken lokal iletim bloğu oluşur ve iyileşme birkaç hafta sürebilir (2).

Nöronal gelişimin ve aksonal büyümenin düzenlenmesinde, uygun hücre ve büyüme konisi içi kalsiyum düzeyinin deneysel olarak oluşturulan lezyonlarda sinir iyileşmesi için temel etken olduğu anlaşılmıştır (116,127). Bir çok çalışmada, oksijen ve glikoz yokluğunda hücre ölümünün kalsiyumun hücre tarafından alınmasına bağlı olduğu gösterilmiştir (117). Serebral korteks ve hipokampusta sinaptik membran yıkımını kalsiyumun başlattığı ve bunu bir tiol proteaz inhibitörü leupeptinin engellediği anlaşılmıştır (96). Başka bir çalışmada, beyaz cevherin anoksik hasarını dihidropridinlerin önlemediği inorganik kalsiyum kanal blokerlerinin ise önlediği; burada hücre içine kalsiyum girişinin klasik kalsiyum kanallarıyla olmadığı ortaya çıkarılmıştır (120).

Nimodipinin koruyucu etkisinin, merkezi sinir sisteminde bazen ortaya çıkarken bazen de çıkmamasının sebebi doz düşüklüğü olabileceği gibi kalsiyumun farklı bir yoldan hücreye girmesi de olabilir (121,122,123,128). Rittenhouse ve Zigmond kalsiyum kanallarının hücre üzerinde buldukları yerleri ve hücredeki işlevlerini araştırdılar. Bu kanallardan birisi, L tipi kalsiyum kanalları olup hücre gövdesinde ve dendritlerin proksimal kısımlarında bulunurlar. Diğer kanallar nörotransmitterlerin salınmasıyla ilgilirken bu kanallar bazı enzim aktiviteleriyle ilgilidirler (94,95,118). Hirao ve Takahshi tarafından izole edilen ve kalsiyum tarafından aktive olan nötral proteaz da böyle bir enzimdir (119). Arrigoni ve Cohadon yaptıkları bir çalışmada nimodipinin, beyin travmasında artan sinaptozomal kalpain aktivitesini (proteolitik bir enzim) engellediğini göstermişlerdir (4).

Nimodipinin iskemik ve eksitotoksik zararlanmaya karşı nöron koruyucu etkisi bilinmektedir (115). Ayrıca NGF eksikliğinden dolayı ortaya

çıkan, hücre ölümüne karşı da koruyucudur (98). Nimodipinin merkezi sinir sistemi ve periferik sinirlerdeki etkisi bir çok deneysel çalışmada araştırılmıştır. Bu çalışmalardan birinde tek taraflı sensörimotor korteks ablasyonu yapılan ratlarda nimodipinin bazı davranış testlerini düzelttiği ortaya çıkartılmıştır (90). Bazı çalışmalarda nimodipinle vazospazm azalmadan nöroprotektif etkinin ortaya çıktığı addia edilirken bazılarında ise serebral kan akımının arttığı ileri sürülmüştür (89,113,114).

Nimodipinin, fasial sinir kesisini takiben motor nöronların canlılığını artırdığı ve fasial sinir anastomozunu takiben aksomal tomurcuklanmayı artırdığı gösterilmiştir (5,6,7). Başka bir çalışmada ise nimodipinin, hipoglossal sinirle fasial sinir arasında yapılan anastomoz sonrası hipoglossal motor nöron aksomlarının fasial sinire doğru tomurcuklanmasını hızlandırdığı gösterilmiştir (8).

Fehlings ve arkadaşları 1989 yılında yaptıkları bir çalışmada, nimodipinin travma sonrası spinal kord kan akımını artırdığını, motor ve duyu traktuslarında aksomal fonksiyonu belirgin olarak düzelttiğini göstermişlerdir (88). Ratlarda yapılan çalışmalarda epinöral vazokonstriktör ajan uygulanmasıyla ortaya çıkan segmental vazokonstriksiyon ve endonöral iskeminin önceden intraperitoneal nimodipin verilerek önlenebileceği ortaya çıkarıldı (107,111).

Van der Zee ve arkadaşları 1987 yılında yaptıkları bir çalışmada, nimodipinin ratlarda siyatik sinir ezilmesini izleyen sensörimotor fonksiyondaki iyileşmeyi doza bağlı olarak hızlandırdığını ortaya çıkardılar (87). Nimodipinin deneysel diabetik nöropatide, bozulmuş sinir kanlanmasını ve vaza nervorumların adrenerjik cevabını düzeltici etkisi 1993 yılında Kappelle ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (70). Periferik sinir lezyonlarının iyileşmesi yaşlı ratlarda daha uzun sürmektedir. Daha sonra yapılan pekçok deneysel çalışmada nimodipinin, yaşlanma ve diabete bağlı, sinir iletim hızındaki yavaşlama ve motor defisitlerin ortaya çıkmasını geciktirdiği, başlamış defisitlerin daha hızlı düzelmesini sağladığı gösterilmiştir (70,108,109,110,112). Ayrıca nimodipinin toksik nöropatilerin

tedavisinde kullanılabileceği bazı otörler tarafından ileri sürülmüştür. (124,125,126).

Periferik sinirlerde nöropati oluşturmak üzere çeşitli modeller geliştirilmiş olmasına rağmen, çoğunda oluşan lezyonun şiddetini ayarlayabilmek mümkün değildir (35,45,46,47,100). Ancak Rezaei tarafından önerilen modelde periferik sinirde oluşan lezyonun şiddetini ayarlamak mümkündür ve periferik nöropatiye eşdeğer lezyon oluşturulabilmektedir (9).

