

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA FASİYAL SİNİRİN EZİLME YARALANMASINDA
EDARAVONENİN İYİLEŞMEYE OLAN ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Efnan ABDİOĞLU FAZLI

TRABZON 2017

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA FASİYAL SİNİRİN EZİLME YARALANMASINDA
EDARAVONENİN İYİLEŞMEYE OLAN ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Efnan ABDİOĞLU FAZLI

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Abdülcemal Ümit IŞIK

TRABZON 2017

ÖNSÖZ

Karadeniz Teknik Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen bu çalışmanın tüm aşamalarında ve uzmanlık eğitimimde büyük katkıları ve emeği olan, hoşgörü, bilgi ve deneyimleri ile her zaman daha iyi olma yönünde beni cesaretlendiren saygıdeğer hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Abdülcemal Ümit Işık'a,

Bilgi ve becerisiyle örnek aldığım değerli hocam ve Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Mehmet İmamoğlu'na, ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Prof. Dr. Osman Bahadır'a, uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde emeği geçen değerli hocalarım, Prof. Dr. Ahmet Ural'a, eğitimim boyunca her konuda desteklerini esirgemeyen, tezimin hazırlanmasında çok değerli yardımları bulunan Yrd.Doç. Dr. Selçuk Arslan'a,

Çalışmamı gerçekleştirmemde bilgi ve ilgisini benden esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Esin Yuluğ ve Doç. Dr. Ahmet Menteşe'ye,

Çalışmamı gerçekleştirirken çok önemli yardımları olan Dr. Handan Turgut arkadaşım başta olmak üzere, eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim tüm kıdemlilerime, beraber görev yaptığım tüm doktor, hemşire, teknisyen ve sağlık personeli arkadaşlarıma,

Her türlü fedakârlığı sergileyerek bugünlere gelmemi sağlayan anneciğim ve rahmetli babacığım,

Tanıdığım ilk günden beri her an sevgisini ve desteğini esirgemeyen sevgili eşim Uzm. Dr. Ömer Fazlı'ya, ve oğlum Ömer Fatih'e

Teşekkür ederim.

Dr. Efnan ABDİOĞLU FAZLI

ÖZET

Sıçanlarda Fasiyal Sinirin Ezilme Yaralanmasında Edaravonenin İyileşmeye Olan Etkilerinin Değerlendirilmesi

Giriş

Fasiyal sinir paralizi bireylerde fonksiyonel, kozmetik ve psikolojik problemlere yol açan önemli bir hastalıktır. Günümüzde tedavide kullanılan mevcut cerrahi ve medikal tedaviye ek olarak sinir rejenerasyonunu artıran yeni alternatif tedavilere ihtiyaç vardır. Yaptığımız deneysel çalışmada, fasiyal sinir ezilme yaralanmalarında edaravonenin iyileşmeye olan etkilerini değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Çalışma, etik kurul izni alındıktan sonra ortalama ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 30 adet Sprague-Dawley tipi yetişkin dişi sıçan üzerinde deneysel olarak yapıldı. Sıçanlar her grupta 10 sıçan olmak üzere randomize olarak 3 gruba ayrıldı. Fasiyal sinir trunkusu dallanmadan hemen önce mosquito klemp ile yaklaşık 1 dakika ezilerek fasiyal paralizi oluşturuldu. Sonrasında gruplara 1 hafta süreyle i.p. SF, Prednol ve Edaravone uygulandı. Fonksiyonel değerlendirme 1., 2., 3., 4. haftalarda bıyık hareketleri ve kornea refleksi kullanılarak yapıldı. Çıkarılan trunkus dokusu histopatolojik olarak incelendi. Fasiyal sinir dallarından oluşan doku ve serum örneklerinde SOD1, GPx, CAT, MDA, TAS, TOS, OSI değerleri ölçüldü. $p < 0,05$ düzeyi istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Kornea refleksinin değerlendirilmesinde dördüncü haftada tüm gruplar arasında (Grup 1, Grup 2, Grup 3) anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır ($p < 0.005$). Grup 2 ve Grup 3 arasında bu haftada anlamlı fark yokken Grup 1 ve Grup 3 arasında anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır ($p = 0.003$). Bıyık hareketlerinin değerlendirilmesinde dördüncü haftada tüm gruplar arasında (Grup 1, Grup 2, Grup 3) anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır ($p < 0.005$). Grup 2 ve Grup 3 arasında bu haftada

fark yokken Grup 1 ve Grup 3 arasında anlamlı farklılık saptanmıştır ($p = 0.029$). Serum örneklerinde gruplar arası TAS ve OSI düzeyleri karşılaştırıldığında Grup 2 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Hasar grupları arasındaki doku SOD1, GPx, CAT, MDA, TAS, TOS, OSI değerleri karşılaştırıldığında farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$). Sinir lifi çapında Grup 1 ile 2 ve Grup 1 ile 3 arasında ($p < 0.001$); schwann hücre apoptozis skorunda Grup 1 ile 2 ve Grup 1 ile 3 arasında; aksonal dejenerasyonda Grup 1 ile 2 ve Grup 1 ile 3 arasında; myelin dejenerasyonda ise Grup 1 ile 2 ve Grup 1 ile 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0.05$).

Sonuç

Edaravonenin hayvan modelinde oluşturulan travmatik fasiyal sinir paralizilerinin tedavisinde etkili olduğu ve sinir fonksiyonlarındaki iyileşmenin histopatolojik sonuçlar ile de uyumlu olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler

Edaravone; Fasiyal paralizi; Ezilme yaralanması; Kornea refleksi; Apoptozis; Antioksidan etki

SUMMARY

The Evaluation of the Effect of Edaravone on Recovery of the Facial Nerve After Crush Injury in Rats

Introduction

Facial nerve paralysis is a significant disorder that leads to functional, cosmetic and psychological problems in individuals. Today, there is a need for new alternative therapies that increase nerve regeneration in addition to current surgical and medical treatment methods. In our experimental study, we aim to evaluate the effects of edaravone on healing in facial nerve crush injuries in an animal model.

Materials and Methods

The study was initiated after the consent of the ethics committee was obtained. The experimental study involved 30 Sprague-Dawley adult female rats weighing between from 250-300 gr rats were randomly divided into 3 groups of 10 rats. Immediately before branching of the facial nerve trunk, facial paralysis was created by crushing with mosquito clamp for approximately 1 minute. Afterwards i.p. SF, Prednol and Edaravone were administered. Functional evaluation was performed using whisker movements and corneal reflex at 1, 2, 3, 4 weeks. The extracted truncus was examined by histopatologically. SOD1, GPX, CAT, MDA, TAS, TOS, OSI values were measured in the tissue samples of facial nerve branches and the serum. $P < 0.05$ was accepted as statistically significant.

Results

Corneal reflex was evaluated and significant difference was found between all groups (Group 1, Group 2, Group 3) in the fourth week ($p < 0.005$). There was no significant difference between Group 2 and Group 3 in the fourth week, but there was a significant difference between Group 1 and Group 3 ($p = 0.003$). In the fourth week, whisker movements were detected to be significantly different among all groups (Group 1, Group 2, Group 3) ($p < 0.005$). There was no difference between Group 2 and Group 3 in the fourth week, but there was a difference between Group 1 and Group

3 ($p = 0.029$). A statistically significant difference was found between Group 2 and Group 3 when TAS and OSI levels were compared between serum groups. There was no difference in tissue SOD1, GPx, CAT, MDA, TAS, TOS, OSI values between the injured groups ($p > 0.05$). The histopathological evaluation was as follows: nerve fiber diameter; significant difference between groups 1 and 2 and between groups 1 and 3 ($p < 0.001$); schwann cell apoptosis score: significant difference between Group 1 and 2 and Group 1 and 3; axonal degeneration: significant difference between groups 1 and 2 and between groups 1 and 3; myelin degeneration: significant difference between groups 1 and 2 and between groups 1 and 3 ($p < 0.005$).

Conclusions

It was demonstrated that edaravone is effective in the treatment of traumatic facial paralysis in animal model and improvement in neural function is correlated with histopathological results.

Keywords

Edaravone; Facial paralysis; Crush injury; Corneal reflex; Apoptosis; Antioxidant effect

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

DIŞ KAPAK

İÇ KAPAK

ÖNSÖZ

ÖZET.....ii

SUMMARY iv

İÇİNDEKİLER vi

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ viii

ŞEKİLLER DİZİNİ ix

TABLolar DİZİNİ x

1. GİRİŞ VE AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. Fasiyal Sinir..... 3

2.1.1. Sıçan Fasiyal Sinirinin Anatomisi..... 3

2.2. Periferik sinir 6

2.2.1. Periferik sinir yaralanması 6

2.2.2. Periferik Sinir Dejenerasyonu ve Rejenerasyonu 8

2.3. Fasiyal Sinir Paralizi..... 16

2.3.1. Periferik Fasiyal Paralizi 16

2.3.2. Travmatik Fasiyal Paraliziler 18

2.4. İskemi/reperfüzyon hasarı 19

2.5. Serbest Radikaller..... 20

2.5.1. Serbest Radikal Oluşumu ve Reaktif Oksijen Türleri..... 21

2.5.2. Serbest Radikal Kaynakları..... 24

2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri 25

2.6.1. Enzimatik Antioksidanlar..... 26

2.7. Total Antioksidan Status/ Total Oksidan Status, OSİ 28

2.8. Tedavi gruplarına uygulanan ilaçlar 29

2.8.1. Metilprednizolon 29

2.8.2. Edaravone..... 30

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER..... 32

4. BULGULAR 51

4.1. Fonksiyonel Değerlendirme Bulguları	51
4.2. Histopatolojik Değerlendirme Bulguları.....	57
4.3. Biyokimyasal Değerlendirme Bulguları	66
5.TARTIŞMA	73
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	84
7.KAYNAKLAR	85



KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

- FS: Fasiyal sinir
DKY: Dış Kulak Yolu
SKM: Stenokleidomastoideus
EJV: Eksternal Juguler Ven
FSP: Fasiyal Sinir Paralizi
PS: Periferik Sinir
İ/R: İskemi/ Reperfüzyon
ROS: Reaktif Oksijen Türleri
SOR: Serbest oksijen Radikali
SOD: Süperoksid dismutaz
GPx: Glutasyon Peroksidaz
CAT: Katalaz
OSI: Oksidatif Stres İndeksi
TAS: Total Antioksidan Status
TOS: Total Oksidan Status
OBP: Oksi-3-butenoid asit
MDA: Malondialdehit
i.p.: intraperitoneal
i.m.: intramuskuler

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Sıçan fasiyal sinirinin şematik (A) ve fotografik görünümü (B).....	3
Şekil 2. Rat fasiyal sinirinin periferik dalları.....	5
Şekil 3. Periferik sinir hasarı; Seddon sınıflaması.	6
Şekil 4. Periferik sinir hasarı; Sunderland sınıflaması.	8
Şekil 5. Periferik sinir hasarı sonrası akson ve kas değişiklikleri.....	12
Şekil 6. Periferik sinir dejenerasyonu ve rejenerasyonu (36).	13
Şekil 7. Metilprednizolon ve metilprednizolon sodyum süksinatın biyokimyasal yapısı.	29
Şekil 8. Edaravone ve antioksidan özellik gösteren formu OBP' nin biyokimyasal yapısı.....	30
Şekil 9. A. İntraperitoneal yolla kullanılan anesteziik maddeler. B. Profilaktik olarak işlem öncesi ve sonrası intramuskuler olarak uygulanan antibiyotik.	33
Şekil 10. Cerrahi öncesi hazırlık aşamaları	34
Şekil 11. Fasiyal sinir disseksiyonunda cerrahi aşamalar.....	35
Şekil 12. Tedavide kullanılan ilaçlar	37
Şekil 13. Fasiyal sinirin trunkusu ve dalları.....	38
Şekil 14. Kornea refleksi muayenesi	39
Şekil 15. Fasiyal sinir dokusuna ait fotomikrograf (H&E X 400).....	57
Şekil 16. Fasiyal sinir dokusuna ait fotomikrograf (Masson Trikrom X 1000).....	58
Şekil 17. Fasiyal sinir dokusuna ait fotomikrograf (TUNEL tekniği X 1000).	60
Şekil 18. TAS ortanca, minimum ve maksimum değerleri.....	67
Şekil 19. OSI ortanca, minimum ve maksimum değerleri.....	67

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Periferik fasiyal paralizi nedenleri (44).	17
Tablo 2. TAS hesaplamalarında oluşturulan tablo	47
Tablo 3. TOS hesaplamalarında oluşturulan tablo	49
Tablo 4. Grupların kornea refleksi iyileşmelerinin haftalara göre değişimi	51
Tablo 5. Grup 1' in kornea refleksi iyileşmelerinin işlem öncesine göre 1, 2, 3, 4. haftalarda değerlendirilmesi	52
Tablo 6. Grup 2' nin kornea refleksi iyileşmelerinin işlem öncesine göre 1, 2, 3, 4. haftalarda değerlendirilmesi	53
Tablo 7. Grup 3' ün kornea refleksi iyileşmelerinin işlem öncesine göre 1, 2, 3, 4. haftalarda değerlendirilmesi	53
Tablo 8. Grupların bıyık hareketleri iyileşmelerinin haftalara göre değişimi	54
Tablo 9. Grup 1' in bıyık hareketleri iyileşmelerinin işlem öncesine göre 1, 2, 3, 4. haftalarda değerlendirilmesi	55
Tablo 10. Grup 2' nin bıyık hareketleri iyileşmelerinin işlem öncesine göre 1, 2, 3, 4. haftalarda değerlendirilmesi	56
Tablo 11. Grup 3' ün bıyık hareketleri iyileşmelerinin işlem öncesine göre 1, 2, 3, 4. haftalarda değerlendirilmesi	56
Tablo 12. Hasar gruplarının histopatolojik olarak değerlendirilmesi	61
Tablo 13. Sham gruplarının histopatolojik olarak değerlendirilmesi	62
Tablo 14. Kontrol grubunun sham ve hasar gruplarının histopatolojik olarak karşılaştırılması (n: 9)	63
Tablo 15. Prednol grubunun sham ve hasar gruplarının histopatolojik olarak karşılaştırılması (n: 10)	64
Tablo 16. Edaravone grubunun sham ve hasar gruplarının histopatolojik olarak karşılaştırılması (n: 9)	65
Tablo 17. Gruplar arası serumda ölçülen oksidatif belirteçlerin değerlendirilmesi ..	66
Tablo 18. Hasar grupları arasında dokuda ölçülen oksidatif belirteçlerin değerlendirilmesi	68
Tablo 19. Sham grupları arasında dokuda ölçülen oksidatif belirteçlerin değerlendirilmesi	69
Tablo 20. Kontrol sham ve hasar grupları arasında dokuda ölçülen oksidatif belirteçlerin değerlendirilmesi	70
Tablo 21. Prednol sham ve hasar grupları arasında dokudaki oksidatif belirteçlerin değerlendirilmesi	71
Tablo 22. Edaravone sham ve hasar grupları arasında dokudaki oksidatif belirteçlerin değerlendirilmesi	72

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde periferik fasiyal sinir paralizisi (PFSP) nedenleri arasında ilk sırayı Bell paralizisi alırken etyolojisi belirlenen en sık ikinci neden ise travmalardır. (1, 2). Travmatik PFSP’de mevcut birçok tedavi yöntemine rağmen sekel kalma ihtimali yüksektir (3).Gelişebilecek sekeller neticesinde bireyde kozmetik, fonksiyonel ve de psikolojik problemlerin oluşmaması amacı ile fasiyal paralizinin iyileşmesinde cerrahi tedaviye ek olarak sinir iyileşmesini arttıran yeni alternatif tedavilerin ortaya konulmasına ihtiyaç vardır (1).

Fasiyal sinir gibi periferik sinirlerdeki yaralanmalar sinirde gerilme, ezilme ve kesilme nedeniyle meydana gelmekte ve yaralanmayla beraber sinirin distal ve proksimal uçlarında önemli histopatolojik değişiklikler ortaya çıkmakta ve nöronal apoptoz izlenmektedir (4, 5). Böylece, özellikle nöronal apoptozdan sorumlu çeşitli faktörlerin hasarlı periferik sinirin iyileşmesini önleyebileceği düşünülmektedir. Ginkgo biloba, darbepoetin, hepatocyte growth factor, nimodipine, erythropoietinin gibi ilaçların deney hayvanları modelleri üzerinde fasiyal sinir iyileşmesinde olumlu yönde etkili olduğu gösterilmiştir. Ancak, bu moleküllerden hiçbiri rutin olarak klinik kullanımda yer bulamamıştır (6).

Periferik sinirin ezilme tarzındaki hasarlanmalarında klinik tablo, sinirin lokalize olduğu bölgeye, ezilme oluşturan basınca, basıncın oluşturduğu şiddet etkisine ve basıncın etki süresine bağlı olarak sinir üzerinde mekanik iletim bloğu ve mikrovaskülarizasyon üzerinde blok oluşmaktadır. Daha sonra sinir doku üzerinde basının azalmasıyla oluşan reperfüzyon, ortama fazla miktarda oksijen ve besin maddelerinin yüksek basınçla geri birikimine yol açmakta ve yüksek miktarda serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşmasına sebep olmaktadır. Oluşan bu SOR dokuda lipid peroksidasyonuna sebep olmakta ve böylece doku üzerinde yıkıcı etkiler oluşturmaktadır. (7, 8)

Normalde organizmalarda, oksidan ve antioksidan sistem arasında bir denge vardır. Dengenin bozulması serbest radikallerin oluşumuna neden olur. Antioksidan

enzimler Glutasyon peroksidaz (GPx), Katalaz (CAT), Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Glutasyon redüktaz (GR)'dir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla yeni moleküllerin antioksidan etkileri tespit edilmiş ve bu moleküllerin antioksidan etkilerinden dolayı periferik sinir rejenerasyonunun tedavisinde etkili olabileceği gösterilmiştir (9).

Sinir hücreleri ve hayvan modelleri kullanılarak yapılan çalışmalarda, edaravone (3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one)'nin apoptozisi önlediği gösterilmiş ve Parkinson's ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalıkta kullanılmıştır (10). Edaravone günümüzde Japonya'da serebral infarkt tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Tedavi edici etkisi, in vivo ve in vitro deneysel çalışmalarda kanıtlanmış güçlü serbest radikal tutucu özelliğe sahip olmasıyla açıklanmıştır (11).

Literatürde, edaravonenin fasiyal sinir yaralanması üzerindeki etkinliğini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda da edaravonenin bu etkinliğini gösterebilmek için fasiyal sinir ezilme yaralanması modeli oluşturulmuştur.

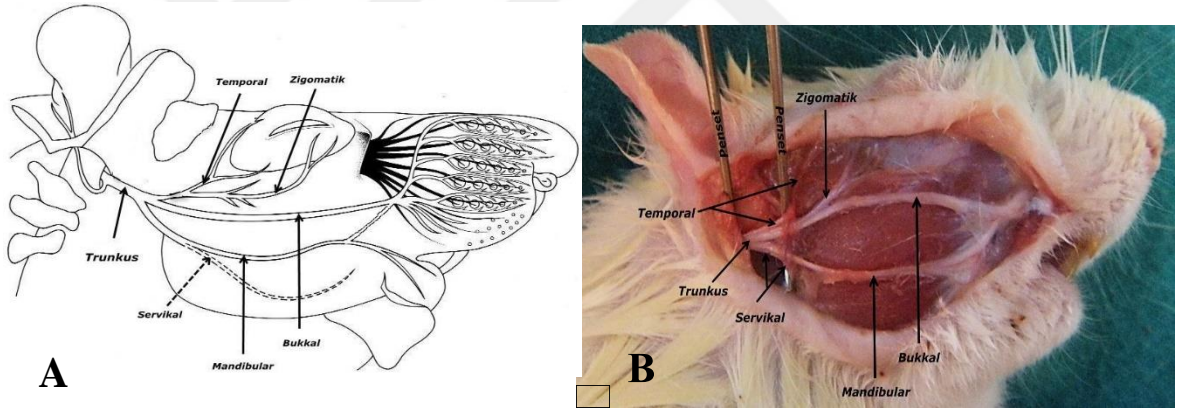
Bu çalışmanın amacı, fasiyal sinir hasarının anlaşılması, edaravone ve metilprednizolonun etkinliğini ortaya çıkarmak ve edaravonenin fasiyal sinir üzerinde oluşturduğu histolojik değişiklikler ve oluşan iskemik yaralanmada oksidan ve antioksidan mekanizma üzerindeki etkilerini göstermektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fasiyal Sinir

2.1.1. Sıçan Fasiyal Sinirinin Anatomisi

Sıçan FS, DKY'nin arka-üstünde, kafatasının lateral kısmında bulunan stilomastoid forameninden çıkar. Posterior aurikuler dal, forameninden çıktıktan sonra üst kısımdan ayrılır. FS trunkusu, proksimalde posterior aurikuler dal, distalde ise periferik dallanma yaptığı bölge ile sınırlandırılır (Şekil 1) (12).



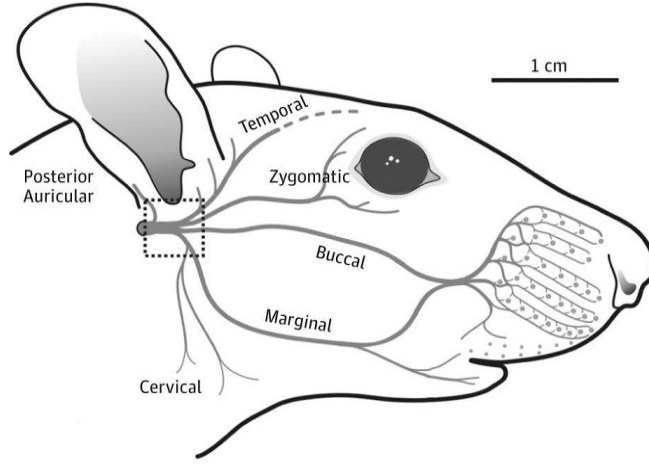
Şekil 1. Sıçan fasiyal sinirinin şematik (A) ve fotografik görünümü (B)

Sinir, DKY'nin kartilaj kısmının arka yüzü ile ilişkili olan servikofasiyal (postaurikuler) kası ikiye böldüğü yerde kolaylıkla bulunabilir. Sinir burada periferik dallara ayrılmadan önce yaklaşık 75–80° bir dönüş yapar. Sinir trapezius kası ile DKY arasından ön- alt yönde ilerler. Sinirin ilk 2 mm' lik kısmı trapezius kasının servikal başı ile örtülüdür ve kafatası ile ilişkili olan bu kasın lateral sınırındaki tendonuna yapılan insizyonla iyi bir görüş elde edilebilir. Sternokleidomastoideus (SKM) kası, sinirin arkasında iken diğastrik kasın arka kısmı sinirin aşağısında kalır. Oksipital ve posterior

aurikuler arterin ortak trunkusu; sinirin pinnaya doğru giden FS trunkusunun orta bölümünün aşağısından geçer. FS trunkusunun toplam uzunluğu 6 mm' dir. Mikroskop kullanılmaksızın tamamıyla diseke edilip, görünür hale getirilebilir. Bu nedenle sinirin uzunluğu, elektrod yerleştirilmesi, insizyon veya uç-uca anastomoz için yeterlidir. FS stilomastoid foramenden çıktıktan sonra 6 mm kadar ilerler ve 6 adet periferik dala ayrılır (Şekil 2). Dallanma parotis bezinin altında meydana gelir ve bez çıkarılmadan sinirin devamlılığının izlenmesi zordur. Parotis bezinin vasküler pedikülü arka- üst kısmındadır. Sinir parotis bezinin içinde değil, hemen altından geçer. Bu yüzden sinir kolaylıkla diseke edilebilir. Aynı zamanda temporo-fasiyal ve serviko-fasiyal dallanmalar tanımlanmıştır (13, 14). Sinir yaklaşık 1–2 mm' lik bir mesafeden sonra ana dallarına ayrılır. Eksternal Juguler Ven (EJV), genelde posterior servikal dal hariç, bütün periferik dalların lateralinden geçer. Posterior servikal dal ise EJV' nin lateralinden geçer. EJV, sinirin dallarının üstünden geçtikten sonra dallara ayrılır, verdiği dallardan internal maksiler ven ve maseterik ven, FS'nin temporal ve zigomatik dallarının medialinden geçer. EJV; FS görüşünün artırılması için diseke veya koagüle edilebilir ve bundan sonra vertebobaziller sistem devreye girer. Ratların internal juguler veni yoktur, bu yüzden EJV ve dalları başın ana venöz drenajını sağlar (15). Sıçanlarda bu venler diseke edilip, mobilize edilebilir, bağlanabilir veya koagüle edilip, sinirin dallandığı bölgeye rahatlıkla ulaşılabilir.