Bu çalışmada, nöropraksi ve aksonetmezis Rezaei'nin geliştirmiş olduğu 'mikro anjio balon kompresyonu' modelinden faydalanılarak oluşturuldu (9). Daha sonra her iki travma grubunun yarısına nimodipin (po 15mg/kg/gün) verilerek nimodipinin nöropraksi ve aksonetmezis üzerindeki etkileri elektrofizyolojik ve elektronmikroskopik olarak araştırıldı.

Periferik sinirlerde elektrofizyolojik çalışma yaparken şartların standart olması amacıyla deneklerin vücut ısıları elektrikli ısı kaynakları yardımıyla sabit tutuldu. Uyarının veriliş yeri, siyatik sinirin verdiği ilk daldan hemen önce olacak şekilde (Resim 20) ayarlandı ve alınan cevap, (kayıt elektrotlarının yeri değiştirilerek) her zaman en büyük bileşik kas aksiyon potansiyeli değeri olacak şekilde satandardize edildi. Grupların hepsinde bası öncesi, bası sonrası ve dört hafta sonra elektrofizyolojik değerlendirmeler yapıldı. Dört hafta sonra yapılan elektrofizyolojik çalışmaların ardından her grupta elektron mikroskopik değerlendirme yapıldı. Bu değerlendirme sonucunda :

1-Deneklerin siyatik sinirine hafif travma grubunda, süreden bağımsız olarak 1 atmosfer basınç uygulayarak bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitüdünde %40-60 arası düşme sağlanırken amlitüde birlikte bileşik kas aksiyon potansiyeli alanı da azalmakta, latans ise uzamaktadır. Bu bulgulara göre sinir iletim hızı ve miktarı azalmıştır. Bir ay sonunda yapılan elektrofizyolojik incelemelerde ise amplitüd ve alanın travma öncesi değerlere yaklaşması, elektron mikroskopik incelemede akson sayı ve çaplarının normal

olması, myelin hasarının görülmemesi lezyonun nöropraksiyle uyumlu olduğunu göstermektedir.

2-Hafif travma+nimodipin grubunda deneklerin siyatik sinirine, süreden bağımsız olarak 1 atmosfer basınç uygulayarak bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitüdünde %40-60 arası düşme sağlanırken amplitüdle birlikte bileşik kas aksiyon potansiyeli alanı da azalmaktadır. Hafif travma grubundan farklı olarak latansta ise çok az bir kısalma oldu. Bu bazı teknik hatalardan kaynaklanabilir. Bu bulgulara göre sinir iletim hızı ve miktarı azalmıştır. Hafif travma + nimodipin grubunun, bir ay sonunda yapılan elektrofizyolojik ve elektron mikroskopik inceleme bulgularının, hafif travma grubunun bulgularıyla benzer olmasından dolayı nöropraksinin iyileşmesine nimodipinin ne oranda katkı sağladığını söylemek mümkün değildir. Çünkü nimodipin verilsede verilmesede, hafif travma uygulanan denekler 4 haftalık süre sonunda tam olarak iyileşmektedirler.

3-Ağır travma grubunda deneklerin siyatik sinirlerine, süreden bağımsız olarak amplitüdde %90'dan fazla düşme oluncaya kadar 2 atmosfer basınç uygulandığında amplitüdle birlikte bileşik kas aksiyon potansiyeli alanının da azaldığı görüldü. Ağır travma uygulanan deneklerde latans uzaması hafif travma uygulanan deneklerin latansındaki uzamaya göre daha belirgindi. Aynı zamanda bileşik kas aksiyon potansiyeli süresi de belirgin olarak uzamıştı. Bu bulgulara göre ağır travma uygulanan deneklerin siyatik sinirlerinde iletim hızı ve miktarı, hafif travma uygulanan deneklerin siyatik sinirlerindeki iletim hızı ve miktarına göre belirgin olarak azalmıştır. Elektrofizyolojik bulgularda 4 haftalık dönem sonunda tam bir düzelme olmamaktadır. Bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitüdü ilk değerinin ancak %60.36'sına gelmekte, alandaki düzelme ise %54,19'da kalmaktadır. Bileşik kas aksiyon potansiyeli latansı ve süresi ilk değerine göre halen uzun olmakla birlikte 4 hafta sonunda bir miktar kısalmıştı. Elektronmikroskopik incelemelerde akson sayı ve çaplarında azalma, myelinlenmekte olan aksonlar, yoğun myelin debris ve henüz myelin yapmamış Schwann hücresi görülmekteydi. Bu bulgular lezyonun aksonetmezisile uyumlu olduğunu ve henüz rejenerasyonun tamamlanmadığını

göstermektedir. Buradaki sonuçlar, Ribaric ve arkadaşlarının siyatik sinirin ezilmesini takiben 5 haftada normal kas gücünün geri gelmesiyle ilgili bulgularıyla uyumsuzluk gösterse bile, aynı çalışmada Ribaric ve arkadaşları normal kas gücü için subnormal kolin asetil transferaz aktivitesinin yeterli olduğunu göstermişler ve sinirdeki rejenerasyonu araştırmamışlardır (48). Burada yapılmış olan çalışmanın rejenerasyonu araştırmada Ribaric ve arkadaşlarının çalışmasına göre üstünlüğü, elektrofizyolojik ölçümlerin doğrudan sinirden uyarı verilerek yapılması ve doku incelemesinin sinirin lezyon oluşturulan bölgesinden yapılmasıdır.