Periferik Dallar

Bütün periferik dallar fasiyal kasların üzerinde uzanırlar, bu nedenle kolaylıkla görülebilirler. Aynı zamanda fasiyal kasların süperfasiyal fasiyasının altında uzanırlar. Bu nedenle, cilt kesisi ve flep elevasyonu esnasında zarar görebilirler (13, 16, 17) (Şekil 2).



Şekil 2. Rat fasiyal sinirinin periferik dalları

Posterior aurikuler dal: FS stilomastoid foramenden çıktıktan hemen sonra ayrılır ve insanlarda rudimenter olan posterior aurikuler kas yapısına ulaşır.

Posterior servikal dal: Posterior servikal dal küçüktür. Periferik dallanmadaki ilk parça ve EJV'nin lateralinde seyreden tek daldır.

Servikal dal: En postero-inferiordaki daldır ve EJV altından geçer. Marjinal mandibuler daldan ayrılır ve masseter kasın içinden geçmez.

Marjinal mandibuler dal: FS'nin en belirgin dalıdır. Masseter kasın yüzeyinden geçerken kolaylıkla tespit edilebilir. Periferik dallanmadan önce marjinal mandibuler dal horizontal olarak 10-12 mm ilerler. Marjinal mandibuler dalın periferik lifleri alt ve üst dudağa ulaşır.

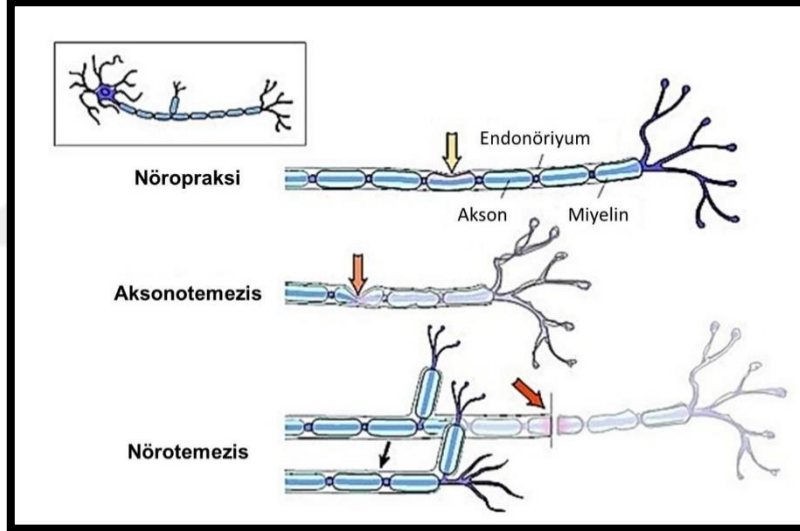
Bukkal dal: Masseter ve temporal kas arasındaki olukta ilerler. Sinir, buruna doğru gözün altından geçerek seyreder ve dallar alt ve üst dudağa ulaşır. Trigeminal sinirin aurikulotemporal dalı, mandibulanın posterior sınırı yakınından ve bukkal dalın ayrıldığı yerden geçer. Bu sinir, FS'yi yakından takip eder, diseksiyonunda mikroskop gerektirir. Periferik lifleri kulak kepçesi önündeki cildi innerve eder.

Temporal ve Zigomatik Dalları: Bu dallar FS gövdesinin dallanmasından sonra veya bukkal daldan ayrılabilir. Kısa ve karışık dallanma yapısına sahiptirler. Göze ve EJV'nin periferik dallarına yakın olmaları nedeniyle görünür hale getirilmeleri, dolayısıyla deneysel çalışmalarda kullanılmaları zordur.

2.2. Periferik sinir

2.2.1. Periferik sinir yaralanması

Periferik sinir hasarı, mekanik travma, termal, iskemik ve kimyasal etkenler gibi çok değişik etkenler ile oluşabilir (18). Burada önemli olan travmanın sinir iç yapısında oluşturduğu hasarın derecesidir. İyileşme düzeyi yaralanma derecesi ile yakından ilgilidir. Bu konu ile ilgili en anlaşılır ve basit sınıflandırma ilk olarak 1941 yılında Cohen tarafından oluşturulan, 1943 yılında Seddon tarafından popülerize edilen sınıflandırmadır (19).



Şekil 3. Periferik sinir hasarı; Seddon sınıflaması.

Seddon, sinir hasarını üçe ayırmıştır (Şekil 3):

1. Nöropraksi: Akson bütünlüğü bozulmaksızın sinirin geçici olarak fonksiyonunu yapamamasıdır. Akson sağlam olduğu için iyileşme tamdır.

2. Aksonotomezis: Akson bütünlüğünde bozulma vardır ve distal kısım dejenere olur; iyileşme tatminkardır.

3. Nörotomezis: Sinirin anatomik bütünlüğünde tam bir kopma vardır; iyileşme düzeyi koşullara bağlıdır.

Sunderland 1951 yılında bu sınıflandırmayı geliştirerek beş sınıfta incelemiş ve bugün kullanılan sınıflandırmayı oluşturmuştur (20) (Şekil 4). Mackinnon, 1988 yılında bu sınıflandırmaya, değişik derecelerde yaralanmaların kombinasyonlarını içeren altıncı bir grubu eklemiştir (21).

1. Birinci derece hasar (nöropraksi): Seddon sınıflandırmasındaki nöropraksi ile uyumludur. Segmental demiyelinizasyon sebebi ile lokal aksonal iletim blokları vardır. Aksonal akım durmuştur (21). Sinir anatomik olarak intakttır, ancak intranöral basıncın artmasına bağlı olarak gelişen fizyolojik bir bloktur (22). Aksonlar sağlam olduğu için rejenerasyon gerekmez. Etiyolojik faktör ortadan kalkınca sinir fonksiyonları tam olarak geri döner ve 12 hafta içinde tamamen iyileşir. (21).

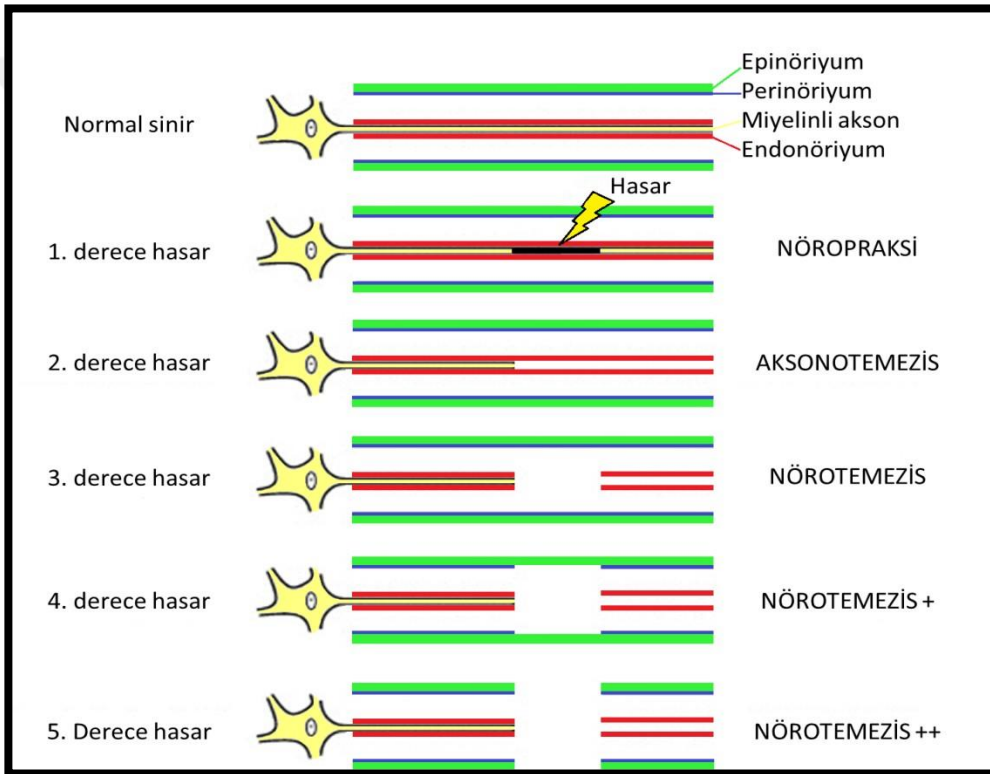
2. İkinci derece hasar (aksonotomezis): İnanöral basıncın artmasına bağlı olarak venöz drenajda obstrüksiyon, buna bağlı olarak aksoplazma hasarı ile birlikte sinirin distal ve proksimalinde şişlik ve buna bağlı basıya uğramış arterioller boyunca sinirin beslenmesinde bozukluk mevcuttur (22). Aksonal kopma vardır. Yaralanma seviyesinin distalinde Wallerian dejenerasyon gelişir (21). Endonörium sağlam olduğundan sinir bütünlüğü korunmuştur ve etiyolojik faktör ortadan kalkınca 3 hafta-2 ay arasında sekelsiz iyileşir (23). Günlük aksonal rejenerasyon miktarı 1 mm/gün olarak kabul edilir (21).

3. Üçüncü derece hasar (endonörotomezis): İnanöral bası artmaya devam etmekte ve endonörium defekti oluşmuştur (22). Endonörium defekti de olduğu için, daha ağır bir yaralanmadır. Spontan iyileşme 2-4 ayda olur (23). İyileşme sürecinde akson yanlış endonörium içine doğru rejenerasyon gösterebilir (misdirection) ve tam olmayan (inkomplet) iyileşmeler meydana gelebilir.

4. Dördüncü derece hasar (perinörotomezis): Perinörium da travmaya katılır. Sinir devamlılığı sadece sağlam kalan epinörium ile sağlanır. Daha çok fibrozis ve iyileşme bozuklukları görülür. Yanlış iyileşmeler daha fazla olur. Spontan iyileşmez, cerrahi müdahale gerekir.

5. Beşinci derece hasar (epinörotomezis): Epinöriyum da olaya katılır ve sinirde tam kesi söz konusudur. Kopan uçlar uç-uca getirilmediği sürece iyileşme şansı yoktur. Kopan uçlar karşı karşıya onarılsa bile iyileşme hiçbir zaman tam (komplet) olmayacaktır.

6. Altıncı derece hasar (kombine): Bir periferik sinir içinde, değişik derecelerde veya farklı seviyelerde birden çok hasarın birlikte bulunduğu karışık yaralanma şekilleridir.



Şekil 4. Periferik sinir hasarı; Sunderland sınıflaması.

2.2.2. Periferik Sinir Dejenerasyonu ve Rejenerasyonu

Sinir yaralanması ve onarımından sonra, biyolojik açıdan, fizyolojik sonuçları etkileyen faktörler; hasar sonrası sağlam kalan sinir hücresi sayısı, aksonal büyüme hızı

ve kalitesi, aksonların uygun bir şekilde rejenerere olması, uç-organların durumu, beyin somatosensoriyal ve motor korteksinde kortikal reorganizasyon işlemidir (24).

Sinir rejenerasyonunun daha iyi kavranmasına ve cerrahi tekniklerin gelişmesine rağmen hasarlı nöronda tam bir fonksiyonel düzelme olması çok nadirdir (25). Sinir hastalıkları ve yaralanmalarında aksonların yeniden büyümesini stimule edecek terapötik stratejiler henüz emekleme döneminde (26).

Dejenerasyon

Sinir hasarı diğer vücut yaralanmalarından farklıdır; akson kesisi bütün sinir uzunluğunu etkilemekte ve onarım süreci en uzak mesafeyi kapsamaktadır (27).

Periferik sinir yaralanmalarında, yaralanma bölgesinin yanı sıra, yaralanma bölgesinin proksimalinde, distalinde ve sinir hücresinin gövdesinde bir takım yapısal ve işlevsel değişiklikler meydana gelir (Şekil 5-6). Hasar distalindeki, tüm miyelinli veya miyelinsiz lifler Wallerian dejenerasyona uğrar (28).

Aksonal yaralanma sonrasında, altı saat içerisinde sinir hücre gövdesinde hacim artar, hücre çekirdeği perifere doğru yer değiştirir, nissl cisimcikleri ve granüllü endoplazmik retikulumlar yıkılır ve sitoplazmanın yapısı değişir. Bu değişikliklerin tümüne birden 'kromatoliz' denir. Bu reaksiyonel değişiklikler hasar sonrası 2-3. haftalarda en yüksek değerine ulaşır. Bu değişikliklerin amacı kaybolan aksoplazmik hacmi yerine koyabilmektir. RNA içeren yapılarda, protein sentezindeki hızlanmayı yansıtacak şekilde bir artış olur (4, 29). Sinir hasarı sonrasında ortaya çıkan kromatoliz, temel olarak rejenerasyonu göstermekle birlikte, aynı zamanda sinir hücresinin travmadan ne şiddetle etkilendiğinin de bir göstergesidir ve geniş aksoplazmik hacim kayıplarında oluşan kromatoliz ile hücre onarım mekanizmaları başlasa bile, hücre ölümü meydana gelebilir (24).

Sinir hücresinde oluşan bu değişikliklerin derecesi, hasarın şiddeti ve yaralanmanın ne kadar proksimalde olduğu ile ilişkilidir. Hücre gövdesine çok yakın yaralanmalar hücre ölümüne neden olabilir. Maggie ve ark 'nın sıçan sıyatik sinir kesisi ile yaptıkları çalışmada, hasar proksimalde yerleşirse nöron kayıp oranı %27 saptanırken,

hasar distalde olduğunda nöron kaybı %7'lere kadar düşmektedir.

Hücre ölümü duyu nöronları için daha tipiktir. Duyu hücre gövdelerinde gerçekleşen hücre ölümünün, hasar sonrası ilk 24 saat içinde gerçekleştiğine dair çeşitli bilgiler vardır ve bu bilgiler ışığında tedavinin ilk 24 saat içerisinde başlaması gerekmektedir. Motor nöronlarda duyu nöronları ile kıyaslandığında hücre ölümü daha az gerçekleşmektedir. Dorsal kök gangliyonlarında aksonotmezis tipi yaralanmalar sonrasında, apoptozis ilişkili hücre ölümü insidansı %20-50 arasında değişmektedir (30).

Proksimaldeki dejenerasyon, travmanın şiddetine ve nörona yakınlığına göre farklı uzunluklarda olmaktadır. Genellikle travmaya en yakın, en son Ranvier boğumuna kadar distalde görülen dejenerasyonun aynısı gözlenir (27). Aksonal yaralanma seviyesinin proksimalinde, birkaç internodal segment boyunca ilerleyen ve distal segmenttekinе benzer bir dejenerasyon görülür. 24 saatlik bir latent periyod sonrası, proksimal kesik uçta terminal ve kollateral aksonal tomurcuklanmalar meydana gelir. Anterograd ilerleyen bu büyümede, kollateral tomurcuklar aksonun sağlam olduğu Ranvier düğümlerinden köken alırken, terminal tomurcuklar zedelene n aksonun proksimal ucundan çıkar. Hasarlanmış sinirde akson ucundan tomurcuklanma ilk 6 saat içinde başlamasına karşın, bu ilk tomurcuklar genelde rezorbe olurlar. İnternal sitoskeletal yapıları olan kalıcı tomurcuklar, genelde ilk 24 saatin sonunda belirmeye başlarlar. Bu şekilde uzanan her bir tomurcuğa 'rejenerasyon ünitesi' denir. Her bir tomurcuğun ucundaki kısma ise 'büyüme konisi' denir (30).

Büyüme konisi, düz endoplazmik retikulum, mikrotübül, mikrofilaman, mitokondri, lizozom ve diğer veziküler yapılardan zengindir. Aktin filamanları ve myozin içerir. Bu yapılar, büyüme konisinin filapoid çıkıntılar yaparak hareketli olmasını sağlar. Distal sinir segmentindeki Schwann hücre kolonları (Büngner bantları) ve Schwann hücrelerinin bazal laminaları, büyüme konisinin ilerlemesi için uygun ortam sağlarlar. Büyüme konisinin, Schwann hücre bazal laminasında bulunan fibronektin ve laminine afinitesi vardır ve aksonal tomurcukların büyüme yönünü belirleyen faktörlerden biri de bu afinitedir (31, 32).

Aksonal tomurcukların sayısı zamanla azalır, bazıları distal segment ile bağlantı yaparken; diğerleri regrese olur. Bağlantıyı yapabilenler matüre olurlar. Uç organlardan

salgılanan trofik maddeler bu yönlenemeyi düzenlerler (29).

Distal sinir segmentinde akson ve myelin kılıfta meydana gelen hücresel dejeneratif değişikliklere ‘Wallerian dejenerasyon’ denir. Wallerian dejenerasyon ile akson ve myelin kökenli maddelerin temizlenmesi sağlanırken, rejenere olan aksonun büyümesi için uygun ortam hazırlanmış olur. Prolifere ve diferansiye olan pluripotent Schwann hücreleri, bazal lamina boyunca dizilerek Büngner bantlarını oluştururlar. Ortada oluşan içi boş tüp yapısına endonöral tüp denir (30).

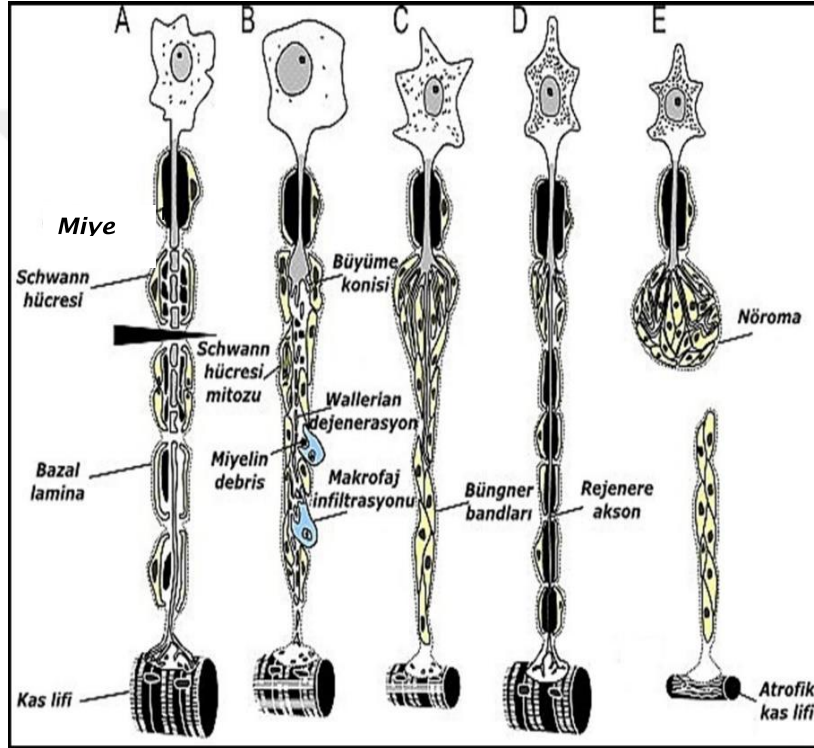
Aksoplazmik hücresel iskelet, proteolitik enzimler ile yıkılır. Bu işlem kalsiyum bağımlıdır. Aksoplazmada nörofilaman yıkımı, kalsiyum ile aktive olan proteolitik enzimlerle meydana gelir. Myelin, Schwann hücreleri ve makrofajlar tarafından fagosite edilir. Bu fiziksel değişikliklerin büyük bir kısmı ilk birkaç hafta içerisinde tamamlanır, ancak tüm debrisin temizlenmesi birkaç ayı bulur (29, 33). Özel radyografik tekniklerle, Schwann hücre proliferasyonunun üçüncü günde en yüksek değerlere ulaştığı ve hasar sonrası ikinci haftanın sonuna dek azalarak devam ettiği gösterilmiştir. Endonöral tüp kılıfı, Schwann hücre bazal laminalarında kollajen birikimine sekonder kalınlaşmaya başlar ve giderek distal segmentte endonöral tüpün genişliği azalır. Eğer endonöral tüp rejenere olan akson ile penetre olamazsa, ilerleyici fibrozis sonucunda tüp tamamen oblitere olur. Endonöral tüpler, hasarlanma sonrası ilk 3 ay içinde orijinal çaplarının %10-20’si kadar bir oranda daralır (30).

Tomurcuklar proksimal sinir güdüğünden distale doğru ilerlerler. Bu hareketlenme sinir iyileşmesinin başarısını etkileyen en önemli olaydır. Bazı tomurcuklar bağ doku içerisine doğru uzanabilirler ki, bu nörinom oluşumu ile sonuçlanır. Tomurcuklar Büngner bantlarını takip ederek, periferik doğru uzanıp hedeflerini bulurlar. Başlangıçta proksimal segmentteki tomurcuklanan akson sayısı, distal segmentteki mevcut akson sayısından daha fazladır, ancak zaman içerisinde periferik bağlantıyı yapamayan tomurcuklar dejenerer ve akson sayıları eşitlenir (4, 29).