4-Ağır travma+nimodipin grubunda deneklerin siyatik sinirlerine, süreden bağımsız olarak bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitidünde %90'dan fazla düşme oluncaya kadar 2 atmosfer basınç uygulandı. Bası sonunda amplitüdle birlikte alan da azalırken latans ve bileşik kas aksiyon potansiyeli süresinde uzama görüldü. Bu bulgular ağır travma grubunun bulgularıyla benzer bulgular olup sinirde iletim hızı ve miktarının azaldığını göstermektedir. Elektrofizyolojik bulgularda 4 haftalık dönem sonunda tama yakın bir düzelme olduğu görüldü. Bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitidü ilk değerinin %89,65'ine gelirken alandaki düzelme %72,99 olarak meydana gelmiştir. Bileşik kas aksiyon potansiyeli latansı ve süresi ise kısalmıştır. Elektron mikroskopik incelemede akson sayısı ve çaplarının normal olduğu, arada nadiren rastlanan myelinlenmekte olan aksonlar dışında myelinlenmenin tam olduğu görüldü. Bu bulgulara göre nimodipin aksonetmeziste iyileşme oranını ve hızını belirgin olarak artırmaktadır.

Daha önceki çalışmalarda nimodipinin, kranial sinir anastomozunu takiben aksonal büyümeyi hızlandırdığı gösterilmiştir (5,6,8). Başka bir çalışmada nimodipinin aksotomi sonrası motor nöronların sağ kalma süresini uzattığı, ayrıca ratlarda diabetle ve yaşlanmayla ilgili sinir iletim hızını ve motor fonksiyonları iyileştirdiği gösterilmiştir (7,108,109). Yaptığımız çalışmada elde edilen bulguların daha önceki çalışmaların sonuçları ile uyum göstermesi, nimodipinin metabolik nöropatilerin iyileşmesine olan katkısı

yanında travmatik nöropatilerin iyileşmesine de katkısı olduğunu göstermektedir.

Akson büyümesi için hücre içi kalsiyumun belirli sınırlar içinde olması gerektiği daha önce yapılmış olan in vitro çalışmalarla gösterilmiştir. Fakat travmayı takiben hücre içine kalsiyum girişinin arttığı bilinmektedir (116). Bu çalışmada bir kalsiyum kanal blokeri olan nimodipin kullanılarak hücre içine kalsiyumun aşırı miktarlarda girmesi engellendi.

Van Der Zee, ratlarda siyatik sinir ezilmesini takiben nimodipinin, sensörimotor fonksiyonları iyileştirdiğini fonksiyonel çalışmalarla göstermiştir(87). Ancak bu çalışmada sinir fonksiyonları elektrofizyolojik histopatolojik ve elektron mikroskopik olarak incelenmemiştir. Yaptığım bu çalışmada, siyatik sinir üzerindeki lezyonun şiddeti kontrol altında tutulmuş, siyatik sinir fonksiyonları elektrofizyolojik olarak değerlendirilmiş ve lezyon elektron mikroskopik olarak incelenmiştir. Böylece nimodipinin siyatik sinir lezyonlarının iyileşme hızı ve oranına etkisi doğrudan ve kantitatif olarak araştırılmıştır.

Bu bulgular ışığında 15 mg/kg/gün dozda, oral yoldan verilen nimodipinin, ağır travma grubunda tama yakın iyileşme sağladığı görülmektedir. Bu iyileşmenin sinir kan akımında artma yada hücre içine kalsiyum girişinin önlenmesinden hangisiyle olduğu belirsiz olmakla birlikte nimodipinin aksonetmezisi takiben rejenerasyon hızını ve oranını artırdığı açıktır. Hafif travmada ise dört haftalık sürede spontan iyileşmenin tama yakın olması sebebiyle nimodipinin bu iyileşmede katkısının ne derece olduğunu söylemek mümkün değildir.

## 6 SONUÇ

Nöroloji ve nöroşirürji kliniklerinde ensık karşılaşılan hastalıklardan biri periferik nöropatilerdir. Birçok sebeple ortaya çıkmakla birlikte özellikle tuzak sendromlarında (Karpal tünel sendromu, peroneal nöropati, torasik çıkış sendromu, v.b.) hastaların sosyal ve ekonomik yaşamlarını, günlük temel işlevlerini olumsuz şekilde etkiler. Bu rahatsızlıklar için yapılan deneysel çalışmalar, deney modellerindeki eksiklikler ve modeli gerçekleştirmedeki güçlükler sebebiyle çok azdır. Bu çalışmada kullanılan yöntem elektrofizyolojik ve elektron mikroskopik olarak akut travmatik nöropatiler için kolay uygulanabilen ve tekrarlanabilir bir yöntemdir. Bu yöntemle periferik sinir üzerine doğrudan ve kontrollü olarak basınç uygulanarak oluşacak lezyonun şiddeti kontrol altında tutuldu. Böylece deneysel olarak nöropraksi ve aksonetmezis oluşturuldu.

Bu modelden faydalanılarak, oluşan periferik sinir lezyonunun iyileşmesine nimodipinin katkısı araştırıldı. Elde edilen elektrofizyolojik ve elektron mikroskopik veriler sonucunda; aksonetmezisi takiben nimodipinin rejenerasyon hızını ve oranını artırdığı görüldü. Nöropraksilerde ise, spontan olarak tama yakın iyileşme olduğu için nimodipinin nöropraksinin iyileşmesine ne oranda katkısı olduğunu söylemek mümkün değildir. Nimodipinin nöropraksinin iyileşmesine olan katkısını araştırmak için iyileşme süresini daha kısa tutarak elektrofizyolojik ve elektronmikroskopik çalışmalar yapılmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Seddon H.J. : Three types of nerve injury. Brain 66: 237-288; 1943
2. Ochoa J, Fowler TJ and Gilliatt RW: Anatomical changes in peripheral nerves compressed by a pneumatic tourniquet. J. Anat. 113 (3) 433-455; 1972
3. Gilman AG, Rall TW, Nies AS and Taylor P: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Eighth Edition, Pergamon Press, 774-781;
4. Arrigoni E, Cohadan F: Ca<sup>++</sup> dependent neutral proteases activation in brain trauma. Its prevention by nimodipine. 2nd international neurotrauma symposium, July 1993, Glasgow, Scotland
5. Neis WF, Angelov DN, Stennert E: Nimodipine accelerates the sprouting of axotomized motor neurons following hypoglossal- facial anastomosis in the rat. 2nd international neurotrauma symposium, July 1993, Glasgow, Scotland
6. Angelov DN, Neis WF, Streppel M, Andermahr J, Mader K and Stennert E : Nimodipine accelerates axonal sprouting after surgical repair of rat facial nerve. The journal of neuroscience 16 (3) :1041-1048; 1996
7. Mattson P, Aldskogius H and Svensson M: Nimodipine-induced improved survival rate of facial motor neurons following intracranial transection of the facial nerve in the adult rat. J. Neurosurg 90:760-765; 1999
8. Angelov DN, Neis WF, Gunkel A, Streppel M, Guntinas-Lichius O and Stennert E: Nimodipine-accelerated hypoglossal sprouting prevents the postoperative hyperinnervation of target muscles after hypoglossal-facial anastomosis in the rat. Restorative Neurology and Neuroscience 11:109-121; 1997



9. Rezaei SM: Deneysel periferik nöropati modeli ve melatoninin nöropatiye etkisi. Uzmanlık tezi; 2000
10. Mackinnon SE, Dellon AL: Evaluation of treatment methods in a primate median nerve model of chronic nerve compression : İnternal neurolysis versus decompression. J. Hand Surg. 13:54; 1988
11. Wilgis EFS, Brushart TM: Nerve repair and grafting. In.: Green DP (Ed9: Operative Hand Surgery, Churchill Livingstone Inc., Third Ed., Vol 2, 1315-1340;1993
12. Terzis JK, Smith KL: Repair and grafting of the peripheral nerve. In: Mc Carthy JG (Ed.) : Plastic surgery, W.B. Saunders Co. Vol, 1, 630-697; 1990
13. Sunderland S: Changes in denervated structures. In: Nerve Injuries and Their Repair. A Critical Appraisal. Churchil Livingstone Inc., 233-277; 1991
14. Sunderland S, Ray LJ: Denervation changes in mammalian striated muscle. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr., 13: 159; 1950
15. Millesi H, Meissl G, Berger A: The interfascicular nerve grefting of the median and ulnar nerves. J. Bone Joint Surg., 54 A, 727; 1972
16. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO: Sinir dokusu. Basic Histology, seventh Ed. Appleton&Lange. 1993'de Temel Histoloji adı altında çeviri Ed: Aytekin Y, Seyhan Solakoğlu, Bölüm Çevireni: Erdoğan D, Barış Kitabevi, İstanbul, Bölüm:9, 197-230;1992
17. Thomas PK,Ochoa J: Microskopic anatomy of peripheral nerve fibers. in: Dyck PJ, Thomas PK, Lambert EH, Bunge MB (Eds) : Peripheral neuropathy. Philedelphia, Saunders Co. 39-96; 1984
18. Thomas PK, Olsson Y: Microskopic anatomy and junction of the connective tissue components of peripheral nerve. In : Dyck PJ, Thomas PK, Lambert EH, Bunge MB (Eds.) : Peripheral neuropathy. Philedelphia, W.B. Saunders Co. 97-120; 1984

19. Thomas PK, Jones DG: The cellular response to nerve injury. *J. Anat.*, 101: 45; 1967
20. Wilgis S, Murhy R: The significance of longitudinal excursion in the peripheral nerve. *Hand Clin.*, 2: 761; 1986
21. Lundborg G: Nerve regeneration and repair; a review. *Acta Orthop. Scand.* 58: 145-169; 1987
22. Sunderland S: The connective tissues of peripheral nerve. *Brain*, 88: 841; 1965
23. Lundborg G: Structure and function of the intraneural microvessels as related to trauma, edema formation, and nerve function. *J. Bone Joint Surg.*, 57A :938; 1975
24. Lundborg G, Rydevik 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
25. Rydevik B, Lundborg G: Permeability of intraneural microvessels and perineurium following acute, graded experimental nerve compression. *Scand. JJ. Plast. Reconst. Surg.*, 11: 179; 1977
26. Myers RR, Powell CH, Costello ML, Lambert PW, Zweifach BW: Endoneurial fluid pressure: direct measurement with micropipettes. *Brain Res.* 148: 510; 1978
27. Madison RD, Archibald SJ, Krarup C: Peripheral nerve injury. Wound healing, *Biochemical & Clinical Aspestes.*, Ed: Cohen IK, Diegelmann RF, Lirdblad WI. Bölüm 28, 450-487; 1992
28. Lundborg G, Longo FM, Varon S: Nerve regeneration model and trophic factors in vivo. *Brain Res.*, 232: 157; 1982