Hayvan deneylerinde distal segmentin rejenerasyon hızının nörotomezis tipi yaralanma sonrası 2.0–3.5 mm/gün, aksonomezis tipi yaralanma sonrası 3.0–4.5 mm/gün olduğu saptanmıştır. İnsanlarda ise ortalama aksonal rejenerasyon hızı günde 1–2 mm’dir (29). Proksimalden distale doğru ilerledikçe rejenerasyon hızı azalmaktadır.

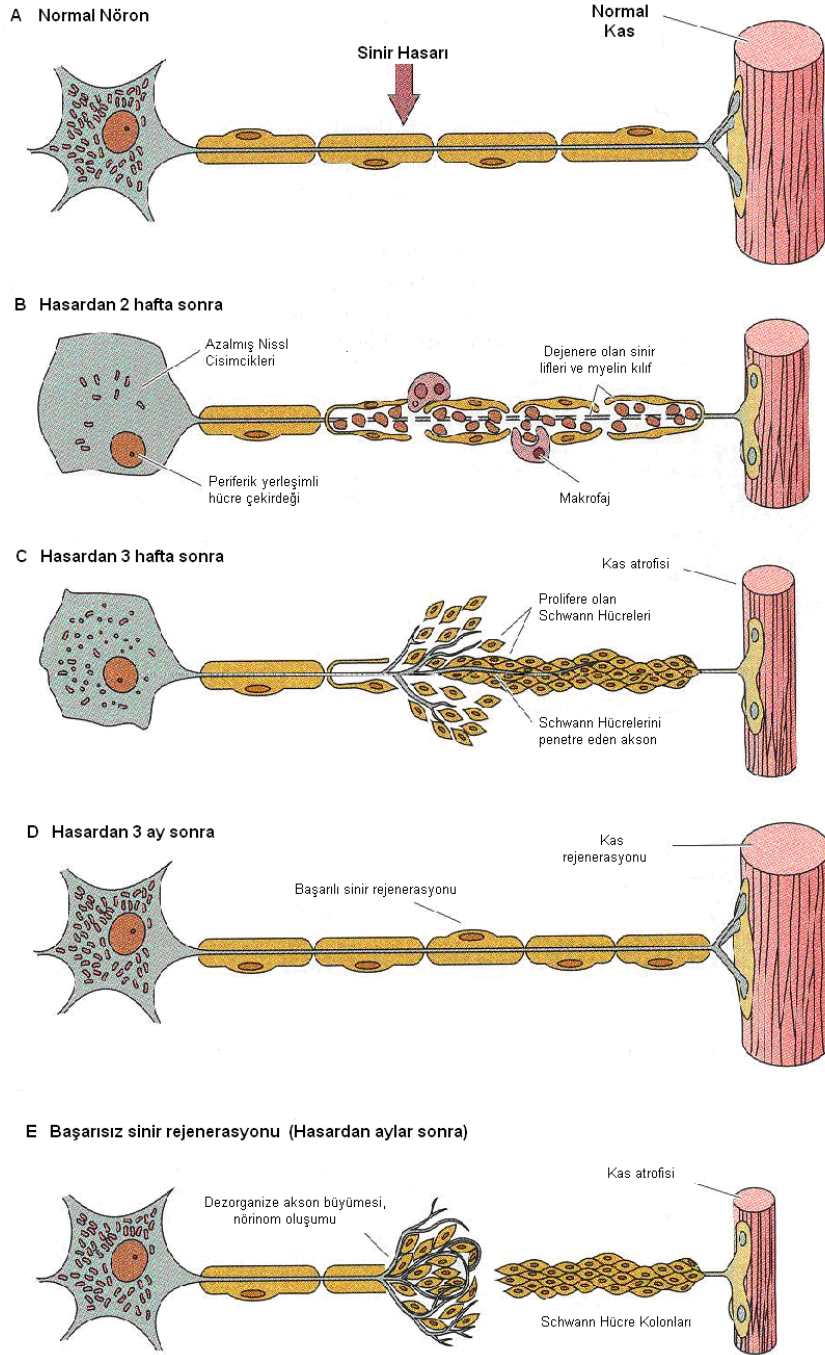
Rejenerasyon hızı, hasar alanının sinir hücre gövdesine uzaklığı ile ters orantılıdır (32).

Distal sinir segmentinin vasküler ağı da yaranmaya cevap olarak, önce vazokonstrükte olur, daha sonra vazodilate olur, ama en başarılı aksonal rejenerasyondan sonra bile orijinal kan akımının ancak %60-80'ine ulaşabilir (34).



Şekil 5. Periferik sinir hasarı sonrası akson ve kas değişiklikleri.

A. Normal sinir, B.Wallerian dejenerasyon, C. Demiyelinizasyon, D. Aksonal rejenerasyon, E. Aksonal dejenerasyon ve nöroma oluşumu (35).



Şekil 6. Periferik sinir dejenerasyonu ve rejenerasyonu (36).

Rejenerasyon

Yaralanmanın distalinde kalan akson ve miyelin kılıf tamamen dejenere olur; artıkları makrofajlar tarafından uzaklaştırılır. Bu sırada Schwann hücreleri de kalan bağ dokusu içinde proliferer olur ve hücre sütunları meydana getirir. Schwann hücreleri sinir rejenerasyonunda önemli bir yer tutarlar. Hem aksonların hedeflerine ulaşmaları için gereken fiziksel uyarıları oluştururlar hem de aksonal gelişmeyi destekleyen ekstraselüler proteinleri sağlarlar. Hasar gören bir sinirde Schwann hücreleri aktive olur, çoğalarak distal segmentte makrofaj aktivitesine yardımcı olurlar. Miyelin fagosite edilse de Schwann hücreleri sağlam kalır. Schwann hücrelerinin oluşturduğu tübüller içine doğru akson rejenerasyonu kompleks bir süreçtir. Rejenere olan bir akson distale doğru birden fazla tomurcuk gönderebilir. Bunu hedef organa olan spesifiteye göre oluşan selektif atrofi izler (26) (Şekil 6).

Kesilen ve rejenere olan proksimal aksonun ucunda oluşan genişlemiş aksonal tomurcuklanmaya büyüme konisi adı verilir. Büyüme konisi aksonal büyüme ve rejenerasyon için gerekli destek dokulara ulaşacak nöritler ile bol miktarda aksonal organel ve mikrofilamalardan oluşur. Optimal olarak büyüme konisi Schwann hücre tüplerine yönelmektedir. Schwann hücre sütunlarına giren lifler efektör organa ulaşınca kadar büyüme devam ederler. Her Schwann hücre sütunu çeşitli liflerden uzantılar alır. Mikst sinir yaralanmalarında duyu liflerinin rejenerasyonu motor son plaklara bağlı sütunlara doğru gelişirse kas fonksiyonu geri dönmez (37, 38).

Motor lifler duyu son plaklarına bağlı sütunlara doğru gelişirse fizyolojik mekanizmalar devreye girerek budama ile uzaklaştırılır (39) (Şekil 6 B). Tek bir motor aksonun kollateralleri ayrı bir kası reinerve edebilir ve tek bir duyu aksonunun kollateralleri ayrı deri alanının duyusunu alabilir.

Kesilen aksonlar travmayı takiben ilk 6 saat içinde rejenere olmaya başlar. Başlangıç filizler genellikle rezorbe olur; kalıcı filizler birinci günden sonra oluşur. Bu filizlerin distale ilerlemesi kesi alanında yavaşlar, buna skar gecikmesi denir. Bu gecikme sıçanlarda 48 saat kadar kısa olabilir, fakat şempanze ve insanlarda birkaç haftayı

bulabilir. Bazı aksonlar onarım alanını karşıya geçip distal uca ulaşamazlar; kendi üzerlerine kıvrılarak Schwann hücreleri ve bağ dokusu ile beraber nöroma oluştururlar. Nöromalar sinir gövdesi içinde kaldıklarında yaptıkları baskı ile fonksiyonel rejenerasyon sağlayacak aksonları da engellerler. Bu, sinir onarımlarındaki başarısızlıkların en önemli sebeplerinden biridir (Şekil 6 E). Distal güdükte aksonların ilerleme hızı türe bağlıdır. Bu süreç pek çok mekanizma tarafından kontrol edilmektedir. Bazal lamina yapıları ile kontakt yönlendirme ve nörotropizm- kemotaksis bunlardan bazılarıdır.

Akson distal segmente ulaştıktan sonra perifere doğru büyümeye devam eder ve hedef organa varmasından sonra matürasyon aşaması başlar. Proksimalden distale doğru akson çapı artar, miyelinizasyon bunu takip eder. Rejenere olmuş bir akson normalden daha incedir ve daha ince bir miyelin tabakası vardır (40).

Hatalı Rejenerasyon

- **Basit yanlış yönlendirme:** Bir aksonun, daha önce innerve ettiği kasa giden tübül yerine farklı kasa giden tübül içine doğru yönlendirilmesidir. Bu durumun klinikteki karşılığı sinkinezidir.
- **Karmaşık yanlış yönlendirme:** Tek bir aksonun farklı kaslara giden tübüller içine dallanarak innerve etmesidir. Bu durum klinikte kitle hareketi olarak gözlenir.
- **Hatalı rejenerasyonun diğer sekelleri:** Tikler, spazmlar, kontraktürler, zayıflıklar ve gustatuar lakrimasyon.
- **Gustatuar lakrimasyon (Bogorad sendromu, Timsah gözyaşı sendromu):** Tükürük bezlerine gitmesi gereken liflerin hatalı olarak gözyaşı bezlerine yönlendirilmesi sonucunda yemek yerken gözyaşının akmasıdır (36).

2.3. Fasiyal Sinir Paralizi

Fasiyal sinir (FS) diğer sinirlere göre çok uzun ve dar bir kemik kanal içinde kısırlar yaparak seyrettiği için FS, motor sinirler içerisinde en sık fonksiyon kaybına uğrayan sinirdir. Fasiyal sinir paralizilerinin (FSP) yaklaşık %90'ı kemik kanal içerisindeki bir patolojiye bağlı olarak oluşmuştur (41). FS iletişim ve ifade etme açısından önemlidir ve bu fonksiyonların kaybı yaşam kalitesini ciddi şekilde etkiler. FSP santral ve periferik olmak üzere ikiye ayrılır. Periferik tipi daha yaygın olarak görülmektedir (42).

2.3.1. Periferik Fasiyal Paralizi

Periferik sinirlerde ödem, gerilme, tümöral infiltrasyon, enfeksiyon, sinire bası ve travmatik kesiler gibi nedenlerden dolayı yaralanmalar oluşabilir. En sık FSP sebebi İdiyopatik fasiyal paralizilerinden (Bell paralizi de dahil) sonra en sık fasiyal paralizi sebebi travmatik nedenli fasiyal paralizilerdir (43).

Çalışmamız deneysel travmatik fasiyal paralizi modeli ile ilgili olduğundan sadece travmatik fasiyal paraliziden bahsedilecektir.

May ve Shambaugh (1991), 1900-1990 yılları arasındaki literatürleri tarayarak 90 yıllık süre içinde yayınlanan periferik fasiyal paralizi nedenlerini saptamışlardır (Tablo 1) (44).

Tablo 1. Periferik fasiyal paralizi nedenleri (44).

Konjenital	Möbius sendromu Travmatik ve forsepsli doğum
Enfeksiyöz	Eksternal otit Otitis media Mastoidit Herpes zoster otikus (Ramsay Hunt sendromu) Kr. Süpüratif otitis media ve kolesteatom Malign otitis eksterna (P.aeroginosa) Tüberküloz Lyme hastalığı Enfeksiyöz mononükleozis Akut süpüratif parotidit
Travmatik	Temporal kemik kırıkları Doğum travması Yüzdeki künt travmalar ve laserasyonlar Yüz, boyun ve temporal kemiğin penetran yaralanmaları Cerrahi travmalar (iyatrojenik)
Neoplastik	Glomus jugulare-timpanikum tümörleri Temporal kemik ve parotis malign tümörleri Fasiyal sinir nörinomu Vestibüler schwannom Alt kranial sinir nörinomları (9,10,11.Kr sinirler) Menenjiomlar Lösemiler Histiyositozis-X
Metabolik ve Sistemik	Gebelik Diabetes mellitus Sarkoidoz Guillán Barré hastalığı Otoimmün hastalıklar
İdiyopatik	Bell paralizisi Melkerson-Rosenthal sendromu

2.3.2. Travmatik Fasiyal Paraliziler

Fasiyal paralizilerin Bell paralizisinden sonra ikinci en sık nedeni travmalardır. Künt travmalar sonucunda gelişen temporal kemik kırıklarında, ateşli silah yaralanmalarında, temporal kemik cerrahisi sırasındaki iatrojenik travmalarda, parotis bölgesinin penetran yaralanmalarında, parotis cerrahisi sırasında ve yüz bölgesinin cerrahisi sırasında gelişen iatrojenik travmalarda fasiyal paralizi görülebilir. İatrojenik fasiyal paralizilerin çoğunluğu serebellopontin köşe cerrahilerinde oluşmaktadır.

Travmatik fasiyal paralizilerin en sık nedeni trafik kazaları, düşme ve darp sonucunda gelişen temporal kemik kırıklarıdır (2). Trafik kazalarının gün geçtikçe artmasıyla kafa travmalarının sıklığı da artmaktadır. Kafa travmalarına bağlı fasiyal paralizilerin sıklığı, literatürlere göre %2-3 arasında değişmektedir. N. olfaktorius hariç tutulursa (%6), kafa travmalarında en çok yaralanan sinir FS'dir.

Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi ile Beyin Cerrahisi bölümlerinin ilgi alanına giren bazı cerrahi girişimler sırasında, FS yaralanabilir. Bu cerrahi girişimlerden bazıları; timpanoplasti, radikal mastoidektomi, mastoid obliterasyon, modifiye radikal mastoidektomi, stapedektomi, endolenfatik kese ve vestibüler sinire yönelik girişimler gibi timpano-mastoid cerrahiler sırasında, akustik tümör cerrahisi gibi beyin cerrahilerinin, arka ve orta kranial fossaya yönelik ameliyatları, özellikle parotis tümörlerinde uygulanan parotidektomiler olarak sıralanabilir. Akustik nörinom, posterior fossa meningiomları, temporal kemik kanserleri, glomus tümörleri ve özellikle malign parotis tümörlerinin cerrahi tedavisine bağlı olarak da fasiyal paraliziler oluşabilir (45). İatrojenik fasiyal sinir paralizileri nadir olarak görülür ve insidansı %1.7 olarak rapor edilmiştir (46). Fasiyal sinir anatomik varyasyonlarında iatrojenik hasar oluşma riski yüksektir. En sık gözlenen varyasyon dehissanslar olup sıklıkla timpanik segmentte oval pencere üzerinde gözlenmektedir (47).

Temporal kemik kırıkları, temporal kemiğin petröz parçasının uzun eksenine göre; Longitudinal (eksene paralel), transvers (eksene dik) ve ikisinin birarada olduğu

mikst kırıklar olarak üç başlıkta toplanır. Longitudinal kırıklarda, %20 oranında, transvers kırıklarda %50 civarında fasiyal paralizi ortaya çıkmakta ve transvers kırıklarda total işitme kaybı riski yüksek orandadır. Longitudinal kırıklarda fasiyal paralizi büyük oranda hematoma, ödem, gerilme ve kırık kemik parçalarının basısı gibi sekonder olaylara bağlı olduğu halde, transvers kırıklarda bunlara ek olarak sinir kopmaları da vardır. Longitudinal kırıklarda sinir daha çok genikülat ganglion bölgesinde etkilendiği halde, transvers kırıklarda bu alana, timpanik segment bölgesi de eklenir (45).

2.4. İskemi/reperfüzyon hasarı

Periferik Sinir (PS) iskemisini takiben kan akımının yeniden başlaması oksidatif strese bağlı sinir hasarı ve kan sinir bariyerinin bozulması ile sonuçlanır. PS'ler uyarıların iletimi ve aksonal transportu desteklemek için sürekli enerjiye ve yüksek metabolik aktiviteye ihtiyaç duyarlar. Kan akımında kesilme iletimin aksamasına neden olur. İmpuls iletimi ve aksonal transport intranöral mikrosirkülasyon ile sağlanan aralıksız enerjiye bağlıdır. Kan sirkülasyonunun kesintiyi takiben hızlı düzelmemesi aksonal ölümle sonuçlanır (48, 49).

Geçici iskemi periyodundan sonra kan akımının yeniden başlaması reperfüzyon hasarına sebep olabilir. Reperfüzyon hasarı aşırı Ca^{++} yüklenmesi, serbest yağ asitlerinde yükselme, extrasellüler asidozis, kapiller permeabilitede artma, kan sinir bariyerinde bozulma, NO metabolizmasının bozulmasına neden olur (48). Buna ek olarak reperfüzyon sinirde oksidatif strese neden olur ve serbest radikal oluşumu hücrenin savunma mekanizmalarını bozar (49).

İskemik sinir hasarı segmental demiyelinizasyon, endonöral ödem, iletimde bozulma, aksonal dejenerasyon ile multifokal veya diffüz sinir lifi kaybını içerir (48). Diyabetes mellitus, vasküler oklüziv hastalıklar, nekrotizan vaskülitler ve travma sadece periferik sinir iskemisi ile ilgili nöropatiye neden olan birkaç patolojik durumdur. Son yıllarda yoğun olarak siyatik sinirde oluşturulmuş iskemi/reperfüzyon (İR) incelenmiştir (50).

Normal dokular iskemik hasara karşı çok sayıda defans mekanizmasına sahiptir. PSS'de bol miktarda bulunan lipidden zengin miyelin reperfüzyon esnasındaki serbest radikal aracılı lipid peroksidasyonunun hedefidir. İR ile ilişkili toksik substanslar dokulardaki koruyucu sistemleri bozar ve ROS'nin dokuda birikmesine neden olur (48, 51).

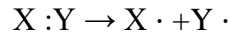
İR miyelinli liflerde daha fazla hasara yol açar. Lif dejenerasyonu endonöral ödem ile ilgilidir. Aksonda çekilme (büzüşme) ve şişme görülür. Çarpıcı morfolojik değişiklikler elektron mikroskopik incelemede miyelin kılıfta vakuolizasyon ve delaminasyon şeklinde görülür. Bazı liflerde belirgin total akson yıkımı ve bal peteği görünümü açıktır. Schwann hücrelerinde de dejeneratif değişiklikler görülür. Miyelinsiz liflerde ise ödem ile birlikte vakuolizasyon ve dejenerasyon olur (51).

2.5. Serbest Radikaller

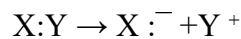
Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftir. Yarı ömürleri çok kısa ve normal metabolik olaylar sırasında oluşabilecekleri gibi çok çeşitli dış etkenlere bağlı olarak da oluşabilirler (52).

Serbest radikaller üç yolla meydana gelirler (53).

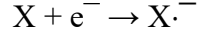
1- Kovalent bağı oluşturan elektronlardan birinin bağı atomlarından, diğerinin ötekisinde kalmasıyla sonuçlanan bağı kırılması.



2- Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybolması. Kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomların birinde kalır. Böylece serbest radikaller değil iyonlar meydana gelir.



- 3- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi.



Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötr olabilirler. Organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler. İki serbest radikalın birbiri ile reaksiyona girmesi sonucu radikal olmayan bir bileşik ortaya çıkar ve her iki serbest radikal ortadan kalkar. Bir serbest radikal, radikal olmayan bir yapıyla reaksiyona girince başka bir serbest radikal oluşturur. Bu özellik serbest radikallerin zincir reaksiyonları oluşturmasını sağlar (9).

2.5.1. Serbest Radikal Oluşumu ve Reaktif Oksijen Türleri

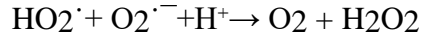
Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali (SOR) biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler, oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerin iyonları ve hidroksil radikalidir. Oksijen atomu toplam sekiz elektron içerir. Bu elektronlardan dış yörüngede bulunan iki tanesi eşleşmemiştir. Moleküler oksijen (O₂), iki tane eşleşmemiş elektronu bulunduğu için kendisi de bir radikaldir. Her iki atom denge halinde olduğundan bu oksijen molekülünün reaktif bir özelliği yoktur. Bu özelliğinden dolayı oksijen, diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer. Radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girer. Oksijen en son suya indirgenir. Mitokondriyal elektron transport zinciri tarafından gerçekleştirilen bu süreçte, %1-2 oranında moleküler oksijen kaçağı meydana gelir. Bu oksijenin redüksiyonu ile süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi reaktif ürünler açığa çıkar. Bu radikaller oksijenin toksik etkisinin gerçek nedenini oluştururlar (9).

Süperoksit Radikali

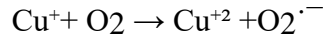
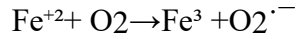
Tüm aerobik hücrelerde, oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu serbest süperoksit radikal anyonu ($O_2^{\cdot-}$) meydana gelir (54). Diğer radikallere oranla reaktivitesi çok azdır. Oluşumuna neden olduğu radikallerle birlikte organizmada genel bir oksitleyici gibi davranmaktadır. Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Hidrojen peroksidin kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olması bakımından önemlidir (9). Süperoksidin, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO) ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir (55).



Oksidan olarak görev yaptığında, örneğin epinefrinin oksidasyonunda bir elektron alır ve hidrojen peroksida indirgenir. Süperoksit ile perhidroksil radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda oksijen ve hidrojen peroksid meydana gelir.



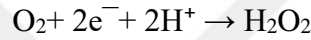
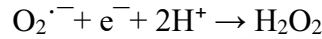
İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu da süperoksit meydana getirebilir.



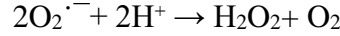
Bu reaksiyonlar geri dönüşümlüdürler. Bu yüzden, geçiş metalleri iyonlarının oksijenle reaksiyonları, geri dönüşümlü redoks reaksiyonları olarak düşünülebilir (56).

Hidrojen Peroksit

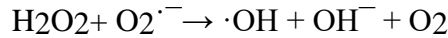
Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü, iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H₂O₂) meydana getirir. H₂O₂, membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır (57).



Hidrojen peroksit, genellikle biyolojik sistemlerde süperoksidin dismutasyonu ile meydana gelir. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir (53).



Hidrojen peroksit, bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (58).



Hidroksil Radikali

Oksijen radikalleri içinde en reaktif ve en toksik etkili olanı hidroksil radikalidir ($\cdot OH$). Hidrojen peroksidin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle, hidroksil radikali ($\cdot OH$) meydana gelir. Suyun yüksek enerjili iyonize radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur. Yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştığı yerde büyük hasara sebep olur. Haber- Weiss ve Fenton reaksiyonları hidroksil oluşumundaki

en önemli reaksiyonlardır (59).

2.5.2. Serbest Radikal Kaynakları

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu, normal metabolik olayların seyri esnasında ve organizmanın çeşitli dış etkilere maruz kalmasıyla meydana gelir. Serbest radikaller, iyonize radyasyon, stres yapıcı durumlar, enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar sonucunda vücuttaki biyolojik fonksiyonların yan ürünü olarak oluşurlar (60).