29. Politis MJ, Ederle K, Spencer PS: Tropism in nerve regeneration in vivo. Attraction of regenerating axons by diffusable factors derived from cells in distal nerve stumps of transected peripheral nerve. *Brain Res.*, 253: 1; 1982
30. Taylor GI, Ham F: The free vascularized nerve graft. A further experimental and clinical application of microvascular techniques. *Plast. Recons. Surg.*, 57: 413; 1976
31. Olsson Y: Studies on vascular permeability in peripheral nerve. IV. Distribution of Intravenously Injected Protein Tracers in The Peripheral Nervous System of Various Species. *Acta Neuropathol.* 17: 114-126; 1971
32. Sunderland S: Anatomical and physiological features of nerve fibres and nerve trunks. In: *Nerve and Nerve Injuries*, Churchill Livingstone Inc., Second Ed., 3-66; 1978
33. Sunderland S: The pathology of nerve injury. In: *Nerve Injuries and Their Repair. A Critical Appraisal*. Churchill Livingstone Inc., 72-232 ; 1991
34. Sunderland S: *Nerves and Nerve Injuries*, 2d Ed. Edinburgh : Churchill Livingstone, 1978
35. Eric J. Wall, Jennifer B. Massie, Michael K. Kwan, Bjorn L. Rydevik, Robert R. Myers, Steven R. Garfin : Experimental stretch neuropathy. Changes in nerve conduction under tension. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 74-B:126-9; 1992
36. Fawcett JW, Keynes R.J: Peripheral nerve regeneration. *Ann. Rev. Neurosci.*, 13: 43-60; 1990
37. Olsson Y: Studies on vascular permeability in peripheral nerves. I. Distribution of Circulating Fluorescent Serum Albumin in Normal, Crushed and Sectioned Rat Sciatic Nerve. *Acta Neuropathol.* 7: 1-15; 1966

38. Göran Hanson, Krister Kristensson, Yngve Olsson and Johan Sjöstrand: Embryonal and Postnatal Development of Mast Cells in Rat Peripheral Nerve. *Acta neuropath.* 17:139-149; 1971
39. Horch K: Guidance of regrowing sensory axons after cutaneous nerve lesions in cat: *J. Neurophysiol* 42: 1437; 1979
40. Jabaley ME, Burns JE, Orcutt BA, Bryant WM: Comparison of histologic and functional recovery after peripheral nerve repair. *J. Hand Surg.*, 1: 119; 1976
41. Gutman E: Effect of delay of innervation on recovery of muscle after nerve lesions. *J. Neurophysiol.*, 11: 279; 1948
42. Goodman CS, Bastiani MJ, Doe CQ, Lac S, Helfand SL, Kuwada JY, Thomas JB: Cell recognition during neuronal development. *Science*, 225:1271-1279; 1984
43. Williams LR: Rat aorta isografts possess nerve regeneration-promoting properties in silicone y chambers. *Exp. Neurol.*, 97:555-563; 1987
44. Tatagiba M, Brösamle C, Schwab ME: Regeneration of injured axons in the adult mammalian central nervous system. *Neurosurgery*: 40 (3) ; 541-547; 1997
45. Jia J, Pollock M: Cold nerve injury is enhanced by intermittent cooling. *Muscle & Nerve*, 22:1644-1652; 1999
46. Myers RR, Yamamoto T, Yaksh TL, Powell HC: The role of focal nerve ischemia and Wallerian degeneration in peripheral nerve injury producing hyperesthesia. *Anesthesiology*, 78: 308-316; 1993
47. Sommer C, Galbraith JA, Heckman HM, Myers RR: Pathology of experimental compression neuropathy producing hyperesthesia. *J. Neuropathol Exp Neurol*, 52: 223-233; 1993

48. Ribaric S, Stefanovska A, Brzin M, Kogevsk M, Kroselj P: Biochemical, morphological and functional changes during peripheral nerve regeneration. *Molecular and Chemical Neuropathology*, 15: 143-157; 1991
49. Rickardson EP, Girolami UD: General reactions of peripheral nerve to disease. In: Rickardson EP, Girolami UD (Eds) : *Pathology of the peripheral nerve*. Philadelphia. W.B. Saunders Co. 8-21; 1995
50. Waris T: Degeneration and regeneration of nerves in a dorsal skin flap in the rat. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 12:95-103, 1978
51. Kline DG, Hayes GJ, Morse AS: A comparative study of response of species to peripheral nerve injury. *J. Neurosurgery*, 21: 980 ; 1964
52. Brushart TME: Preferential reinnervation of motor nerves by regenerating motor axons. *J. Neurosci.*, 8: 1026; 1988
53. Essen E: Electromyographic findings on two types of misdirection of regenerating axons. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 12: 738; 1960
54. Guttman E, Sanders FK: Recovery of fiber numbers and diameters in the regeneration of peripheral nerves. *J. Physiology*, 101: 489; 1943
55. Mira JC: Degeneration and regeneration of peripheral nerve: ultrastructural and electrophysiological observation. *Int. J. Microsurg.*, 3: 102; 1981
56. Berg DK: New neuronal growth factors. *Ann. Rev. Neurosci.*, 7: 149-170; 1984
57. Lipton SA: Growth factors for neuronal survival and process regeneration. Implications in the mammalian central nervous system. *Arch. Neurol.*, 46: 1241-1248; 1989
58. Mackinnon SE, Dellon AL: Neurotropism and neurotophism. Reply to TM Brushart's Letter to the Editor. *J. Hand Surg.*, 12: 808-809; 1987

59. Jessel TM: Adhesion molecules and hierarchy of neuronal development. *Neuron* 1: 3-13; 1988
60. Rogers SL, Letourneau PC, Palm SL, Et al : Neurite extension by peripheral and central nervous system neurons to substratum-bound fibronectin and laminin. *Dev. Biol.*, 98:212-220; 1983
61. Hall SM: Regeneration in the peripheral nervous system neuropathol. *App. Neurobiol.* 15: 513-529; 1989
62. Lindholm D, Heuman R, Meyer m, Et al : Interleukin regulates synthesis of nerve growth factor in non-neuronal cells of sciatic nerve. *Nature*, 330: 658-659; 1987
63. Taniuchi M, Clark HB, Schweitzer JB, Et al : Expression of nerve growth factor receptors by Schwann cells of axotomised peripheral nerves. Ultrastructural location. Suppression by azonal contact. *Neurosci.*, 8: 664-681; 1988
64. Nachemson AK, Hansson HA, Lundborg G: Neurotropism in nerve regeneration; an immunohistochemical study. *Acta. Physiol. Scand.*, 133: 139-148; 1988
65. Newman JP, Verity AN, Hawathmeh S, Fee WE, Terris DJ: Ciliary neurotrophic factor enhances peripheral nerve regeneration. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 122: 399-403; 1996
66. Lin KY, Posnick JC, Al-Qattan MM, Vajsar J, Becker LE: Fetal nerve healing; an experimental study. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 93: 1323-1333; 1994
67. Komiyama A, Novicki DL, Suziki K: Adhesion and proliferation are enhanced in vitro in Schwann cells from nerve undergoing Wallerian degeneration. *J. Neurosci. Res.*, 29: 308-318; 1991

68. Ducker TB, Kempe LG, Hayes GJ, Et al : The metabolic background for peripheral nerve surgery. *J.Neurosurgery*, 30: 270-280; 1969
69. Parry GJ, Brown MJ: Selective fiber vulnerability in acute ischemic neuropathy. *Annals of Neurology*, 11: 147-154; 1982
70. Kappelle AC, Biessels GJ, Van Buren T, Erkelens DW, De Wildt DJ, Gispen WH: Effects of nimodipine on sciatic nerve blood flow and vasa nervorum responsiveness in the diabetic rat. *Eur. J. Pharmacol.*, 30: 43-49; 1993
71. Ress AM, Babovic S, Angel MF, Im MJ, Dellon AL, Manson PN: Free radical damage in acute nerve compression. *Annals of Plastic Surgery*, 34: 388-395; 1995
72. Lundborg G, Longo FM, Varon S: Nerve regeneration model and trophic factor in vivo. *Brain Research*, 232: 157-161; 1982
73. Longo FM, Manthorpe M, Skaper SD, Lundborg G, Varon S: Neuronotrophic activities accumulate in vivo within silicone nerve regeneration chambers. *Brain Research*, 261: 109-117; 1983
74. Williams L, Powell HC, Lundborg G, Varon S: Competence of nerve tissue as distal insert promoting nerve regeneration in a silicone chamber. *Brain Research*, 293: 201-211; 1984
75. Seckel BR, Ryan SE, Gagne RG, Chiu TH, Watkins E: Target-specific nerve regeneration through a nerve guide in the rat. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 78: 793-798; 1986
76. Weiss P: Sutureless reunion of severed nerves with elastic cuffs of tantalum. *J. Neurosurgery*, 1: 219-225; 1944
77. Jenq CB, Coggeshall RE: Regeneration of transected rat sciatic nerves after using isolated nerve fragments as a distal inserts in silicone tubes. *Experimental Neurology*, 91: 154-162; 1986

78. Rice HD, Burstein FD, Newman A: Use of polytetrafluorinated ethylene compound in peripheral nerve grafting. *Arch. Otolaryngol.*, 111: 259-261; 1985
79. Gibby WA, Koerber HR, Horch KW: A quantitative evaluation of suture and tubulization nerve repair techniques. *J. Neurosurgery*, 58: 574-579; 1983
80. Mackinnon SE, Dellon AL, Hudson AR, Hunter DA: Nerve regeneration through a pseudosynovial sheath in a primate model. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 75: 833-841; 1985
81. Silva CF, Madison R, Dikkes P, Chiu TH, Sidman RL: An in vivo model to quantify motor and sensory peripheral nerve regeneration using bioresorbable nerve guide tubes. *Brain Research*, 342: 307-315; 1985
82. Maw RB, Loizeaux AD: Functional regeneration of facial nerves in dogs when filter tubes are used. *J. Oral Surgery*, 29: 848-852; 1971
83. Kosaka M: Enhancement of rat peripheral nerve regeneration through artery-including silicone tubing. *Experimental Neurology*, 107: 69-77; 1990
84. Ashur H, Vilner Y, Finsterbush A, Rousso M, Weinberg H, Devor M: Extent of fiber regeneration after peripheral nerve repair; silicone splint vs. suture, gap repair vs. graft. *Experimental Neurology*, 97: 365-374; 1987
85. Seckel BL, Chiu TH, Nyilas E, Sidman RL: Nerve regeneration through synthetic biodegradable nerve guides; regulation by the target organ. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 74: 173-181; 1984
86. Oudega M, Hagg T: Nerve growth factor promotes regeneration of sensory axons into adult rat spinal cord. *Experimental Neurology*, 140: 218-229; 1996
87. Van der Zee CEEM van der, Schuurman T, Traber J, Gispen WH: Oral administration of nimodipine accelerates functional recovery following peripheral nerve damage in the rat. *Neuroscience Letters*, 83: 143-148; 1987