- a- Biyolojik kaynaklar
 - i. Aktive olmuş fagositler
 - ii. Antineoplastik ajanlar: nitrofurantoin, bleomisin, doxorubicine
 - iii. Radyasyon
 - iv. Alışkanlık yapan maddeler: alkol ve uyuşturucu maddeler
 - v. Çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler; hiperoksi, pestisitler, sigara dumanı, solventler, anestezipler, aromatik hidrokarbonlar)
 - vi. Stres: Streste katekolamin düzeyi artar. Katekolaminlerin oksidasyonu ise serbest radikal kaynağıdır.

- b- İntrasellüler kaynaklar
 - i. Küçük moleküllerin otooksidasyonu
 - ii. Enzimler ve proteinler, ksantin, oksidaz, triptofan, dioksijenaz, hemoglobin
 - iii. Mitokondrial elektron transportu
 - iv. Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom P-450, sitokrom b5)
 - v. Peroksizomlar: oksidazlar, flavoproteinler
 - vi. Plazma membranı: lipoksijenaz, prostoglandin

sentetaz, fagositlerde NADPH oksidaz, lipid peroksidasyonu
vii. Oksidatif stres yapıcı durumlar: iskemi, travma, intoksikasyon serbest radikal de başka molekülerle reaksiyona girerler. Lipid peroksidasyonu, başlangıç serbest radikaller ile değil sekonder serbest radikaller üzerinden dokulara hasar verir (61).

2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri olarak bilinirler. Antioksidanlar, doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılırlar. Antioksidanlar, serbest oksijen radikallerine bir hidrojen iyonu vererek, bu radikalleri kendilerine bağlayarak ya da onları daha zayıf bir moleküle çevirerek radikal hasarını önlerler. Antioksidanlar, hücrenin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler (53, 62).

Antioksidanlar;

- Reaktif oksijen radikallerinin tutulması veya daha zayıf bir moleküle çevrilmesi (toplayıcı etki),
- Reaktif oksijen radikallerinin aktivitelerinin azaltılması veya inaktif şekle dönüşmesinin sağlanması (bastırıcı etki, vitaminler, flavanoidler),
- Reaktif oksijen radikallerinin bağlanarak zincirlerinin kırılması ile fonksiyonlarının engellenmesi (zincir kırıcı etki)
- Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması (onarıcı etki) olmak üzere dört ayrı şekilde etki ederler.

A- Doğal (Endojen) Antioksidanlar;

Enzimatik olanlar ve enzimatik olmayanlar şeklinde ikiye ayrılırlar.

a- Enzimler

- i. Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi
- ii. Süperoksit dismutaz (SOD)
- iii. Katalaz (CAT)
- iv. Glutatyon Peroksidaz (GPx)
- v. Glutatyon-S-transferaz
- vi. Hidroperoksidaz

b- Enzim olmayanlar

- i. Lipid fazda bulunanlar; α -tokoferol (E-vitamini), β -karoten
- ii. Sıvı fazda (hücre sitozolünde veya plazmada bulunanlar); askorbik asit, melatonin, urat, sistein, seruloplazmin, transferin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, metionin, albumin, bilirubin, glutatyon

B- Eksojen Antioksidanlar (İlaçlar)

- i. Ksantin oksidaz inhibitörleri
- ii. NADPH Oksidaz inhibitörleri
- iii. Rekombinant süperoksit dismutaz
- iv. Trolox-C

2.6.1. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz enzimi süperoksidin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler (63, 64).



Bu reaksiyon kendiliğinden de meydana gelebilir. Fakat SOD ile katalizlendiğinde reaksiyon hızı 4000 kat artar. İnsanda, SOD'un iki tipi bulunmaktadır. Bunlar sitoplazmada bulunan Cu ve Zn içeren SOD ve mitokondride bulunan Mn içeren SOD dır. Süperoksit, oksijeni metabolize eden hücreleri serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korur. Lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Normal metabolizma sırasında, hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde intraselüler süperoksit düzeyleri düşük tutulur (65, 66).

Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Glutasyon peroksidaz, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. GPx'in fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller. Eritrositlerde de GPx oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (44, 67, 68).

Katalaz

Katalaz, aerobik hücrelerin çoğunda bulunur. Görevi, hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalamaktır (69). Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak bu enzim, bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. Katalazın indirgeyici aktivitesi, hidrojen peroksit, metil, etil ve hidroperoksitler gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine ise etki etmez (67).



2.7. Total Antioksidan Status/ Total Oksidan Status, OSİ

Total Antioksidatif Stres (TAS)

Total antioksidan seviyesini göstermektedir. Bilindiği gibi antioksidan moleküller organizmada zararlı reaksiyonları önlerler. Antioksidanların serum veya plazma konsantrasyonları laboratuvarında ayrı ayrı ölçülebilir. Fakat ayrı ayrı ölçüm pahalı, komplike ve zaman alıcıdır. Çünkü antioksidanların ayrı ayrı ölçümü pratik değildir ve tüm antioksidanların additif etkisi vardır. TAS ölçümü için çeşitli yöntemler mevcuttur. Erel tarafından geliştirilen yeni yöntemde örnekte antioksidan aktiviteye karşı radikaller oluşturulur. Oluşturulan radikaller kolorimetrik olarak ölçülür (70).

Total Oksidatif Stres (TOS)

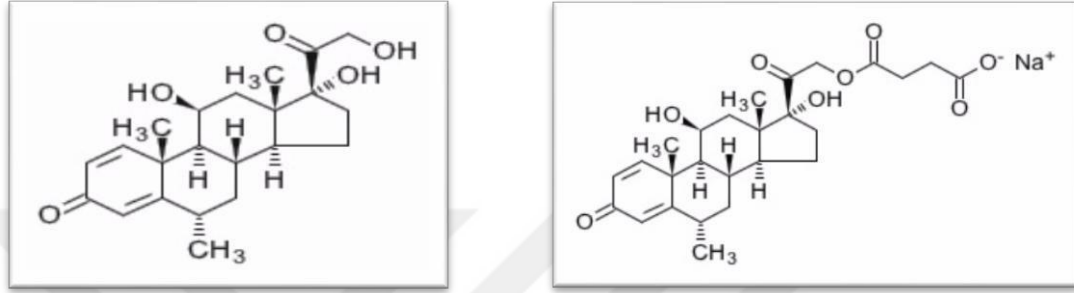
Total oksidatif stresin göstergesidir. Oksidatif stres ve serbest oksijen radikalleri organizmada hücre ve dokularda hasara neden olur. Serum veya plazmadaki farklı oksidan maddelerin ölçümü laboratuvarında ayrı ayrı yapılabilir. Bu şekilde ayrı ayrı ölçüm yapmak uzun zaman gerektiren, pahalı ve komplike metodlar gerektirir. Farklı oksidan maddelerin ayrı ayrı ölçümü pratik değildir. TOS düzeyi için birkaç farklı kolorimetrik metod geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin hiçbiri pratik değildir ve büyük analitik ve teknik problemler içermektedir. Erel tarafından geliştirilen yeni yöntem TOS ölçümünde kolay, uygulanabilir, hasas ve pahalı olmayan pratik bir yöntemdir (71).

Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total oksidanların seviyelerinin, total antioksidanların seviyelerine bölünmesiyle elde edilir. Değerin yüksek olması oksidatif stresin arttığını gösterir (70).

2.8. Tedavi gruplarına uygulanan ilaçlar

2.8.1. Metilprednizolon



Şekil 7. Metilprednizolon ve metilprednizolon sodyum süksinatın biyokimyasal yapısı.

Metilprednizolon orta etkili sentetik bir glukokortikoiddir, mineralokortikoid etkinliği çok düşüktür. Dokulara yayılımı fazladır, oral biyoyararlanımı yüksektir ve kan-beyin bariyerini geçebilir. İntravenöz uygulamada oral uygulamada olduğu gibi ilk geçiş etkisine maruz kalmaz ve santral sinir sisteminde bile hızla yüksek miktarlara ulaşır. Metilprednizolon orta etki süreli olup dolaşımında 12-36 saat kalır. Parenteral formu hidroksillidir, suda çözünmeyi sağlayabilmek için fosfat veya süksinat esterleri eklenmiştir (Prednol-L; metilprednizolone sodyum süksinat) (72, 73) (Şekil 7).

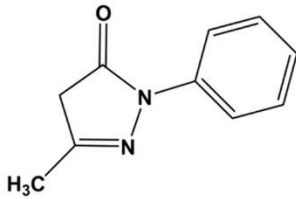
Genel olarak glukokortikoidler karbonhidrat metabolizması üzerinde insüline zıt etkilere sahiptir. Karaciğerde glukoneogenezi artırır, karaciğer hariç diğer dokularda protein sentezini inhibe eder. Hangi nedene bağlı olursa olsun suprafizyolojik konsantrasyonlarda enflamasyonun tüm bulgularını ortadan kaldırır. Bu etkiyi başlangıç döneminde nötrofil, bazofil ve makrofajlardan salınan kemotaktik ajanların salınım ve sentezini inhibe ederek, daha sonra ise makrofaj migrasyonunu önleyerek ve trombosit aktive edici faktörü inhibe edip lizozom membramlarını stabilize ederek sağlar (73).

Metilprednizolon, antiinflamatuvar ve antialerjik etkileri nedeniyle tüm otoimmün hastalıkların tedavisinde, aspirasyon ve kimyasal pnömoni tedavisinde, malign tümörlerin ve birçok hematolojik hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Antioksidan

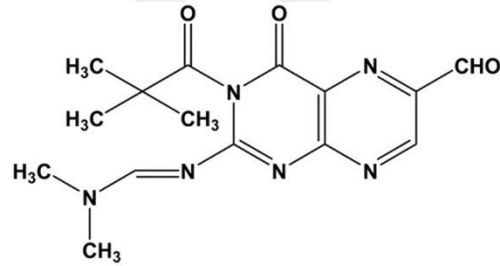
özelliği ve lipid peroksidasyonunu inhibe etme özelliğinden dolayı yüksek dozlarda doku hasarını azaltmaktadır. Yüksek doz metilprednizolon kullanımının spinal kord hasarını azalttığı gösterilmiştir (74, 75).

Bell paralizisinin rutin tedavisinde en çok tercih edilen ajan steroidlerdir. Antiinflatuar ve antiödem etkilerinden yaralanılarak FS'nin fallop kanalı içindeki sıkışmasını azaltmak ve dejenerasyonu önlemek amacıyla kullanılır. Klasik tedavi protokolünde 1mg/kg/gün prednizolon iki eşit dozda uygulanır ve başlangıç dozu altı gün devam ettikten sonra dört gün içinde ilaç azaltılarak kesilir (76). İnkomplet paralizi durumunda yüksek iyi prognoz nedeniyle kimi yazarlar steroid tedavisi önermemiştir (77), ancak tedavi başlandığında paralizinin ağırlığı ile tedavi etkinliği arasında ilişki olmadığını gösteren çalışmalar da vardır (76).

2.8.2. Edaravone



3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one
(edaravone, C₁₀H₁₀N₂O)



2-(N,N-dimethylaminomethyleneamino)-
6-formyl-3-pivaloylpteridin-4-one
(DFP, C₁₅H₁₈N₆O₃)

şekil 8. Edaravone ve antioksidan özellik gösteren formu OBP' nin biyokimyasal yapısı

Edaravone 2001 yılından itibaren Japonya'da serebral infarkt tedavisinde nöroprotektif etkili ilaç olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda Amerika'da inmeli hastaların erken tedavisinde etkili olduğu ifade edilmiştir (78, 79). Edaravone (3-metil-1-fenil-prazolin-5-one) bir serbest radikal süpürücüsü ve beyin koruyucudur (şekil 8). Hem non enzimatik lipid peroksidasyonunu hem de lipoksijenaz yollarını etkiler ve kuvvetli antioksidan etkileri bulunmaktadır (80). Son zamanlarda edaravonenin antioksidan etkisi

dışında başka etkileri de olduğu tespit edilmiştir (81). Çeşitli sinyal yolları üzerine etkisine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Yakın zamanda yapılan araştırmalarda edaravonun geç nöronal hücre ölümünü baskıladığı, mikroglia bağımlı hücre ölümünü engellediği, uzun dönem inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir. Lipid oksidasyon hasarına sebep olan lipoksijenazı edaravon inhibe etmektedir. Aynı zamanda matrix metalloproteinaz-9 (MMP-9) inhibisyonu yaparak vasküler hasar ve intraserebral kanama üzerine koruyucu etkileri bulunduğu gösterilmiştir (82). Tedavi edici etkisi, in vivo ve in vitro deneysel çalışmalarda kanıtlanmış güçlü serbest radikal tutucu özelliğe sahip olmasıyla açıklanmıştır.

Edaravone düşük molekül ağırlığına (MW: 174, 2g) sahiptir. Hem yağda hem de suda çözünür ve hücre membranından kolayca geçer. Edaravonenin antioksidan aktiviteyi etkileme mekanizması şu şekilde açıklanır: Edaravone anyonundan bir elektronun peroksil radikaline transfer olması sonucunda edaravone radikali ve peroksil anyonu oluşur. Daha sonra edaravone peroksil radikali bir hidrojen atomu ve bir elektron eliminasyonu ile 4, 5-dion'a ve bu da -okso-3- (fenilhidrazon) butonik asite (OBP) dönüşür ve OBP de antioksidan özellik gösterir (Şekil 8) (83).

Direk koruyucu etkisinin yanısıra edaravone, anti-inflamatuar ve immunregülatuar özellikleri olan IL-10 salınımını güçlü bir şekilde uyarır. Ayrıca histolojik bulgularda serebral iskemi reperfüzyon hasarında edaravone'un koruyucu etkileri gösterilmiş, reperfüzyon hasarı başlamadan hemen önce verilen edaravone'un daha efektif olacağı rapor edilmiştir (84-86). Edaravone kronik iskemi tedavisinde kullanılan bir ajandır. Deneysel akut iskemi rat modelinde edaravone tedavisinin karaciğerde, adale ve plazmada MDA seviyelerindeki artışı önlediği, adale ve eritrositlerde glutatyon seviyesindeki azalmayı engellediği, bütün dokularda SOD aktivitesinin azalmasını önlediği gösterilmiştir (78, 79, 84, 87). Literatürde, Edaravonenin antioksidan özelliği araştırılırken fasiyal sinir üzerinde bu oksidatif ve antioksidatif mekanizma belirteçleri ile ilgili bir çalışma yapılmamıştır. Mekanik faktörlerin neden olduğu periferik sinir hasarında Edaravonenin terapötik rolü iyi bilinmemektedir. Bizim çalışmamızda mekanik faktörler nedeniyle oluşan periferik sinir yaralanmasında Edaravonenin etkisini göstermek için fasiyal sinir modeli oluşturulmuştur.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Araştırma, Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Cerrahi Araştırma Merkezi Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Araştırmaya başlamadan önce, KTÜ Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun onayı alınmıştır (No: 2015 - 47). Ayrıca bu araştırma, KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje kodu: THD-2016-5448).

3.1. Denekler

Deneylerde, KTÜ Dene Hayvanları Yetiştirme Merkezi'nden alınan ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 30 adet Sprague-Dawley tipi yetişkin dişi sıçan kullanılmıştır.

Araştırma sürecinde sıçanlar 21-22 °C de, 12 saat ışık ve 12 saatlik karanlık siklusunda, bir odada barındırılmıştır. Su içimi ve hazır pellet sıçan yemi verilerek beslenmeleri serbest bırakılmıştır.

3.2. Deneklerin Gruplara Ayrılması

Öncelikle sıçanlara bıyık hareketleri, göz kırpma refleksi ve diğer yüz yarımıyla karşılaştırma yapılarak fasiyal sinir muayenesi yapılmış ve fasiyal sinir muayenesi normal olan sıçanlar çalışmaya dahil edilmiştir. Fasiyal sinir fonksiyonlarının normal olması kriteri olarak; çiğneme esnasında simetrik bıyık hareketleri, spanç yardımıyla sıçanın korneası üzerine yapılan temas ile simetrik göz kırpma refleksinin olması alındı.

Sıçanların sağ fasiyal sinirleri diseke edilmiş ve her grubun sol fasiyal siniri kendi grubu içerisinde Sham grubu olarak kabul edilmiştir.

Deney hayvanları randomize olarak 10 'ar sıçandan oluşan 3 gruba ayrılmıştır: Kontrol Grubu, Metilprednizolon Grubu, Edaravone Grubu.

Araştırmada tüm cerrahi işlemler aynı kişi tarafından ve standart teknikler kullanılarak, her grupta 10 sıçan olacak şekilde toplam 30 sıçan üzerinde gerçekleştirilmiştir.

3.3. Çalışma grupları

Hasar Grubu;

Grup 1 (Kontrol Grubu): Postoperatif sıçanlara 1 hafta boyunca intramuskuler (i.m) 1cc/gün serum fizyolojik (SF) uygulanan grup. (n: 10)

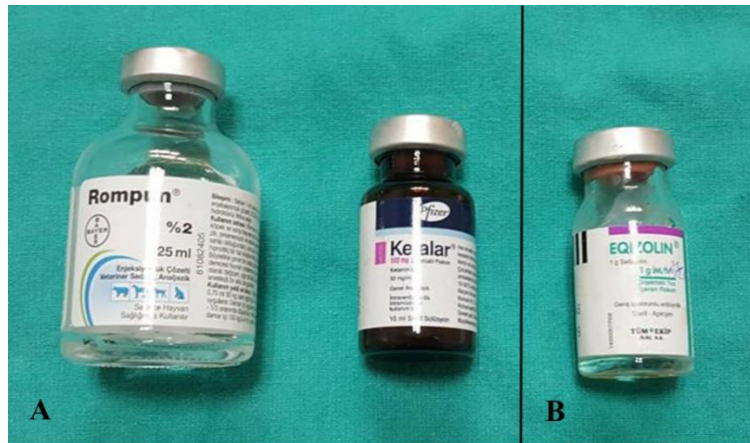
Grup 2 (Metilprednizolon Grubu): Postoperatif sıçanlara 1 hafta boyunca intraperitoneal 1 mg/kg/gün metilprednizolon uygulanan grup. (n: 10)

Grup 3 (Edaravone Grubu): Postoperatif sıçanlara 1 hafta boyunca intraperitoneal 10 mg/kg/gün edaravone uygulanan grup. (n: 10)

Sıçanların müdahale edilmeyen sol fasiyal sinirleri her grubun kendi içinde Sham grubu olarak kabul edilmiştir.

3.4. Anestezi Uygulama

Cerrahi işlemler intraperitoneal olarak uygulanan 50 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar®, 50 mg/ml, Pfizer) ve 10 mg/kg Ksilazin HCl (Rompun® %2, 20 mg/ml, Bayer) ile sağlanan anestezi altında gerçekleştirilmiştir. Araştırmanın sonunda sakrifiye edilen sıçanlara bu işlem öncesinde de aynı anestezi verilmiştir (Şekil 9 A).

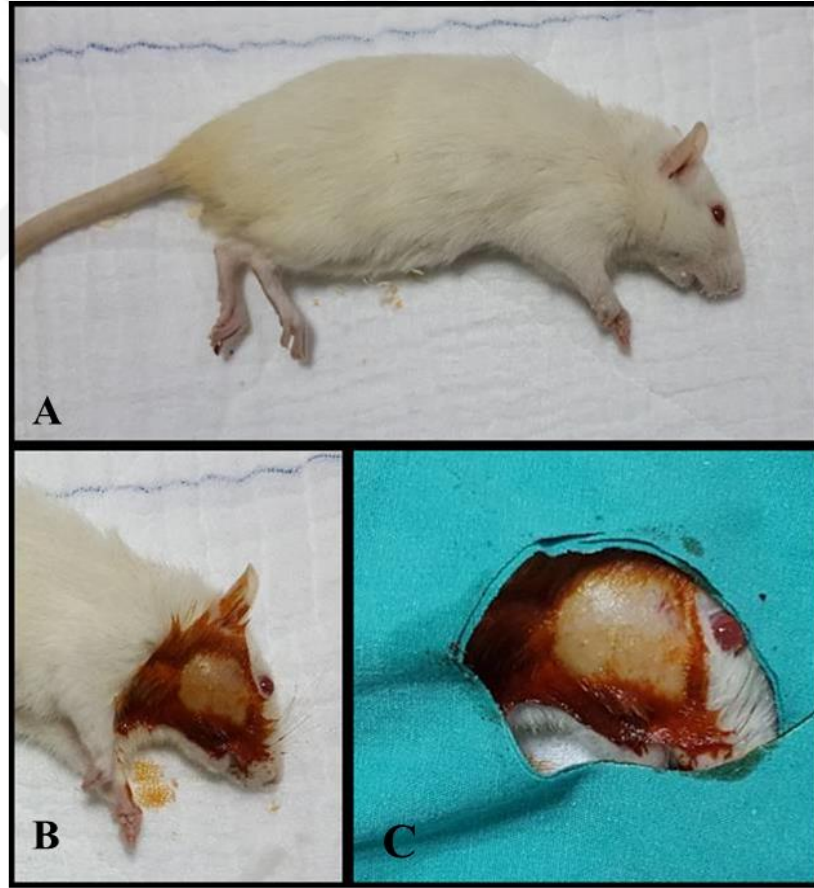


Şekil 9. A. İntraperitoneal yolla kullanılan anestetik maddeler. **B.** Profilaktik olarak işlem öncesi ve sonrası intramuskuler olarak uygulanan antibiyotik.

3.5. Cerrahi Teknik

Tüm deneklere işleme başlamadan 1 saat önce profilaktik olarak 20-40 mg/kg sefazolin sodyum intramuskuler (i.m) olarak uygulanmıştır (Şekil 9 B).

Derin intraperitoneal anestezi altında kornea refleksi ve ekstremitte çekme yanıtı kaybolduktan sonra sıçan, sol yanına yatırılmış ve sağ yüz yarısı tüyleri traş edildikten sonra, %10'luk Polivinilpirolidon iyot (Polividon-iyot) solüsyonu ile saha temizliği yapıp, steril delikli cerrahi örtü örtülmüştür (Şekil 10).