88. Fehling MG, Tator HC, Linden RD: The effect of nimodipine and dextran on axonal function and blood flow following experimental spinal cord injury. *J. Neurosurgery*, 71: 403-416; 1989
89. Russerger L, Kostron H, Twrddy K, Grunert V: Clinical experiences with nimodipine. *Neurochirurgia*, 27: 39-43; 1984
90. Andersen AB, Finger S, Andersen SC, Hoagland N: Sensorimotor cortical lesion effects and treatment with nimodipine. *Physiology & Behavior*, 47:1045-1052; 1990
91. Bolton CF, Driedger AA, Lindsay RM: Ischaemic neuropathy in uraemic patients caused by bovine arteriovenous shunt. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*, 42: 810-814; 1979
92. Aucott W, Prisley P, Madden G: Laryngeal anaesthesia with aspiration following intubation. *Anaesthesia*, 44: 230-231; 1989
93. Venkatesh B, Walker D: Hypoglossal neuropraxia following intubation. *Anaesth Intens Care*, 25: 699-700; 1997
94. Miller RJ: Multiple calcium channels and neuronal function. *Science*, 235: 46-52, 1987
95. Chaplan SR, Pogrel JW, Yaksh TL: Role of voltage-dependent calcium channel subtypes in experiemntal tactile allodynia. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 269: 1117-1123; 1994
96. Baudry M, Bundman MC, Smith EK, Lynch GS: Micromolar calcium stimulates proteolysis and glutamate binding in rat brain synaptic membrans. *Science*, 212: 937-939; 1981
97. Koh JY, Gwag BJ, Lobner D, Choi DW: Potentiated necrosis of cultured cortical neurons by neurotrophins. *Science*, 268: 573-575; 1995

98. Dispersyn G, Nuydens R, Borgers M, Geerts H: Nimodipine and flunarizine have different effects on survival and morphology of PC12 cells during nerve growth factor deprivation. *European Journal of Pharmacology*, 384: 61-70; 1999
99. Dickerman RD, Kramer E, Pertusi R, Mc Conatthy WJ: Peripheral neuropathy and testosterone. *Neuro Toxicology*, 18:587-588, 1997
100. Xu D, Pollock M: Experimental nerve thermal injury. *Brain*, 117: 375-384; 1994
101. Ochoa J, Danta G, Fowler TJ, Gilliatt RW: Nature of the nerve lesion by a pneumatic tourniquet. *Nature*, 233:265-266; 1971
102. Rudge P: Tourniquet paralysis with prolonged conduction block. An electrophysiological study. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 56: 716-721; 1974
103. Mc Laren AC, Rorabeck CH: The pressure distribution under tourniquets. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 67: 433-439; 1985
104. Mohler LR, Pedowitz RA, Lopez MA, Gershuni DH: Effects of tourniquet compression on neuromuscular function. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 359: 213-220; 1999
105. Robbs JV, Naidoo KS: Nerve compression injuries due to traumatic false aneurysm. *Ann. Surg.*, 200:80-83; 1984
106. Kim SH, Chung JM: An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*, 50: 355-363; 1992
107. Zochodne DW, Ho LT, Gross PM: Acute endoneurial ischemia induced by epineurial endothelin in the rat sciatic nerve. *Am. J. Physiol.*, 263:1806-1810; 1992

108. Kappella AC, Biessels G, Bravenboer B, Buren T, Traber J: Beneficial effect of the Ca<sup>2+</sup> antagonist, nimodipine, on existing diabetic neuropathy in the BB/Wor rat. *Br. J. Pharmacol.*, 111: 887-893; 1994
109. Van der Zee CEEM, Schuurman T, Geritsen RH, Traber J, Gispen WH: Beneficial effect of nimodipine on peripheral nerve function in aged rats. *Neurobiology of Aging*, 11: 451-456; 1990
110. Van der Zee CEEM, Brakkee JH, Gispen WH: Putative neurotrophic factors and functional recovery from peripheral nerve damage in the rat. *Br. J. Pharmacol.*, 103: 1041-1046; 1991
111. Zochodne DW, Ho LT: Vasa nervorum from substance P and calcitonin gene-related peptide antagonists: sensitivity to phentolamine and nimodipine. *Regulatory Peptides*, 47: 285-290; 1993
112. De Jong GI, Jansen ASP, Horvath E, Gispen WH, Luiten PGM: Nimodipine effects on cerebral microvessels and sciatic nerve in aging rats. *Neurobiology of Aging*, 13: 73-81; 1991
113. Gaab MR, Rode CP, Schakel EH, Haubitz I, Bockhorn J, Brawanski A: Effect of the Ca antagonist nimodipine on global and regional cerebrovascular circulation. *Klin Wochenschr*, 63: 8-15; 1985
114. Meyer FB, Anderson RE, Yaksh TL, Sundt TM: Effect of nimodipine on intracellular brain pH, cortical blood flow, and EEG in experimental focal cerebral ischemia. *J. Neurosurg*, 64: 617-626; 1986
115. Rami A, Kriegstein J: Neuronal protective effects of calcium antagonists in cerebral ischemia. *Life Sciences*, 55: 2105-2113; 1994
116. Kater SB, Mills LR: Regulation of growth cone behavior by calcium. *The Journal of Neuroscience*, 11: 891-899; 1991
117. Goldberg MP, Choi DW: Combined oxygen and glucose deprivation in cortical cell culture; calcium-dependent and calcium-independent

- mechanisms of neuronal injury. *The Journal of Neuroscience*, 13: 3510-3524; 1993
118. Rittenhouse AR, Zigmond RE: Role of N- and L-type calcium channels in depolarization-induced activation of tyrosine hydroxylase and release of norepinephrine by sympathetic cell bodies and nerve terminals. *J. Neurobiology*, 40: 137-148; 1999
  119. Hirao T, Takahashi K: Purification and characterization of calcium-activated neutral protease from monkey brain and its activation on neuropeptides. *J. Biochem.*, 96: 775-784; 1984
  120. Stys PK, Ransom BR, Waxman SG: Effects of polyvalent cations and dihydropyridine calcium channel blockers on recovery of CNS white matter from anoxia. *Neuroscience Letters*, 115: 293-299; 1990
  121. Lichius OG, Portillo FM, Lebek J, Angelov DN, Stennert E, Neiss WF: Nimodipine maintains in vivo the increase in GFAP and enhances the astroglial ensheathment of surviving motoneurons in the rat following permanent target deprivation. *Journal of Neurocytology*, 26: 241-248; 1997
  122. Eidelberg E, Nguyen LH, Polich R, Walden JG: Transsynaptic degeneration of motoneurons caudal to spinal cord lesions. *Brain Research Bulletin*, 22: 39-45; 1989
  123. Sautter J, Kupsch A, Earl CD, Oertel WH: Degeneration of pre-labelled nigral neurons induced by intrastriatal 6-hydroxydopamine in the rat; behavioural and biochemical changes and pretreatment with the calcium-entry blocker nimodipine. *Exp. Brain Res.*, 117: 11-119; 1997
  124. Luiten PG, Douma BR, Van der Zee EA, Nyakas C: Neuroprotection against NMDA induced cell death in rat nucleus basalis by Ca<sup>2+</sup> antagonist nimodipine, influence of aging and developmental drug treatment. *J. Neurotrauma*, 9: 531-543;

125. Hamers FP, Van der Hoop RG, Steerenburg PA, Neijt JP, Gispen WH: Putative neurotrophic factors in the protection of cisplatin-induced peripheral neuropathy in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 111. 514-522; 1991
126. Kappelle AC, Bravenboer B, Van Buren T, Traber J, Erkelens DW, Gispen WH: Amelioration by the Ca<sup>2+</sup> antagonist, nimodipine of an existing neuropathy in the streptozotocin-induced, diabetic rat. *Br. J. Pharmacol.*, 108: 780-785; 1993
127. Nyakas C, Buwalda B, Kramers RJ, Traber J, Luiten PG: Postnatal development of hippocampal and neocortical cholinergic and serotonergic innervation in rat; effects of nitrite-induced prenatal hypoxia and nimodipine treatment. *Neuroscience*, 59: 541-559; 1994
128. Brundin P, Karlsson J, Emgard M, Schierle GS, Hansson O, Petersen A,: Improving the survival of grafted dopaminergic neurons; a review over current approaches. *Cell Transplant*, 9: 179-195; 2000

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI .....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET .....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
1 GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
2 GENEL BİLGİLER .....	3
2.1 TARİHÇE.....	3
2.2 PERİFERİK SİNİR ANATOMİSİ .....	4
2.2.1 Sinir lifleri .....	7
2.2.2 Bağ dokusu .....	12
2.2.3 Fasikül .....	15
2.2.4 Kan damarları .....	16
2.2.5 Lenfatikler .....	18
2.2.6 Sinirler .....	18
2.3 PERİFERİK SİNİR YARALANMALARI .....	18
2.3.1 Nöropraksi.....	20
2.3.2 Aksonetmezis .....	21
2.3.3 Nörotmezis .....	22
2.3.4 Dejenerasyon .....	22
2.3.5 Rejenerasyon .....	24
2.3.6 Büyüme faktörleri ve özel proteinler.....	25
2.3.7 Hücre Adezyon molekülleri .....	27
2.3.8 Sinir rejenerasyonundan sorumlu ekstrasellüler matriks molekülleri .....	27

2.3.9 Non-nöronal hücreler ve reseptörler:.....	27
2.4. KALSİYUM KANALLARI ve NİMODİPİN.....	28
2.4.1 Kalsiyum Kanalları.....	28
2.4.2 Kalsiyum Kanal Blokerleri.....	29
2.4.3 Nimodipin.....	29
3 GEREÇ ve YÖNTEM.....	31
3.1 STANDART HAZIRLIK.....	31
3.1.1 Anestezi.....	31
3.1.2 Standart disseksiyon.....	31
3.1.3 Basınç Cihazı ve Balon dilatasyon katateri.....	34
3.2 ÇALIŞMA PROTOKOLÜ.....	35
3.3 DEĞERLENDİRME.....	40
3.3.1 Elektrofizyolojik Değerlendirme.....	40
3.3.2 Elektron Mikroskopisi.....	42
4. BULGULAR.....	44
4.1 Elektrofizyolojik Bulgular.....	44
4.2 Elektron Mikroskopi Bulguları.....	50
5 TARTIŞMA.....	58
6 SONUÇ.....	66
KAYNAKLAR.....	67