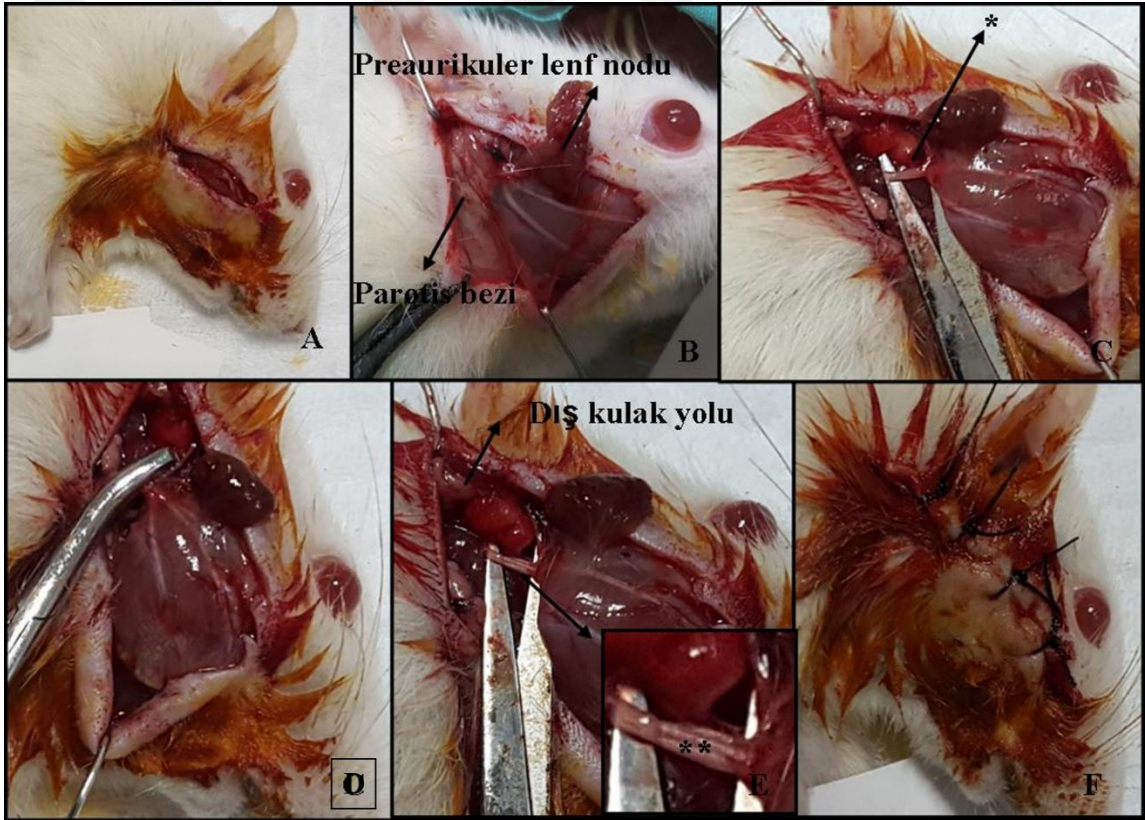


Şekil 10. Cerrahi öncesi hazırlık aşamaları

A. Deneğin pozisyonu, **B.** Cerrahi sahanın traş edilip polivinilpirolidon iyot ile temizlenmesi, **C.** Steril cerrahi örtü ile örtülmesi.

3.5.1. Fasiyal Sinir Disseksiyonu

Sıçanların sağ aurikula inferiorundan anteriora doğru mandibulaya paralel olarak yaklaşık 1 cm'lik horizontal bir insizyon yapıldı. Deri, deri altı geçildikten sonra tüm deneklerde ortaya çıkan preauriküler lenf nodu diseke edilerek süperiora ardından ortaya çıkan parotis bezi de diseke edilerek posteriora ekarte edildi. Eksternal juguler ven diseke edilip asılarak altından geçen sağ fasiyal sinir trunkusu bulundu. Digastrik kas arka karnı takip edilerek periferik dallar ayrı ayrı etraf dokulardan diseke edildi (Şekil 11).



Şekil 11. Fasiyal sinir disseksiyonunda cerrahi aşamalar.

A. İnsizyonun yapılması, B. Parotis bezi ve preauriküler lenf nodu, C. Fasiyal sinir trunkusu ve dalları (*: Fasiyal sinir trunkusu), D. Fasiyal sinir trunkusunun mosquito klemp ile ezilmesi, E. Ezilme sonrası fasiyal sinir trunkusunun görünümü (**: Ezilen segmentin görünümü), F. Cilt sütürasyonu ve sahanın polivinilpirolidon iyot ile temizlenmesi sonrası görünüm.

Sıçanların sağ fasiyal trunkusunun en distalinden (dallanmadan hemen önce) mosquito klemp ile sinir kesisi oluşturmadan 2 kademeye kadar 1 dakika süreyle sıkıştırılarak fasiyal sinir ezilme hasarı oluşturuldu. Bası bölgesi 5.0 ipek ile masseter kasına atılan sütür ile işaretlendi ve sonrasında cilt 4.0 ipek ile sütüre edildi.

İşlem sonrası iki gün boyunca içme sularına 2 mg/ml parasetamol eklendi.

Tüm deneklere cerrahi işlemten bir saat sonra profilaktik olarak 20-40 mg/kg sefazolin sodyum intramuskuler (i.m) olarak uygulandı. Cilt sütüre edildikten sonra sütür alanı %10'luk Polivinilpirolidon iyot (Polividon - iyot) solüsyonu ile temizlendi. Sütür alanlarına sargı yapılmayıp açık bırakıldı (Şekil 11 F).

Toplam 30 sıçan her biri yalnız kalacak şekilde toplam 30 kafes kullanılarak barındırılmıştır. Vücut ısıları korunarak anesteziden uyanmaları beklenmiştir. Grup 1 ve 3 te toplam iki sıçan anesteziden uyanamamış ve çalışma dışı bırakılmıştır. Anestezinin etkisi geçtikten sonra göz kırpmaya refleksi ve bıyık hareketleri bakılarak işlemin başarısı değerlendirilmiş ve tüm sıçanlarda sağ periferik tam fasiyal sinir paralizisi elde edilmiştir.

3.6. Tedavi süreci

Grup 1 (Kontrol grubu): Cerrahiden sonra bir hafta boyunca günde bir kez olmak üzere intramuskuler (i.m) 1cc/gün serum fizyolojik uygulanmıştır (**n: 9**).

Grup 2 (Metilprednizolon grubu): Cerrahiden sonra bir hafta boyunca günde bir kez intraperitoneal 1 mg/kg/gün metilprednizolon uygulanmıştır (**n: 10**).

Grup 3 (Edaravone Grubu): Cerrahiden sonra bir hafta boyunca günde bir kez intraperitoneal 10 mg/kg/gün edaravone uygulanmıştır (**n: 9**).



Şekil 12. Tedavide kullanılan ilaçlar

Tüm gruplardaki sıçanların cerrahi işlem öncesi bilateral kornea refleksleri ve bıyık hareketleri kontrol edilerek normal oldukları saptanmıştır. Cerrahi işlem sonrası da tüm sıçanların bilateral kornea reflekslerine ve bıyık hareketlerine bakılarak sağ periferik fasiyal paralizi deneysel modelinin amacına ulaşip ulaşmadığı kontrol edilmiş ve tüm sıçanlarda sağ tam fasiyal paralizi (göz kapama refleksi ve bıyık hareketlerinin olmaması) sağlandığı izlenmiştir.

Cerrahi işlem sonrası dört hafta boyunca kornea refleksi ve bıyık hareketlerine bakılarak geri dönüş zamanının belirlenmesi için ilk hafta her gün, sonrasında haftalık takip yapılmış olup istatistiksel değerlendirmede haftalık takip sonuçları dikkate alınmıştır. Fonksiyonlar tam olarak geri döndüğünde yani sıçan gözünü tam olarak kapatabildiğinde ve bıyık hareketleri karşı taraf ile karşılaştırıldığında aynı ise tam düzelme olduğu kabul edilmiştir (Şekil 14). (0: Tam düzelme yok; 1: Tam düzelme var)

Sıçanlar optimum yaşam koşullarında aynı ortamda aynı tür yiyecek ve su ile ihtiyaçları karşılanarak, ısı kontrollü barınaklarda 28 gün süre ile tutulmuştur. Değerlendirmeye alınan sıçanlarda araştırma sürecinde kilo kaybı, yara yeri enfeksiyonu gibi araştırmanın dışında bırakılmalarını gerektiren durumların oluşup oluşmadığı sürekli gözlenmiştir. Ayrıca beslenme bozukluğu vb. nedenlerle olabilecek kilo kayıplarını

erkenden fark edebilmek için günlük kilo takibi yapılmıştır.

Cerrahi işlem öncesi ve sonrasında uygulanan tek dozluk antibiyotik profilaksisi dışında antibiyotik verilmemiştir. Ardışık ilaç uygulamaları sırasında anestezi uygulanmasına gerek duyulmamıştır.

Dördüncü hafta sonunda, genel anestezi verilip sıçanların hasarlı sağ ve sağlam sol fasiyal sinir ve dalları mümkün olduğu kadar uzun kesilerek çıkarılmış, turunkusu histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler için %10'luk formaldehid solusyonunda tespit edilmiş, fasiyal sinirin dalları da Eppendorf tüplerine koyularak biyokimyasal ölçümler için -80°C buzdolabında saklanmıştır.

Toplam 28 hayvanın bilateral fasiyal sinirleri çıkarılmış ve toplam 56 fasiyal sinir dokusu elde edilmiştir.

Anestezi altında sıçanların fasiyal sinirleri çıkarıldıktan sonra dekapitasyonla sakrifiye edilerek seperatörlü biyokimya tüplerine yaklaşık 5 ml kan alınmıştır. Alınan kan 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek ayrılmış serum örnekleri eppendorf tüplere alınarak biyokimyasal analiz yapılana kadar -80 °C'de saklanmıştır.

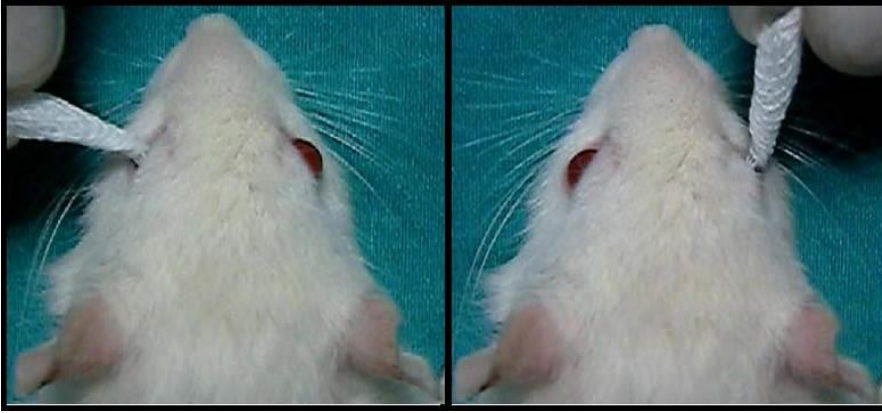


Şekil 13. Fasiyal sinirin trunkusu ve dalları

3.7. Değerlendirme Yöntemleri

3.7.1. Fonksiyonel değerlendirme

Cerrahi işlem öncesi tüm gruptaki sıçanların bilateral kornea refleksleri ve bıyık hareketleri kontrol edilmiştir. Cerrahi işlem sonrası fonksiyonel değerlendirme için karşı taraf ile karşılaştırılmalı olarak her hafta kornea refleksi muayenesi ve bıyık hareketlerine bakılmış olup haftalık muayene sonuçları değerlendirmeye alınmıştır.



Şekil 14. Kornea refleksi muayenesi

3.7.2. Histopatolojik değerlendirme

Çalışma sonunda elde edilen her bir gruba ait sağ ve sol fasiyal sinir materyalleri histolojik inceleme için %10 luk formaldehit solüsyonunda 24 saat tespit edildi. Doku parçaları yükselen dereceli alkollerden (%80, %96, %96, %100) geçirilerek dehidrate edildikten sonra ksilende şaffaflaştırıldı. Parafin bloklara gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan tam otomatik mikrotom (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Genel morfolojik yapının incelenebilmesi için Hematoksilen-eozin (H&E), bağ dokusunun ve patolojik değişikliklerin daha iyi ayırt edilebilmesi için Masson trikrom (Masson Trichrome Stain Kit, Methyl/Aniline Blue, Biostain, Atom Scientific Ltd.

Manchester) ile boyanarak entellan ile kapatıldı. Histopatolojik değerlendirme çalışma gruplarından habersiz bu konuda deneyimli bir histolog tarafından ışık mikroskobu kullanılarak (Olympus BX51, Tokyo, Japan) yapıldı.

Elde edilen kesitlerde ortalama akson çapı, miyelin kılıf kalınlığı ve sinir lifi çapı ölçüldü. Bu ölçümlerin yapılmasında ışık mikroskop (Olympus BX51, Tokyo, Japan) ve analysis 5 research program (Olympus Soft Imaging Solutions, Germany) kullanıldı. Sinir fibrilleri iskemik değişiklikler açısından 0-4 arasında yarı kantitatif olarak değerlendirildi. Buna göre **0**: ≤%2, **1**: %3–25, **2**: %26–50 **3**: %51–75 **4**: >%75 olarak skorlandı. Sinir hücreleri liflerinin iskemik değişikliklerinin değerlendirilmesinde akson ve onu çevreleyen myelin kılıfındaki değişiklikler esas alındı (88). Bu değişiklikler; aksonlarda şişmiş veya küçülmüş ve karanlık aksonlar, myelin kılıfında ise kesintilere uğrama, incelme ve büzüşme gibi iskemik değişiklikler açısından yarı kantitatif olarak skorlandı.

Ayrıca Schwann hücrelerindeki apoptozisi değerlendirmek için TUNEL (Terminal deoxynucleotidy transferase (TdT) deoxyuridine triphosphate nick end labeling assay) tekniği kullanılarak DNA fragmantasyonları tanımlandı. Bunun için in situ cell death detection kit AP kit (Roche, Mannheim, Germany) kullanıldı. Endojen peroksidaz aktivitesi 3% Hidrojen peroksit (Hydrogen Peroxide Block, Thermo Scientific, Fremont USA) ile bloke edildi. Renklendirme 3,3'-diaminobenzidine içeren kit (DAB, Sigma, St Louis, MO, USA) ile yapıldı.

Kesitlerde TUNEL pozitifliğini değerlendirirken yarıkantitatif derecelendirme skorlaması kullanıldı. Bu skorlamada Schwann hücrelerindeki apoptozis değerlendirildi. Kahverengi renkte boyanan hücreler apoptotik hücre, pembe-mor renkteki hücreler normal olarak değerlendirildi. Buna göre apoptotik hücre açısından **1**: Çok az, zayıf tutulum (+) , **2**: Hafif tutulum (++), **3**: Orta şiddette tutulum (+++) ve **4**: Şiddetli tutulum olarak değerlendirildi (89).

3.7.3. Biyokimyasal değerlendirme

Rat Serum ve Doku Örneklerinde Süperoksit Dismutaz 1 (SOD1) Düzeylerinin Belirlenmesi

Rat serum ve dokularında SOD1 seviyesi, yarışmalı enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kiti (Elabscience, Cat: E-EL-R1424, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi.

Örneklerin ELISA Pleytine Aktarılması ve Ölçüme Hazırlanması

- 80 °C'deki muhafaza edilen serum ve doku örnekleri oda sıcaklığına getirildi.
- SOD1 standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı. Standartlar ve numuneler 50 µL olacak şekilde kuyucuklara yüklendi.
- Numune ve standartların üzerine 50 µL Biotin-Antibody eklendi ve pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 45 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ve pleyt yıkayıcısı ile 3 kez yıkandı.
- Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı ve her bir kuyucuğa 100 µL Horseradish peroksidaz (HRP) konjugat çözeltisi ilave edildi.
- Pleyt, tekrardan folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 30 dk inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ve pleyt yıkayıcısı ile 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.

Numunelerin Renklendirilmesi ve Ölçüm

- Her bir kuyucuğa renklendirme için 90 µL TMB Substrat eklendi. 37 °C'de karanlıkta 15 dk inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğu 0.9 – 0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50 µL

renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.

- Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Divices in California, USA) marka mikroyok okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü.
- Sonuçlar, serum örnekleri için ng/mL, doku örnekleri için ise Bradford protein tayini yapılarak ng/mg protein cinsinden verildi.

Rat Serum ve Doku Örneklerinde Glutasyon Peroksidaz 1 (GPX1) Düzeylerinin Belirlenmesi

Rat serum ve dokularında GPX1 seviyesi, sandviç ELISA kiti (Elabscience, Cat: E-EL-R2491, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi.

Örneklerin ELISA Pleytine Aktarılması ve Ölçüme Hazırlanması

- -80 °C'deki muhafaza edilen serum ve doku örnekleri oda sıcaklığına getirildi.
- GPX1 standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı. Standartlar ve numuneler 100 µL olacak şekilde kuyucuklara yüklendi.
- Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 1.5 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleytin içindeki sıvı uzaklaştırılıp üzerine 100 µL Biotin-Antibody eklendi. Pleyt tekrar folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ve pleyt yıkayıcısı ile 3 kez yıkandı.
- Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı ve her bir kuyucuğa 100 µL HRP çözeltisi ilave edildi.
- Pleyt, tekrardan folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 30 dk inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ve pleyt yıkayıcısı ile 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.

Numunelerin Renklendirilmesi ve Ölçüm

- Her bir kuyucuğa renklendirme için 90 µL TMB Substrat eklendi. 37 °C’de karanlıkta 15 dk inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm’deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğu 0.9 – 0.95’e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50 µL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Divices in California, USA) marka mikropleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü.
- Sonuçlar, serum örnekleri için pg/mL, doku örnekleri için ise Bradford protein tayini yapılarak pg/mg protein cinsinden verildi.

Rat Serum ve Doku Örneklerinde Katalaz (CAT) Düzeylerinin Belirlenmesi

Rat serum ve dokularında CAT seviyesi, sandviç ELISA kiti (Elabscience, Cat: E-EL-R2456, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi.

Örneklerin ELISA Pleytine Aktarılması ve Ölçüme Hazırlanması

- -80 °C’deki muhafaza edilen serum ve doku örnekleri oda sıcaklığına getirildi.
- CAT standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı. Standartlar ve numuneler 100 µL olacak şekilde kuyucuklara yüklendi.
- Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C’de çalkalayıcıda 1.5 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleytin içindeki sıvı uzaklaştırılıp üzerine 100 µL Biotin-Antibody eklendi. Pleyt tekrar folyo ile kapatılarak 37°C’de çalkalayıcıda 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ve pleyt yıkayıcısı ile 3 kez yıkandı.

- Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı ve her bir kuyucuğa 100 µL HRP çözeltisi ilave edildi.
- Pleyt, tekrardan folyo ile kapatılarak 37°C’de çalkalayıcıda 30 dk inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ve pleyt yıkayıcısı ile 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.

Numunelerin Renklendirilmesi ve Ölçüm

- Her bir kuyucuğa renklendirme için 90 µL TMB Substrat eklendi. 37 °C’de karanlıkta 15 dk inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm’deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğu 0.9 – 0.95’e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50 µL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Divices in California, USA) marka mikropleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü.
- Sonuçlar, serum örnekleri için pg/mL, doku örnekleri için ise Bradford protein tayini yapılarak pg/mg protein cinsinden verildi.

Ratlarda Serum Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Belirlenmesi

Rat serum örnekleri biyokimyasal analizler yapılana kadar – 80 C⁰’ de saklandı. Serum örneklerinde malondialdehit miktarı Yagi (1984) tarafından geliştirilen TBARS (Tiobarbituric Acid Reactive Substance) methodu kullanılarak tayin edildi (90). Lipid peroksidasyon ürünü (MDA) ile tiyobarbitürik asit (TBA) arasındaki reaksiyon sonucu oluşan kırmızı renk spektrofotometrik olarak ölçüldü. Tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek aynı rengi veren suda çözünür maddeleri uzaklaştırmak için serum lipidleri proteinle birlikte fosfotungistik asit/sülfürik asit sistemiyle çöktürüldü.

Ölçüm:

1. Bir deney tüpüne 150 µL serum, 1.2 mL H₂SO₄ ve 150 mL fosfotungstik asit eklendi, iyice karıştırıldıktan sonra 5 dakika bekletildi.
 2. Karışım 3000 rpm' de 10 dk. santrifüj edildi ve üst faz atıldı.
 3. Geriye kalan çökelek üzerine 2 mL saf su eklendi ve yeniden çözününceye kadar vortekslendi.
 4. Tüpe 500 µL TBA eklendi ve 1 saat 100 °C' de inkübe edildi.
 5. İnkübasyonun ardından tüpler 1000 g' de 10 dk. santrifüjlendi.
 6. Üstteki berrak kısım alınarak 532 nm dalga boyunda absorbanslar okundu.
- 1 mmol 1,1,3,3-tetrametoksipropan 100 mL 0.01 M HCl içinde 50 °C' de 1 saat inkübe edildi ve bu bileşiğin hidrolizi sonucu oluşan MDA çözeltisinden 50, 25,10, 5, 2.5,1,25, 0.625, 0.312, 0.156 nmol/mL çalışma standartları hazırlandı. Elde edilen sonuçlarla standart grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanarak serum MDA miktarı nmol MDA/mL olarak belirlendi.

Ratlarda doku Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Belirlenmesi

Rat dokularında MDA düzeyi Mihara ve Uchiyama tarafından geliştirilen metod ile tayin edildi (91).

Örneklerin Hazırlanışı:

Dokular tartılarak 0,5mL/L triton-X 100 içeren %1,15 KCl çözeltisi ile homojenize edildi (% 10 ağırlık/hacim). Homojenizasyon için 9500 rpm (4x10s, 4⁰C)' de Ultra-Turrax homejenizatör (model T25, Jane and Kunkel, Germany) kullanıldı.

Ölçüm:

1. 500 µL homojenata 3 mL % 1' lik H₃PO₄ eklenerek karıştırıldı.
2. Karışıma 1 mL % 0,672 lik tiyobarbitürik asit (TBA) eklendikten sonra 45 dakika kaynar su banyosunda inkübe edildi.

3. Oda sıcaklığında 4000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi.
4. Organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda absorbanlar okundu.

1 mmol 1,1,3,3-tetrametoksipropan 100 mL 0.01 M HCl içinde 50 °C' de 1 saat inkübe edildi ve bu bileşiğin hidrolizi sonucu oluşan MDA çözeltilisinden 50, 25,10, 5, 2.5,1,25, 0.625, 0.312, 0156 nmol/mL çalışma standartları hazırlandı. Elde edilen sonuçlarla standart grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanarak doku MDA miktarı nmol MDA/mL olarak hesaplandı. Sonuçlar, Bradford protein tayini yapılarak nmol/mg protein olarak verildi.

Toplam Oksidan Kapasitenin Belirlenmesi (TOS)

TOS'u belirleyebilmek için Erel Ö. (71)'nün oluşturduğu kolorimetrik metod uygulandı. Bu metodun prensibi asidik ortamda farklı oksidan türleriyle Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e yükseltgenmesi ve Fe^{+3} 'ün ksilenol oranj ile meydana getirdiği renk değişiminin 530 nm' de ölçülmesi esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler

1. Reaktif I (pH 1,75);

25 mM H₂SO₄ (% 95-97);

138 µL H₂SO₄ alınıp, hacim deiyonize su ile 100mL ye tamamlandı.

Son konsantrasyonu 150 µM ksilenol oranj, 140 mM NaCl, 1,35 M gliserol olacak şekilde reaktif hazırlandı.0, 0057 g ksilenol oranj, 0,4095g NaCl 40 ml 25 mM H₂SO₄ de çözüldü, 4,945ml gliserol (gliserin) ile hacim 50mL ye tamamlandı.

2. Reaktif II

Son konsantrasyonu 5mM (NH₄)₂Fe(SO₄)₂, 10mM o-dianizidin dihidroklorür olacak şekilde, 0,098g (NH₄)₂Fe(SO₄)₂, 0,1586g o-dianizidin dihidroklorür 25 mM H₂SO₄ ile çözüldü, hacim 50 ml ye tamamlandı.

3. Standart Hazırlanması

Standart, 20µmol H₂O₂ Eq/ L olacak şekilde hazırlandı.

Ölçüm :

Aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıp 560 nm’ de absorbansları okundu. A1 değerleri A2 değerlerinden çıkarılarak bu absorbans değerlerine karşılık gelen konsantrasyon miktarı elde edildi.

Tablo 2. TAS hesaplamalarında oluşturulan tablo

Reaktifler	Numune (µl)	Standart (µl)
Standart	-	75
Numune	75	-
Reaktif I	500	500

A1: Reaktifler eklendikten 30 sn sonra 530 nm de ilk okuma yapıldı.

Reaktif II	25	25
------------	----	----

A2: Reaktif II eklendikten 5dk sonra 530 nm de ikinci okuma yapıldı.

Hesaplama:

A2-A1= Standart ve numune Δ Abs

$$\text{Sonuç} = \frac{(\Delta\text{Abs Numune})}{(\Delta\text{Abs Standart})} * \text{Standart Konsantrasyonu}$$

Sonuçlar, $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Ekivalent/ L cinsinden verildi.

Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi (TAS)

TAS'ı belirleyebilmek için Erel Ö. (70)'nün oluşturduğu kolorimetrik metod uygulandı. Bu metodun prensibi, numunedeki antioksidanların koyu mavi yeşil renkli ABTS radikalini renksiz ABTS formuna dönüştürmesi esasına dayanır. Numunenin total antioksidan kapasitesi, 660 nm'deki absorbans değişimine bağlıdır. Bu metot, Trolox Ekivalenti (Vitamin E analog) olarak bilinen kararlı antioksidan standart çözeltisi ile hazırlanır.

Kullanılan Çözeltiler

1. Reaktif I;

Asetat Tamponu = 0.4 mol/L, pH:5.8

2. Reaktif II:

Asetat Tamponu = 0.4 mol/L, pH:3.6

ABTS = 30 mmol/L

3. Standart Hazırlanması;

1.0 mmol/L Trolox Ekivalent

Ölçüm :

Aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıp 660 nm' de absorbansları okundu. A1 değerleri A2 değerlerinden çıkarılarak bu absorbans değerleri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

Tablo 3. TOS hesaplamalarında oluşturulan tablo

Reaktifler	Numune (μ l)	Standart (μ l)	H ₂ O (μ l)
Deiyonize su	-	-	30
Standart	-	30	-
Numune	30	-	5
Reaktif I	500	500	500

A1: Reaktifler eklendikten 30 sn sonra 660 nm de ilk okuma yapıldı.

Reaktif II	75	75	75
------------	----	----	----

A2: Oda sıcaklığında Reaktif II eklendikten 10dk sonra 660 nm de ikinci okuma yapıldı.

Hesaplama:

A2-A1= Standart ve numune Δ Abs

$$(\Delta\text{Abs H}_2\text{O}) - (\Delta\text{Abs Numune})$$

Sonuç=

* Standart Konsantrasyonu

$$(\Delta\text{Abs H}_2\text{O}) - (\Delta\text{Abs Standart})$$

Sonuçlar, mmol/L Trolox Ekvivalent cinsinden verildi.

Bradford Metodu ile Protein Tayini:

Bu metodun prensibi; organik bir boya olan Coomassie Brillant Blue G250'nin fosforik asitli ortamda proteinlere bağlanması ve oluşan mavi renkli kompleksin 600 nm'de maksimum absorbanans göstermesi esasına dayanmaktadır (92). Sonuçlar mg/mL olarak verildi.

3.7.4. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel açıdan verilerin değerlendirilmesinde SPSS for Windows 23.0 istatistik paket programı kullanılmıştır. Çalışmanın sonuçlarının analizinde araştırma öncesi ve sonrası kornea refleksinin ve bıyık hareketlerinin haftalık bulguları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Grupların göz ve bıyık fonksiyonellik değerlendirilmesinde fonksiyonellik kategorik bir veri olarak değerlendirildiği için Ki-Kare Analizi, bağımlı grup değerlendirilmelerinde Mc Nemar testi yapıldı.

Grupların serum ve doku biyokimyasal parametre ve histopatolojik hasar skoru incelemelerinde gruplar arası farklılık Kruskal Wallis testi ile yapıldı. Alt grup karşılaştırmaları Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. $p < 0,05$ düzeyi istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Fonksiyonel Değerlendirme Bulguları

Hasar oluşturulmadan önce kontrol amaçlı yapılan kornea refleksi muayenesinde deneklerin tümünde bilateral gözlerin tam olarak kapandığı ve bıyık hareketlerinin normal olduğu izlenmiştir.

Tablo 4. Grupların kornea refleksi iyileşmelerinin haftalara göre değişimi

		Grup 1	Grup 2	Grup3	P
Kornea refleksi iyileşmeleri	İşlem öncesi	9 (%100)	10 (%100)	9 (%100)	p > 0.05
	1.hafta	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	p > 0.05
	2.hafta	0 (%0) ^b	0 (%0) ^a	6 (%66.7) ^{a,b}	p < 0.001
	3.hafta	0 (%0) ^b	2 (%20) ^a	7 (%77.8) ^{a,b}	p = 0.001
	4.hafta	1(%11.1) ^a	5(%50)	8(%88.9) ^a	p < 0.005

2. haftada ^ap = 0.003; ^bp= 0.009

3.haftada ^ap = 0.023; ^bp= 0.002

4. hafta için ^ap= 0.003

İşlem öncesi ve birinci haftada tüm gruplar arasında (Grup 1, Grup 2, Grup 3) kornea refleksi iyileşmeleri karşılaştırıldığında anlamlı farklılık olmadığı saptanmıştır (Tablo 4).

İkinci haftada ise tüm gruplar arasında (Grup 1, Grup 2, Grup 3) istatistiksel

olarak anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır. Gruplar arası yapılan ikili karşılaştırmada ise Grup 1 ile Grup 3 arasında ($p < 0.01$) ve Grup 2 ile Grup 3 arasında ($p < 0.005$) anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır (Tablo 4).

Üçüncü haftada gruplar arası karşılaştırıldığında (Grup 1, Grup 2, Grup 3) aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($p = 0.001$). Gruplar arası yapılan ikili karşılaştırmada ise Grup 1 ile Grup 3 arasında ($p = 0.002$) ve Grup 2 ile Grup 3 arasında ($p = 0.023$) anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır (Tablo 4).

Dördüncü haftada ise tüm gruplar arasında (Grup 1, Grup 2, Grup 3) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır ($p < 0.005$). Grup 2 ve Grup 3 arasında bu haftada anlamlı fark yokken Grup 1 ve Grup 3 arasında anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır ($p = 0.003$) (Tablo 4).

Kornea refleksi iyileşmeleri her grup için **işlem öncesine göre işlem sonrası birinci hafta, ikinci hafta, üçüncü hafta, dördüncü haftalarda** Mc Nemar testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Tablo 5. Grup 1' in kornea refleksi iyileşmelerinin işlem öncesine göre 1, 2, 3, 4. haftalarda değerlendirilmesi

İşlem öncesi 9 (%100)		<i>1.hafta</i>	<i>2.hafta</i>	<i>3.hafta</i>	<i>4.hafta</i>
	n(%)		0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
P		0.004	0.004	0.004	0.008

Grup 1-Hasar grubunda **işlem öncesi ile işlem sonrası birinci hafta, ikinci hafta, üçüncü hafta, dördüncü hafta** kornea refleksi iyileşme bulguları arasında, farklılığın anlamlı olduğu ($p < 0,05$) saptanmıştır. (Tablo 5).

Tablo 6. Grup 2' nin kornea refleksi iyileşmelerinin işlem öncesine göre 1, 2, 3, 4. haftalarda değerlendirilmesi

İşlem öncesi 10 (%100)		<i>1.hafta</i>	<i>2.hafta</i>	<i>3.hafta</i>	<i>4.hafta</i>
	n (%)		0 (% 0)	0 (% 0)	2 (% 20)
P		0.002	0.002	0.008	0.031

Grup 2-Hasar grubunda **işlem öncesi ile işlem sonrası birinci hafta, ikinci hafta, üçüncü hafta, dördüncü hafta** bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 6).

Tablo 7. Grup 3' ün kornea refleksi iyileşmelerinin işlem öncesine göre 1, 2, 3, 4. haftalarda değerlendirilmesi

İşlem öncesi 9 (%100)		<i>1.hafta</i>	<i>2.hafta</i>	<i>3.hafta</i>	<i>4.hafta</i>
	n (%)		0 (% 0)	6 (% 66.7)	7 (% 77.8)
P		0.004	0.250	0.500	1.000

Grup 3-Hasar grubunda **işlem öncesi ile işlem sonrası birinci hafta** arasında anlamlı bir fark bulunmuşken; işlem öncesi ile **ikinci hafta, üçüncü hafta, dördüncü hafta** bulguları arasında anlamlı bir farklılık olduğu saptanmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 7).

Tablo 8. Grupların bıyık hareketleri iyileşmelerinin haftalara göre değişimi

		Grup 1	Grup 2	Grup3	P
Bıyık hareketleri iyileşmeleri	İşlem öncesi	9 (%100)	10 (%100)	9 (%100)	p > 0.05
	1.hafta	0 (%)	0 (%)	0 (%)	p > 0.05
	2.hafta	0 (%) ^b	2(%20) ^a	7 (%77.8) ^{a,b}	p = 0.001
	3.hafta	0 (%) ^b	3(%30) ^a	8(%88.9) ^{a,b}	p < 0.001
	4.hafta	4(%44.4) ^a	9(%90)	9(%100) ^a	p < 0.01

2. haftada ^ap = 0.023; ^bp= 0.002; 3.haftada ^ap = 0.020; ^bp < 0.001; 4. hafta için ^ap= 0.029

Bıyık hareketleri iyileşmelerinin gruplar arasında haftalara göre ve anlamlı haftalardaki hangi gruplar arasında fark olduğunu anlamak için de Ki-Kare testi kullanılarak değerlendirildiğinde;

İşlem öncesi ve birinci haftada tüm gruplar arasında (Grup 1, Grup 2, Grup 3) bıyık hareketlerinin iyileşmeleri karşılaştırıldığında anlamlı farklılık olmadığı saptanmıştır (Tablo 8).

İkinci haftada ise tüm gruplar arasında (Grup 1, Grup 2, Grup 3) istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır. Gruplar arası yapılan ikili karşılaştırmada ise Grup 1 ile Grup 3 arasında (p = 0.02) ve Grup 2 ile Grup 3 arasında (p = 0.023) anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır (Tablo 8).

Üçüncü haftada gruplar arası karşılaştırıldığında (Grup 1, Grup 2, Grup 3) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır (p = 0.001). Gruplar arası yapılan ikili karşılaştırmada ise Grup 1 ile Grup 3 arasında (p < 0.001) ve Grup 2 ile Grup

3 arasında ($p = 0.020$) anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır (Tablo 8).

Dördüncü haftada ise tüm gruplar arasında (Grup 1, Grup 2, Grup 3) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır ($p < 0.005$). Grup 2 ve Grup 3 arasında bu haftada anlamlı fark yokken Grup 1 ve Grup 3 arasında anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır ($p = 0.029$) (Tablo 8).

Bıyık hareketleri iyileşmeleri her grup için **işlem öncesine göre işlem sonrası birinci hafta, ikinci hafta, üçüncü hafta, dördüncü haftalarda** Mc Nemar testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Tablo 9. Grup 1' in bıyık hareketleri iyileşmelerinin işlem öncesine göre 1, 2, 3, 4. haftalarda değerlendirilmesi

	1.hafta	2.hafta	3.hafta	4.hafta
n (%)	0 (% 0)	0 (% 0)	0 (% 0)	4 (% 44.4)
p	0.004	0.004	0.004	0.063

Grup 1-Hasar grubunda **işlem öncesi ile işlem sonrası birinci hafta, ikinci hafta, üçüncü hafta** bulguları arasında farklılığın anlamlı olduğu ($p < 0,05$), **işlem öncesi ve dördüncü hafta** bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı saptanmıştır. (Tablo 9).

Tablo 10. Grup 2' nin bıyık hareketleri iyileşmelerinin işlem öncesine göre 1, 2, 3, 4. haftalarda değerlendirilmesi

	<i>1.hafta</i>	<i>2.hafta</i>	<i>3.hafta</i>	<i>4.hafta</i>
İşlem öncesi 10 (%100)	0 (% 0)	2 (% 20)	3 (% 30)	9 (% 90)
n (%)				
p	0.002	0.008	0.016	1.000

Grup 2-Hasar grubunda **işlem öncesi ile işlem sonrası birinci hafta, ikinci hafta, üçüncü hafta** bulguları arasında farklılığın anlamlı olduğu ($p < 0,05$), **işlem öncesi ve dördüncü hafta** bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı saptanmıştır. (Tablo 10).

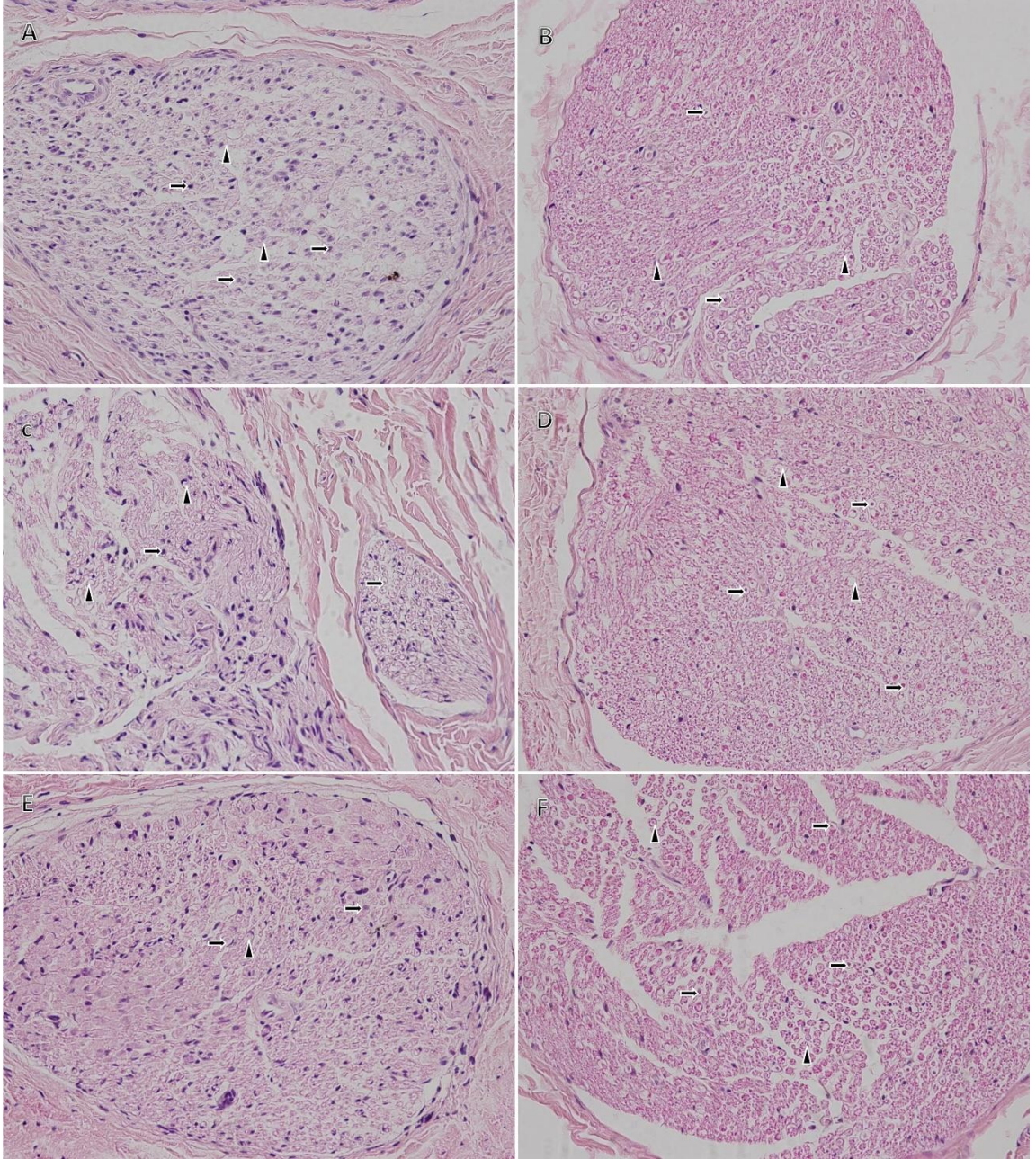
Tablo 11. Grup 3' ün bıyık hareketleri iyileşmelerinin işlem öncesine göre 1, 2, 3, 4. haftalarda değerlendirilmesi

	<i>1.hafta</i>	<i>2.hafta</i>	<i>3.hafta</i>	<i>4.hafta</i>
İşlem öncesi 9 (%100)	0 (% 0)	7 (% 77.8)	8 (% 88.9)	9 (% 100)
n (%)				
p	0.004	0.500	1.000	1.000

Grup 3-Hasar grubunda **işlem öncesi ile işlem sonrası birinci hafta** bulguları arasında farklılığın anlamlı olduğu ($p < 0,05$), **işlem öncesi ile ikinci hafta, üçüncü hafta, dördüncü hafta** bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı saptanmıştır. (Tablo 11).

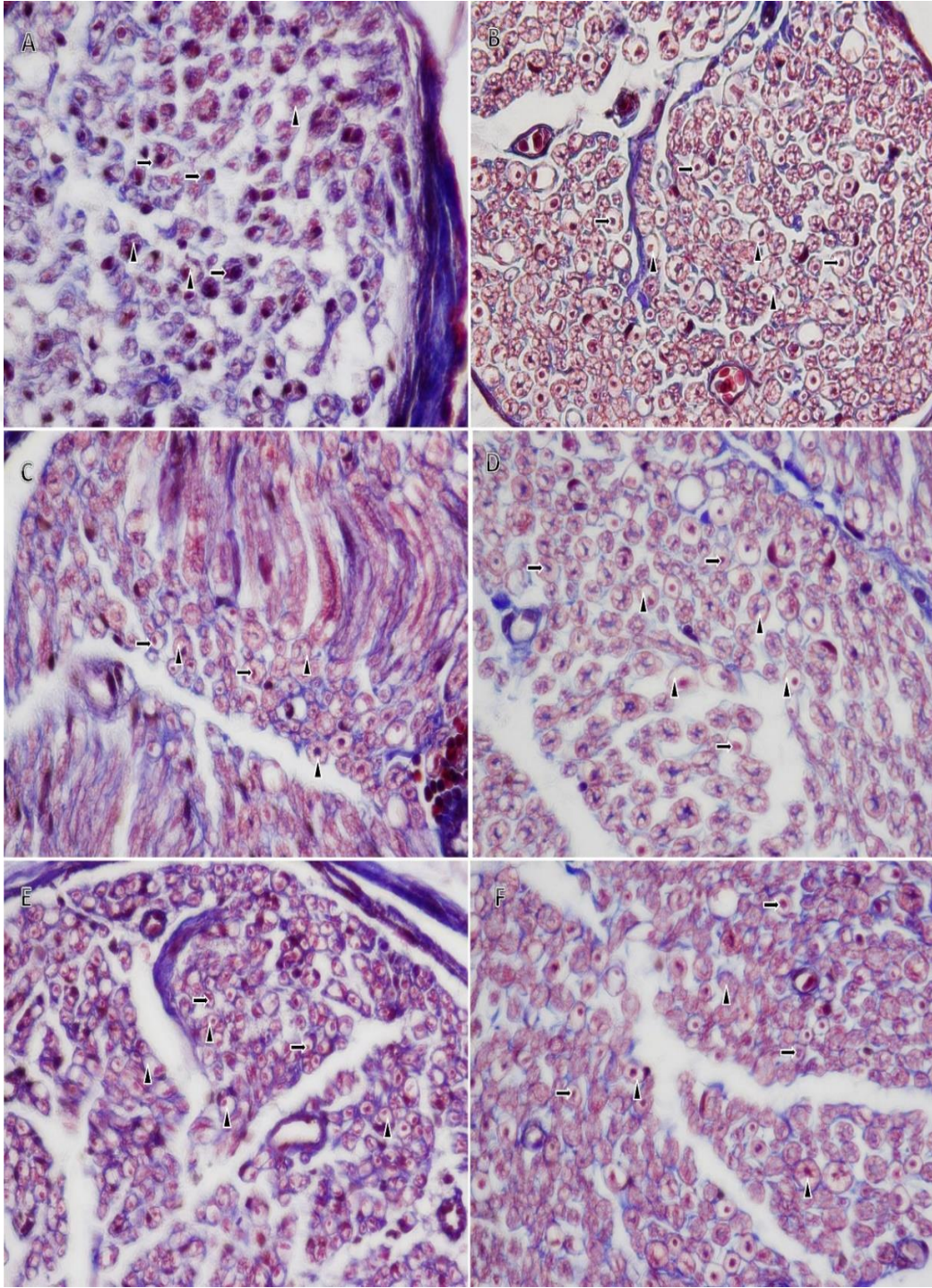
4.2. Histopatolojik Değerlendirme Bulguları

Histopatolojik Bulgular:



Şekil 15. Fasiyal sinir dokusuna ait fotomikrograf (H&E X 400).

(A: Kontrol grubu sağ, B: Kontrol grubu sol, C: Metilprednizolon grubu sağ, D: Metilprednizolon grubu sol, E: Edaravone grubu sağ, F: Edaravone grubu sol). Akson (→), myelin kılıfı (Δ).



Şekil 16. Fasiyal sinir dokusuna ait fotomikrograf (Masson Trikrom X 1000).

(A: Kontrol grubu sağ, B: Kontrol grubu sol, C: Metilprednizolon grubu sağ, D: Metilprednizolon grubu sol, E: Edaravone grubu sağ, F: Edaravone grubu sol). Akson (→), myelin kılıfı (Δ).

Kontrol grubuna ait sağ fasiyal sinir dokusunun incelenmesinde, aksonlarda yaygın olarak Şiddetli dejenerasyon, dilatasyon veya incelme izlendi. Myelin kılıfında ise yaygın olarak kesintilere uğrama ve kayıp izlendi (Resim 15, 16 A).

Kontrol grubuna ait sol fasiyal sinir dokusunun incelenmesinde, aksonlarda normale yakın görüntü izlenmekle birlikte yer yer küçülmüş aksonlar ve kesintiye uğramış ve dilate olmuş myelin kılıfı izlendi (Resim 15, 16 B).

Metilprednizolon grubuna ait sağ fasiyal sinir dokusunun incelenmesinde, yer yer küçülmüş aksonlar izlenmekle birlikte aksonlar normale yakın yapıda izlendi. Normal myelin kılıf yapısı yanında kesintiye uğramış ve dilate olmuş aksonlar da mevcut idi. Myelin kılıfında yer yer vakuol benzeri yapılar izlendi (Resim 15, 16 C).

Metilprednizolon grubuna ait sol fasiyal sinir dokusunun incelenmesinde, normal akson yapısı yanında dilate olmuş veya küçülmüş aksonlar da izlendi. Normal yapıda myelin kılıfı yanında yaygın olarak ödemli ve kesintiye uğramış myelin yapısı izlendi. Myelin kılıfında yer yer vakuol benzeri yapılar izlendi (Resim 15, 16 D).

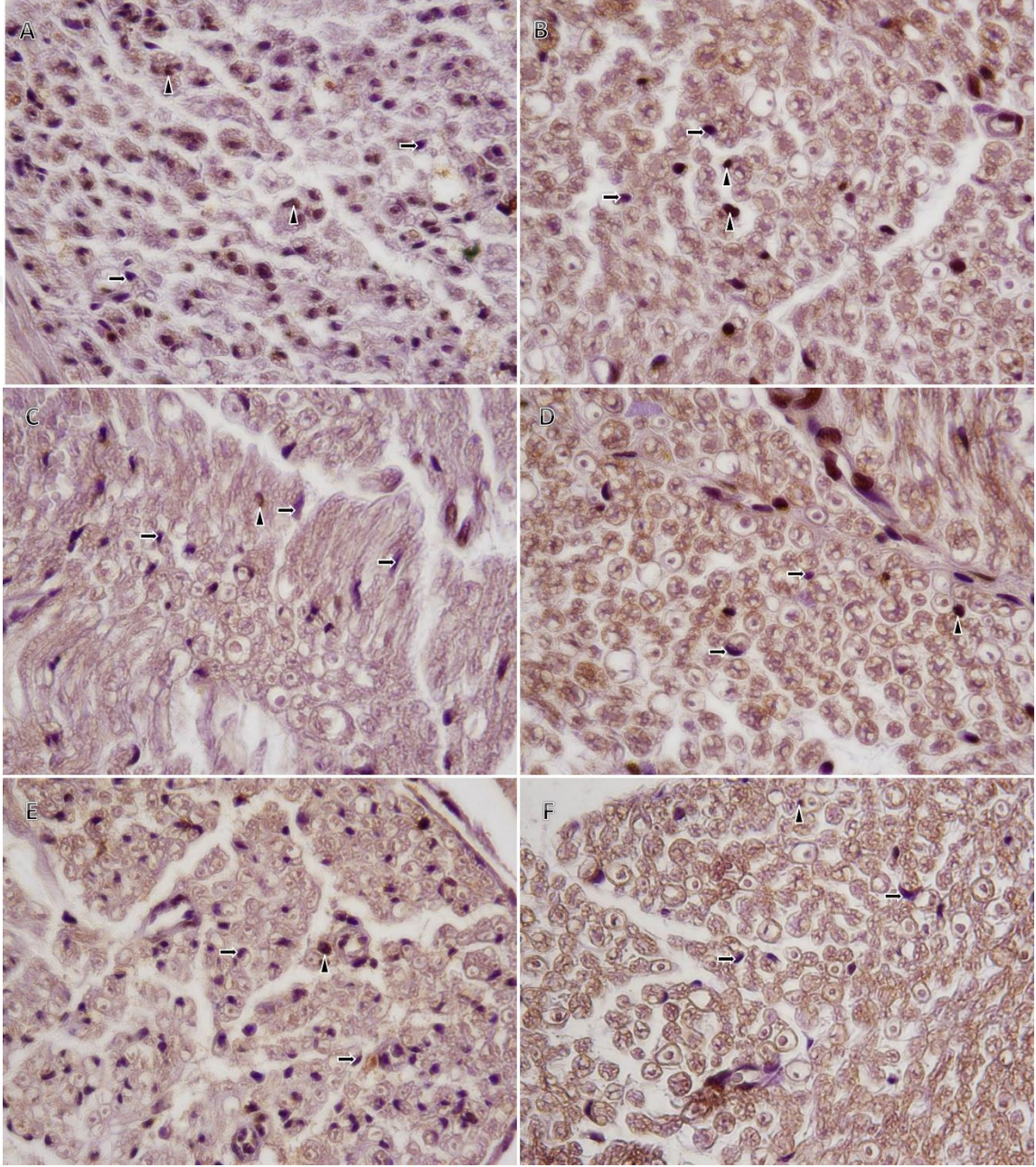
Edaravone grubuna ait sağ fasiyal sinir dokusunun incelenmesinde, yer yer ödemli aksonlar izlenmekle birlikte genel olarak normal yapıda aksonlar izlendi. Myelin kılıfı yer yer ödemli ve kesintiye uğramış aksonlar yanında normal morfolojide izlendi (Resim 15, 16 E).

Edaravone grubuna ait sol fasiyal sinir dokusunun incelenmesinde, normal morfolojide ve küçülmüş aksonlar birarada izlendi. Dilate olmuş ve kesintiye uğramış myelin kılıfı yanında normal myelin kılıf yapısı izlendi. Myelin kılıfında yer yer vakuol benzeri yapılar izlendi (Resim 15, 16 F).

Apoptozis:

Gruplara ait preparatlar TUNEL tekniği ile Schwann hücre apoptozisi açısından ışık mikroskopunda değerlendirildi. Buna göre grupların değerlendirmesinde, kontrol grubuna ait sağ fasiyal sinir kesitlerinde yaygın olarak apoptotik Schwann hücresi izlendi. Kontrol grubuna ait sol fasiyal sinir kesitlerinin incelenmesinde, apoptotik Schwann hücreleri ve normal Schwann hücreleri izlendi. Apoptotik Schwann hücreleri hafif ve yer yer orta

şiddette izlendi. Metilprednizolon grubuna ait sağ ve sol sinir kesitlerinde hafif seviyede Schwann hücre apoptozisi izlendi. Edaravone grubuna ait sağ ve sol fasiyal sinir



Şekil 17. Fasiyal sinir dokusuna ait fotomikrograf (TUNEL tekniği X 1000).

(A: Kontrol grubu sağ, B: Kontrol grubu sol, C: Metilprednizolon grubu sağ, D: Metilprednizolon grubu sol, E: Edaravone grubu sağ, F: Edaravone grubu sol). Normal Schwann hücresi (→), apoptotik Schwann hücresi (Δ)

kesitlerinin incelenmesinde çok az miktarda apoptotik Schwann hücresi izlendi. Yaygın olarak normal Schwann hücreleri mevcut idi (Şekil 17).

Tablo 12. Hasar gruplarının histopatolojik olarak değerlendirilmesi

	Grup 1- Hasar (n: 9)	Grup 2- Hasar (n: 10)	Grup 3- Hasar (n: 9)	P	
Sinir lifi çapı (µm)	4.81(4.51-5.74) ^{a,b}	7.73(6.98-8.13) ^a	7.11(6.35-7.4) ^b	P < 0.001	
Myelin kalınlığı(µm)	1.99(1.64-2.64)	2.04(1.86-3.5)	2.19(2.17-2.36)	P > 0.05	
Akson çapı (µm)	2.56(2.49-3.35)	2.33(2.16-2.48)	2.37(1.88-2.8)	P > 0.05	
Schwann hücre apoptozis skoru	3(3-4) ^{a,b}	2(1.75-2) ^a	1(1-2) ^b	P < 0.001	
Aksonal dejenerasyon	3(2-3) ^{a,b}	1.5(1-2) ^a	2(1.5-2) ^b	P= 0.001	
Myelin dejenerasyon	3(3-4) ^{a,b}	2(1-2.25) ^a	2(1.5-2) ^b	P= 0.001	

Sinir lifi çapı için ^a p< 0.001; ^b p < 0.001

Schwann hücre apoptozis skoru için ^a p = 0.001; ^b p < 0.001

Aksonal dejenerasyon için ^a p = 0.001; ^b p = 0.006

Myelin dejenerasyon için ^a p = 0.001; ^b p < 0.001

Kontrol, Prednol ve Edaravone hasar gruplarının sinir lifi çapı, myelin kalınlığı, akson çapı, Schwann hücre apoptozis skoru, aksonal dejenerasyon ve myelin dejenerasyon ortanca değerleri hesaplandı ve tablo 1’de ortanca (%25-%75) değer olarak verildi.

Gruplar arasında bu histopatolojik değerler karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlar tablo 12’de gruplar halinde gösterilmiştir. Gruplar arasında myelin kılıfı ve akson çapı ortanca değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmazken anlamlı fark olduğu izlenen sinir lifi çapı, Schwann hücre apoptozis skoru, aksonal dejenerasyon, myelin dejenerasyon ortanca değerleri ikili gruplar arasında Mann-Whitney U testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Sinir lifi çapı için Grup 1 ile 2 ve Grup 1 ile 3 arasında anlamlı farklılık izlenmiştir ($p < 0.001$). Schwann hücre apoptozis skoru için Grup 1 ile 2 ve Grup 1 ile 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Aksonal dejenerasyon için Grup 1 ile 2 ve Grup 1 ile 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Myelin dejenerasyon için Grup 1 ile 2 ve Grup 1 ile 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır.

Tablo 13. Sham gruplarının histopatolojik olarak değerlendirilmesi

	Grup 1- Sham (n: 9)	Grup 2- Sham (n: 10)	Grup 3- Sham (n: 9)	P
Sinir lifi çapı (µm)	6.2(6.11-6.53) ^{a, b}	7.43(6.76-7.72) ^a	7.71(6.65-8.4) ^b	P < 0.01
Myelin kalınlığı(µm)	2.82(2.24-3.4)	2.3(2.14-3.15)	2.82(2.32-4.33)	P > 0.05
Akson çapı (µm)	2.32(1.92-2.46)	2.2(1.99-2.41)	2.34(2.1-2.84)	P > 0.05
Schwann hücre apoptozis skoru	2(1.5-2)	2(1-2)	1(1-2)	P > 0.05
Aksonal dejenerasyon	1(1-2)	2(1-2)	2(1.5-2)	P > 0.05
Myelin dejenerasyon	2(1.5-2)	2(1-2)	2(2-2)	P > 0.05

Sinir lifi için ^a p = 0.003; ^b p = 0.008

Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (Prednol) ve Grup 3 (Edaravone) Sham gruplarının sinir lifi çapı, myelin kalınlığı, akson çapı, Schwann hücre apoptozis skoru, aksonal dejenerasyon ve myelin dejenerasyon ortanca değerleri hesaplandı ve tablo 13'te ortanca (%25-%75) değer olarak verildi.

Sham grupları arasında bu histopatolojik değerler karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlar tablo 13'te gruplar halinde gösterilmiştir. Gruplar arasında sadece sinir lifi çapı ortancaları arasında anlamlı farklılık saptanmıştır ve ikili gruplar arasında karşılaştırıldığında sinir lifi çapı için Grup 1 ile 2 ve Grup 1 ile 3 arasında anlamlı farklılık izlenmiştir ($p < 0.01$).

Tablo 14. Kontrol grubunun sham ve hasar gruplarının histopatolojik olarak karşılaştırılması (n: 9)

	Grup 1- Hasar	Grup 1- Sham	P
Sinir lifi çapı (µm)	4.81(4.51-5.74)	6.2(6.11-6.53)	P = 0.008
Myelin kalınlığı(µm)	1.99(1.64-2.64)	2.82(2.24-3.4)	P = 0.024
Akson çapı (µm)	2.56(2.49-3.35)	2.32(1.92-2.46)	P = 0.014
Schwann hücre apoptozis skoru	3(3-4)	2(1.5-2)	P < 0.001
Aksonal dejenerasyon	3(2-3)	1(1-2)	P = 0.003
Myelin dejenerasyon	3(3-4)	2(1.5-2)	P = 0.006

Grup 1 (Kontrol) sham ve hasar gruplarının sinir lifi çapı, myelin kalınlığı, akson çapı, schwann hücre apoptozis skoru, aksonal dejenerasyon ve myelin dejenerasyon ortanca değerleri hesaplandı ve tablo 14'de ortanca (%25-%75) değer olarak verildi. Bu

iki grup arasındaki tüm ortanca değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır.

Tablo 15. Prednol grubunun sham ve hasar gruplarının histopatolojik olarak karşılaştırılması (n: 10)

	Grup 2- Hasar	Grup 2- Sham	P
Sinir lifi çapı (µm)	7.73(6.98-8.13)	7.43(6.76-7.72)	P > 0.05
Myelin kalınlığı(µm)	2.04(1.86-3.5)	2.3(2.14-3.15)	P > 0.05
Akson çapı (µm)	2.33(2.16-2.48)	2.2(1.99-2.41)	P > 0.05
Schwann hücre apoptozis skoru	2(1.75-2)	2(1-2)	P > 0.05
Aksonal dejenerasyon	1.5(1-2)	2(1-2)	P > 0.05
Myelin dejenerasyon	2(1-2.25)	2(1-2)	P > 0.05

Grup 2 (Prednol) sham ve hasar gruplarının sinir lifi çapı, myelin kalınlığı, akson çapı, Schwann hücre apoptozis skoru, aksonal dejenerasyon ve myelin dejenerasyon ortanca değerleri hesaplandı ve elde edilen sonuçlar tablo 15’de gruplar halinde gösterilmiştir. Bu histopatolojik değerleri karşılaştırıldığında sham ve hasar grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Tablo 16. Edaravone grubunun sham ve hasar gruplarının histopatolojik olarak karşılaştırılması (n: 9)

	Grup 3- Hasar	Grup 3- Sham	p
Sinir lifi çapı (µm)	7.11(6.35-7.4)	7.71(6.65-8.4)	P > 0.05
Myelin kalınlığı(µm)	2.19(2.17-2.36)	2.82(2.32-4.33)	P > 0.05
Akson çapı (µm)	2.37(1.88-2.8)	2.34(2.1-2.84)	P > 0.05
Schwann hücre apoptozis skoru	1(1-2)	1(1-2)	P > 0.05
Aksonal dejenerasyon	2(1.5-2)	2(1.5-2)	P > 0.05
Myelin dejenerasyon	2(1.5-2)	2(2-2)	P > 0.05

Grup 3 (Edaravone) sham ve hasar gruplarının sinir lifi çapı, myelin kalınlığı, akson çapı, Schwann hücre apoptozis skoru, aksonal dejenerasyon ve myelin dejenerasyon ortanca değerleri hesaplandı ve tablo 16’da ortanca (%25-%75) değer olarak verildi. Bu iki grup arasındaki tüm ortanca değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

4.3. Biyokimyasal Değerlendirme Bulguları

Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (Prednol) ve Grup 3 (Edaravone) grubunun serum SOD1, GPx, CAT, MDA, TAS, TOS, OSI ortanca değerleri hesaplandı ve sonuçlar tablo 17’de ortanca (%25-%75) değer olarak verildi.

Tablo 17. Gruplar arası serumda ölçülen oksidatif belirteçlerin değerlendirilmesi

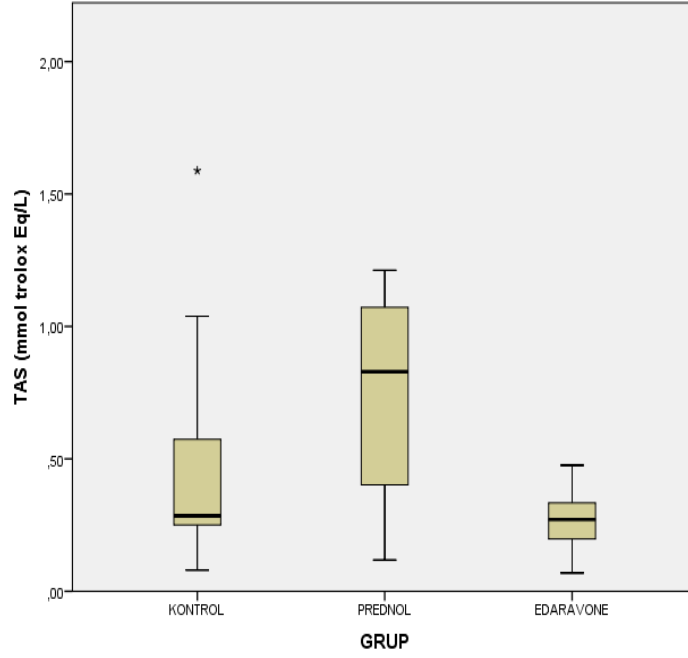
	Grup 1 (n:9)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:9)	P
SOD1 (ng/mg protein)	1.03(0.67-1.99)	1.09(0.75-1.65)	1.06(0.87-2.01)	P > 0.05
GPx (pg/mg protein)	9.08(8.72-193.61)	124.69(17.96-265.49)	17.42(3.91-335.63)	P > 0.05
CAT (pg/mg protein)	7.47(2.27-61.66)	17.26(10.20-58.67)	9.23(4.55-70.58)	P > 0.05
MDA (nmol/mg protein)	0.64(0.54-0.81)	0.62(0.51-0.65)	0.67(0.57-0.77)	P > 0.05
TAS (mmol trolox Eq/L)	0.28(0.17-0.81)	0.83(0.39-1.09) ^a	0.27(0.17-0.37) ^a	P < 0.05
TOS (mmol H2O2 Eq/L)	7.11(4.96-9.70)	6(5.07-7.23)	7.15(6.17-8.8)	P > 0.05
OSI	1.62(0.70-5.87)	0.71(0.50-1.88) ^a	3.15(1.76-5.81) ^a	P < 0.05

SOD: Süperoksit dismutaz; GPx: Glutasyon preoksidaz; CAT: Katalaz; MDA: Malondialdehit; TAS: Total antioksidan status; TOS: Total oksidan status; OSI: Oksidatif stres indeksi

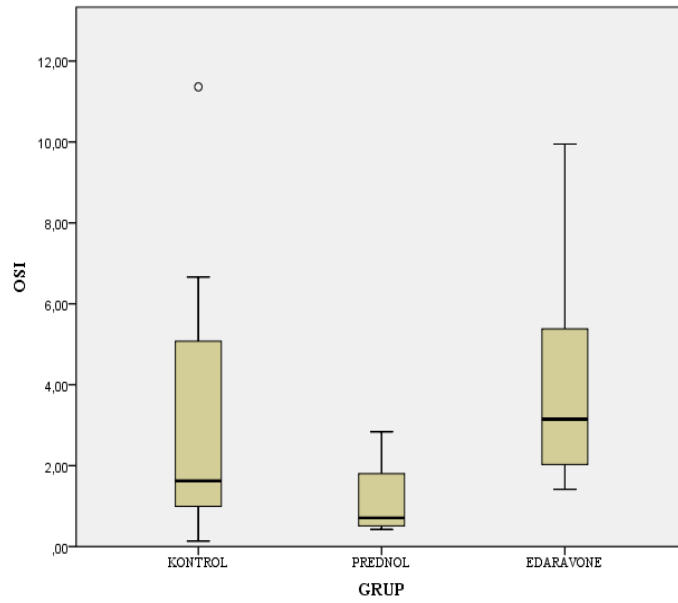
TAS için a p = 0.004; OSI için a p = 0.003

Gruplar arasında serum oksidatif belirteçleri karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlar tablo 17’de gruplar halinde gösterilmiştir. Serum gruplar arası TAS ve OSI düzeyleri karşılaştırıldığında Grup 2 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Gruplar arası serum SOD1, GPx, CAT, MDA, TOS değerleri ortancaları karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır (p > 0,05). Grupların TAS

ve OSI ortanca, minimum ve maksimum değerleri kutu grafikte gsterilmiştir (şekil 1 ve 2).



şekil 18. TAS ortanca, minimum ve maksimum değerleri



şekil 19. OSI ortanca, minimum ve maksimum değerleri

Tablo 18. Hasar grupları arasında dokuda ölçülen oksidatif belirteçlerin değerlendirilmesi

	Grup 1- Hasar (n:9)	Grup 2- Hasar (n:10)	Grup 3- Hasar (n:9)	P
SOD1 (ng/mg protein)	4.56(3.19-12.85)	4.63(2.83-5.79)	3.93(2.04-10.18)	P > 0.05
GPX (pg/mg protein)	360.7(3.19-12.85)	350.7(222.9-454.1)	390(226-594.9)	P > 0.05
CAT (pg/mg protein)	684.9((401.9- 1841.9)	529.15(416.3- 881.42)	483.8(328.9-855.4)	P > 0.05
MDA (nmol/mg protein)	161.4(119.8- 392.35)	207.95(132.1- 250.62)	148.9(109.3-269.65)	P > 0.05
TAS (mmol trolox Eq/L)	1.69(0.9-1.88)	1.8(1.64-1.95)	1.77(1.28-1.83)	P > 0.05
TOS (mmol H2O2 Eq/L)	5.1(4.05-6.25)	4.79(3.41-5.77)	5.04(4.19-5.24)	P > 0.05
OSI	0.32(0.26-0.6)	0.29(0.17-0.33)	0.28(0.27-0.38)	P > 0.05

SOD: Süperoksid dismutaz; GPx: Glutasyon preoksidaz; CAT: Katalaz; MDA: Malondialdehit; TAS: Total antioksidan status; TOS: Total oksidan status; OSI: Oksidatif stres indeksi

Hasar grupları arasındaki doku SOD1, GPx, CAT, MDA, TAS, TOS, OSI değerleri ortancaları karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır (p > 0,05) (Tablo 18).

Tablo 19. Sham grupları arasında dokuda ölçülen oksidatif belirteçlerin değerlendirilmesi

	Grup 1- Sham (n:9)	Grup 2- Sham (n:10)	Grup 3- Sham (n:9)	P
SOD1 (ng/mg protein)	0.67(0.34-4.05)	2.25(1.21-6.51)	2.61(1.18-8.319)	P > 0.05
GPX (pg/mg protein)	1009(43.85-2002.25)	1078(292.67-1915.17)	658.6(281.55-1293.35)	P > 0.05
CAT (pg/mg protein)	194(94.25-326.15)	191.25(100.1-697.17)	259.8(137.85-423.4)	P > 0.05
MDA (nmol/mg protein)	241(131.6-552.55)	172.25(130.37-713.75)	163.5(140.7-548.85)	P > 0.05
TAS (mmol trolox Eq/L)	1.27(1.08-1.41) ^{a,b}	0.6(0.27-0.99) ^a	0.45(0.37-0.5) ^b	P < 0.05
TOS (mmol H2O2 Eq/L)	7.09(5.75-9.58) ^b	8.66(8.32-10.22) ^a	10.75(10.29-11.35) ^{a,b}	P < 0.05
OSI	0.64(0.47-0.78) ^{a,b}	1.8(0.84-3.36) ^a	2.34(1.99-2.98) ^b	P < 0.05

SOD: Süperoksid dismutaz; GPx: Glutasyon preoksidaz; CAT: Katalaz; MDA: Malondialdehit; TAS: Total antioksidan status; TOS: Total oksidan status; OSI: Oksidatif stres indeksi

TAS için a p: 0.002 ; TAS için b p: 0.001 ; TOS için a p: 0.01 ; TOS için b p: 0.006 ; OSI için a p: 0.006 ; OSI için b p: <0.001

Sham grupları arasında doku oksidatif stres belirteçleri ortancaları karşılaştırıldığında TAS düzeyleri için Grup 1 ile Grup 2 arasında ve Grup 1 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmasına rağmen Grup 2 ile Grup 3 arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (p > 0.017). TOS düzeyleri karşılaştırıldığında Kontrol ile Edaravone; ayrıca Prednol ile Edaravone grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. OSI düzeyleri sham grupları arasında karşılaştırıldığında Grup 1 ile Grup 2

arasında ve Grup 1 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 19).

Tablo 20. Kontrol sham ve hasar grupları arasında dokuda ölçülen oksidatif belirteçlerin değerlendirilmesi

	Grup 1- Hasar	Grup 1- Sham	P
SOD1 (ng/mg protein)	4.56(3.19-12.85)	0.67(0.34-4.05)	P = 0.11
GPX (pg/mg protein)	360.7(3.19-12.85)	1009(43.85-2002.25)	P > 0.05
CAT (pg/mg protein)	684.9((401.9-1841.9)	194(94.25-326.15)	P = 0.01
MDA (nmol/mg protein)	161.4(119.8-392.35)	241(131.6-552.55)	P > 0.05
TAS (mmol trolox Eq/L)	1.69(0.9-1.88)	1.27(1.08-1.41)	P > 0.05
TOS (mmol H2O2 Eq/L)	5.1(4.05-6.25)	7.09(5.75-9.58)	P > 0.05
OSI	0.32(0.26-0.6)	0.64(0.47-0.78)	P > 0.05

SOD: Süperoksit dismutaz; GPx: Glutasyon preoksidaz; CAT: Katalaz; MDA: Malondialdehit; TAS: Total antioksidan status; TOS: Total oksidan status; OSI: Oksidatif stres indeksi

Grup 1 (Kontrol) sham ve hasar gruplarının oksidatif stres belirteçleri ortancaları ortanca değerleri hesaplandı ve tablo 1’de ortanca (%25-%75) değer olarak verildi. Bu iki grup arasındaki ortanca değerleri karşılaştırıldığında SOD1 ve CAT değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (Tablo 20).

Tablo 21. Prednol sham ve hasar grupları arasında dokudaki oksidatif belirteçlerin değerlendirilmesi

	Grup 2- Hasar	Grup 2- Sham	P
SOD1 (ng/mg protein)	4.63(2.83-5.79)	2.25(1.21-6.51)	P > 0.05
GPX (pg/mg protein)	350.7(222.9-454.1)	1078(292.67-1915.17)	P > 0.05
CAT (pg/mg protein)	529.15(416.3-881.42)	191.25(100.1-697.17)	P : 0.035
MDA (nmol/mg protein)	207.95(132.1-250.62)	172.25(130.37-713.75)	P > 0.05
TAS (mmol trolox Eq/L)	1.8(1.64-1.95)	0.6(0.27-0.99)	p< 0.001
TOS (mmol H2O2 Eq/L)	4.79(3.41-5.77)	8.66(8.32-10.22)	p< 0.001
OSI	0.29(0.17-0.33)	1.8(0.84-3.36)	p< 0.001

SOD: Süperoksid dismutaz; GPx: Glutasyon preoksidaz; CAT: Katalaz; MDA: Malondialdehit; TAS: Total antioksidan status; TOS: Total oksidan status; OSI: Oksidatif stres indeksi

Grup 2 (Prednol) sham ve hasar gruplarının oksidatif stres belirteçleri ortanca değerleri karşılaştırıldığında CAT, TAS, TOS, OSI değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (Tablo 21).

Tablo 22. Edaravone sham ve hasar grupları arasında dokudaki oksidatif belirteçlerin değerlendirilmesi

	Grup 3- Hasar	Grup 3- Sham	P
SOD1 (ng/mg protein)	3.93(2.04-10.18)	2.61(1.18-8.319)	P > 0.05
GPX (pg/mg protein)	390(226-594.9)	658.6(281.55-1293.35)	P > 0.05
CAT (pg/mg protein)	483.8(328.9-855.4)	259.8(137.85-423.4)	P > 0.05
MDA (nmol/mg protein)	148.9(109.3-269.65)	163.5(140.7-548.85)	P > 0.05
TAS (mmol trolox Eq/L)	1.77(1.28-1.83)	0.45(0.37-0.5)	p < 0.001
TOS (mmol H2O2 Eq/L)	5.04(4.19-5.24)	10.75(10.29-11.35)	p < 0.001
OSI	0.28(0.27-0.38)	2.34(1.99-2.98)	p < 0.001

SOD: Süperoksid dismutaz; GPx: Glutasyon preoksidaz; CAT: Katalaz; MDA: Malondialdehit; TAS: Total antioksidan status; TOS: Total oksidan status; OSI: Oksidatif stres indeksi

Grup 3 (Edaravone) sham ve hasar gruplarının oksidatif stres belirteçleri ortanca değerleri karşılaştırıldığında TAS, TOS, OSI değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p < 0.001) (Tablo 22).

5. TARTIŞMA

Periferik sinir hasarı sık karşılaşılan bir klinik durum olup sıklıkla uzun dönem fonksiyonel kayıplara yol açmaktadır. Periferik sinir hasarlarının tedavisinde amaç sinir bütünlüğünün yeniden sağlanması ve fonksiyonların tam olarak düzeltilmesidir (93). Periferik sinir hasarının onarımı için farklı farmakolojik ajanların kullanımının yanısıra cerrahi teknikler de geliştirilmiştir. Bu ajanların ya da tekniklerin etkinlikleri fonksiyonel, morfolojik, histolojik, immünohistokimyasal, biyokimyasal veya elektrofizyolojik olarak değerlendirilmiştir (94). Fakat bu söz konusu çalışmalar, bu değişikliklerin hepsini aynı anda değerlendirememiş ve elde edilen sonuçlar ile sinir hasarı onarımının sağlanmasına yönelik net bilgiler ortaya konamamıştır. Bu nedenle yeterli bilgi elde edilememiştir. Ancak periferik sinir hasarı ile ilgili yapılan bu çalışmalar, gelecekte yapılacak çalışmalara ışık tutması açısından önemlidir (95).

Fasiyal sinir yaralanması sık görülen periferik sinir hasarlarından. Günümüzde periferik fasiyal sinir paralizisi (PFSP) nedenleri arasında ilk sırayı Bell paralizisi alırken etyolojisi belirlenen en sık ikinci neden ise travmalardır (1, 2) Özellikle travmatik PFSP'de mevcut birçok tedavi yöntemine rağmen sekel kalma ihtimali yüksektir (3). Gelişebilecek sekeller sonucunda bireylerde kozmetik, fonksiyonel ve de psikolojik problemlerin oluşmaması amacı ile fasiyal paralizinin iyileşmesinde kullanılan cerrahi ve medikal tedaviye ek olarak sinir iyileşmesini arttıran yeni alternatif ilaç tedavilerinin ortaya konulmasına ihtiyaç vardır.

Periferik fasiyal paralizinin iyileşmesinde çeşitli ajanların değerlendirilmesi amacıyla bir çok çalışmada fasiyal sinir ezilme yaralanması modeli kullanılmıştır. Ginkgo biloba, darbepoetin, hepatosit growth faktör, nimodipine, eritropoetinin iyileşmede etkin olduğu çeşitli hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Ancak bu moleküllerin hiç biri klinik pratik kullanımda yer bulamamıştır (6).

Sıçanlarda deneysel fasiyal sinir hasarı modeli çalışmaları, hasar sonrası fonksiyonel değişikliklerin incelenmesi, bu değişikliklerin düzeltilmesine yönelik çeşitli cerrahi tekniklerin ve medikal tedavilerin geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Hasar modeli olarak birçok yöntem kullanılmıştır. Ezilme tipi hasar yöntemi de sıklıkla kullanılan bir metottur (96-99). Literatürde ezilme tipi hasar oluşturma yöntemi, kullanılan cerrahi alet ve önemli bir faktör olan sinirin ezilme

süresi ile ilgili standart bir yöntem bulunmamaktadır. Sinir ezilme modelleri ve bunların değerlendirilme yöntemlerindeki farklılıklar nedeniyle karşılaştırma yapmakta güçlük çekilmektedir. Literatürde günümüze kadar uygulanan yöntemler arasında kuyumcu forsepsi (jeweler's forceps) ile 30 saniye süre ile aynı bölgeden bir veya iki kez ezme (6, 97, 99, 100), vasküler klemp yardımıyla 1 dakika , 30 dakika, 40 dakika süre ile bir kez ezme(101-103) en sık kullanılan yöntemlerdir.

Ön çalışmalarımızda, 3 tane sıçan üzerinde 1 dakika, 10 dakika ve 15 dakika süre ile sağ fasiyal sinir trunkusu dallanmadan hemen önce mosquito klemp ile sıkıştırılarak hasar oluşturulmuştur. Sonrasında kornea reflekslerine bakıldığında 3 sıçanda da sağ kornea refleksi ve bıyık hareketlerinin sağ tarafta kaybolduğu gözlemlendiğinden deney modelimiz için 1 dakikalık bası süresinin yeterli olduğuna karar verilmiştir. Bu çalışmada sıçanların sağ fasiyal sinir ana trunkusunda stilomastoid foramenden çıktıktan sonra ve dallanmadan önce 1dakika süre ile mosquito klemp yardımıyla ezilme tipi hasar oluşturulmuştur.

Çalışmamızda, sıçan modeli üzerinde oluşturulan fasiyal sinir ezilme hasarı modelinde rejenerasyon üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri bir çok çalışmada gösterilen edaravone (3-metil-1-fenil-prazolin-5-one) uygulanmıştır. Edaravonenin etkinliğini karşılaştırmak için antiinflamatuvar ve antiödem etkileri kabul görmüş olan prednol grubu oluşturulmuştur. Edaravone ve prednolun etkinlikleri fonksiyonel, histopatolojik, ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak karşılaştırılmıştır. Literatürde kullanılan bu ajanların formu, dozları ve uygulama yolları da değişkenlik göstermekte ve bu da karşılaştırma yapabilmek için güçlük oluşturmaktadır. Tanyeri ve ark.nın yaptığı çalışmada dexametazon 28 gün boyunca 2 mg/ kg/ gün i. p.; Topdağ ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada metilprednizolon 1 mg/kg /gün dozunda 4 veya 10 gün boyunca uygulanmıştır (100, 101). Çalışmamızda ise metilprednizolon hasar oluşturulduktan sonra 1 mg/kg /gün i.p. olarak 1 hafta boyunca uygulanmıştır. Periferik sinirdeki çalışmaları kısıtlı olan edaravone ise Zhang ve ark.nın siyatik sinirde yapmış olduğu çalışmada 3 mg/kg/gün 2 hafta boyunca i.p.; Haruyasu ve ark. ise 1 veya 3 mg/kg/ gün dozunda 7 veya 21 gün boyunca sıçanlara i.p. olarak uygulamıştır (104, 105). Çalışmamızda ise 10 mg/kg/gün dozda Edaravone i.p. olarak sıçanlara hasardan sonra 1 hafta boyunca günde tek doz olacak şekilde uygulanmıştır.

Edaravone, günümüzde bazı ülkelerde serebral infarktın tedavisinde klinik olarak kullanılmaktadır. İskemi/ reperfüzyonun neden olduğu periferik sinir hasarını azaltabildiği bildirilmiştir. Edaravone antioksidan özelliklerinden dolayı bir çok çalışmada kullanılmıştır. Fakat fasiyal sinir hasarında edaravone'nin etkinliği hakkında yapılan bir çalışma literatürde bulunmamaktadır.

Metilprednizolon, antiinflamatuvar etkilerinden dolayı tüm otoimmün hastalıkların, aspirasyon ve kimyasal pnömoninin, ve birçok hemotolojik hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Lipit peroksidasyonu inhibisyonu ve antioksidan özelliğinden dolayı yüksek dozlarda doku hasarını azaltmaktadır. Bu özelliğinden dolayı yüksek doz metilprednizolon kullanımının spinal kord hasarını azalttığı gösterilmiştir (74, 75). Bell paralizi tedavisi için de rutin uygulamalarda sık sık tercih edilmektedir.

Bir çok çalışmada PFSP fonksiyonel iyileşmesi kornea refleksi ve bıyık hareketlerindeki iyileşmeyle değerlendirilmiştir.

Fasiyal sinirde hasar oluşturulan Toledo ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada fasiyal sinirden segment çıkarılarak uç-uca anastomoz yapılmış ve bFGF (uygulanan grupta kornea refleksinin 6.-16. günler arasında bıyık hareketlerinin ise 14-16.günde geri döndüğü bildirilmiştir (106).

Tanyeri ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada ise Hasar- Kontrol ve Hasar- SF gruplarında 16-20 günler arası; Hasar- Deksematazon grubunda 10-12. günler arasında; Hasar-Oksitosin grubunda 10-11. günlerde; Hasar- Resveratrol grubunda ise 8-10. günlerde kornea refleksinde tam iyileşme gözlenmiştir. Bazı çalışmalarda da hasarlı gruplarda tam fonksiyonun 9. İle 21. gün arasında geri geldiği bildirilmiştir (101).

Ancak siyatik sinir ezilme yaralanması sonrası edaravone kullanımına ilişkin Zhang ve ark.nın yaptığı çalışmada edaravone verilen grup, SF verilen grupla karşılaştırıldığında, 2 hafta sonra pençe refleksi tam olarak düzelmiştir (104). Fasiyal sinirde iskemik hasar oluşturulan bir çalışmada ise edaravoneye basıdan hemen sonra ve basıdan 2 gün sonra başlanan gruplar karşılaştırılmıştır. Basıdan hemen sonra başlanan grupta fasiyal paralizin hafif derecede ve daha geç olduğu gözlemlenmiştir (107).

Çalışmamızda, fonksiyonel iyileşmenin değerlendirilebilmesi için fasiyal

sinirin ezilme tipi hasarı işlem sonrası kornea refleksi ve bıyık hareketleri bakılarak kontrol edilmiştir. Kornea refleksinin Grup 1’de sadece 4. haftada 2 sıçanda iyileşmiş olduğu görülmüştür. Grup 2’de ise 3. haftada 2 sıçan ile başlayıp 4. haftada 5 sıçanda tam fonksiyon görülürken; Grup 3’te ise tam düzelme 2.haftada 6 sıçanda başlayıp 4. haftada 8 sıçanda gözlemlenmiştir (Tablo 6). Kornea refleksi işlem öncesi ile işlem sonrası haftalar karşılaştırıldığında sadece Grup 3’ te 2, 3, 4. haftada işlem öncesi ile fark olmadığı bulunmuştur (Tablo 9).

Çalışmamızda, bıyık hareketleri Grup 1’de 4. haftada 4 sıçanda oluşmuş; ancak diğer haftalarda tam iyileşme izlenmemiştir. Grup 2’de ise 2. haftada 2 sıçan ile başlayıp, 3. haftada 3 sıçan, 4. haftada ise 9 sıçanda tam fonksiyon görülürken; Grup 3’te ise tam düzelme 2.haftada 7 sıçan ile başlayıp 3. haftada 8, 4. haftada 9 sıçanda tam bıyık fonksiyonu gözlemlenmiştir (Tablo 10). Bıyık hareketleri işlem öncesi ile işlem sonrası haftalar karşılaştırıldığında sadece Grup 1 ve 2’ de 4. haftada işlem öncesi ile fark olmadığı ve Grup 3’te ise 2., 3., 4. haftalar ile işlem öncesi arasında fark bulunmamıştır. (Tablo 11, 12, 13).

Bu bulgulara göre Grup 3, Grup 1 ve 2 ile karşılaştırıldığında edaravonenin fonksiyonel iyileşmeyi hızlandırdığı, daha erken etki göstermeye başladığı ve daha etkili olduğu görülmüştür. Metilprednizol da serum fizyolojik verilen gruba göre daha iyi fonksiyonel sonuç sağlamıştır. Ancak edaravone verilen gruba göre daha geç iyileşme görülmeye başlamıştır. 4. haftada istatistiksel olarak da hem kornea refleksi hem de bıyık hareketlerindeki iyileşme açısından edaravone ve metilprednizolon grubu arasında fark kalmamıştır.

Diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında Grup 1-Hasar grubunda 4. haftanın sonunda tam fonksiyonellik gözlenmemiştir. Bu durum da bize yapılan ezilmenin yeterli kuvvet ve sürede olduğunu düşündürmektedir. Diğer bir deyişle, ilaç verilmeden kendiliğinden düzelebilecek bir süreç oluşturulmamıştır. Ve ilaçların etkinliği bu şekilde daha iyi değerlendirilebilmiştir.

Sinir yaralanmaları sonucunda oluşan travma ve iskeminin primer etkileri yanında ortaya çıkan ödem ve inflamatuvar reaksiyonların da hücre ve dokular üzerinde ciddi yapısal değişikliklere neden olabileceği yaygın olarak kabul görmektedir. Dolayısıyla, sinir rejenerasyonunun değerlendirilmesi ve olası nedenlerinin araştırılmasında, lipid peroksidasyonu, superoksit anyonların artışı, ödem ve

enflamatuvar reaksiyonların meydana gelmesi primer doku hasarı yanında sekonder doku hasarlarına neden olmaktadır (12).

Periferik sinir hasarı genellikle Wallerian dejenerasyon ve nöronal apoptozis ile meydana gelmektedir. Bu yüzden nöronal apoptozisi önleyen çeşitli faktörler hasarlı periferik sinirin iyileşmesini sağlayabileceğini düşündürmektedir. Apoptozisin en önemli nedenlerinden birisi serbest radikallerdir. Son zamanlarda, hasarlı periferik sinirden üretilen reaktif oksijen türlerinin lipid peroksidasyonu artırdığı, enzim ve yapısal proteinleri değiştirdiği ve hücreyi apoptozis yolağına soktuğu gösterilmiştir.

Yaralanma sonrası ortamda meydana gelen inflamatuvar reaksiyonlara bağlı olarak, çok miktarda superoksit anyonlarının ortaya çıktığı ve bu anyonların özellikle mitokondriyonlar başta olmak üzere, hücresel yapılar üzerinde dejeneratif etkilere neden oldukları rapor edilmiştir (108). Superoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutatyon peroksidaz (GPx) doğal antioksidan savunma sisteminde yeralan ve superoksit anyonların ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlayan enzimlerdir. Dokulardaki oksidan hasarın büyüklüğünü belirleyebilmek için lipid peroksidasyonu son ürünü olan MDA miktarı ölçülebilmektedir.

Sencar L.'nin deneysel siyatik sinir yaralanmasında betametazon ve sinir büyüme faktörünün sinir rejenerasyonu üzerindeki ultrastrüktürel etkilerini araştıran çalışmada SOD aktivitesinin, kontrol grubunda belirgin olarak azaldığı, betametazon grubunda artış gösterdiği, NGF+betametazon tedavi grubunda SOD aktivitesinin anlamlı olarak arttığı ve MDA düzeyinin düştüğü dikkati çekmektedir. Bu durum, betametazonun antiinflamatuvar etkisinin bir sonucu olarak değerlendirilebilmektedir (109).

Saini ve ark. yapmış olduğu diabetik rat modelinde edaravone tedavisi sonrası lipid peroksidasyonunun önemli ölçüde azaldığı SOD ve CAT enzim düzeyinin normal ratlarla aynı ölçüldüğü ve MDA düzeyinin de azaldığı gözlemlenmiştir (142).

Deneysel akut iskemi rat modelinde edaravone tedavisinin karaciğer, adale, plazma MDA seviyelerindeki artışı önlediği, adale ve eritrositlerde glutatyon seviyesindeki azalmayı engellediği, bütün dokularda SOD aktivitesinin azalmasını önlediği gösterilmiştir (78, 79, 84, 87).

Siyatik sinirde ezilme yaralanması sonrası edaravone etkinliğini değerlendiren Zhang ve ark. nın yapmış olduğu çalışmada ise siyatik sinir dokusunda azalmış MDA

ve artmış SOD aktivitesi gözlemlenmiştir. Bu bulgular, edaravonenin, lipid peroksidasyonunu önleyici ve serbest radikal tutucu etkisiyle birlikte erken evrede, mekanik siyatik sinir hasarı sonrası iyileşmeyi sağladığını göstermektedir (104).

Çalışmamızda ise serum SOD1, GPx, CAT, MDA, TAS, TOS, OSI değerleri ölçülmüştür. Grup 2 ve 3'te Grup 1'e göre SOD1, GPx, CAT da artış mevcutken bu istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. Ayrıca Grup 2'de Grup 3'e göre daha fazla artış gözlemlenmiştir. Grup 2'de Grup 1'e göre TAS da beklenen artış TOS ve OSI'de de beklenen azalma görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Grup 3' te ise beklenen aksine TAS'da azalma; TOS ve OSI'de ise artma tespit edilmiştir (Tablo 19).

Grup 1-Hasar, Grup 2-Hasar, Grup 3-Hasar gruplarındaki doku değerleri karşılaştırıldığında Grup 2 ve 3'te Grup 1'e göre TAS değerinde artma; TOS, OSI değerlerinde azalma mevcutken bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yine Grup 2'de Grup 3'e göre TAS değerinde daha fazla artma ve TOS değerinde daha fazla azalma izlenmiştir (Tablo 20).

Bu çalışmada, edaravonenin nöroprotektif etkisinin antioksidan özelliğini göstermeyi amaçlamıştık. Beklediğimiz sonuçlar tedavi gruplarında (Grup 2 ve 3) kontrol grubuna göre SOD1, GPx, CAT, TAS'da artma veya değişmeme; MDA, TOS ve OSI'de azalma veya değişmeme idi. Ancak elde ettiğimiz sonuçlarla sıçanlarda fasiyal sinir ezilme yaralanması modelinde edaravonenin antioksidan özelliğini gösteremedik.

Bunun sebebi olarak; fasiyal paralizi modelinin istenilen iskemiye oluşturamaması, aynı kişi tarafından işlemlerin yapılmasına rağmen düşük hacimli bir sinir olması ve travmaya daha elverişli olmasından ya da biyokimyasal ölçümlerde oluşabilecek ölçüm hataları, kullanılan kitlerin kalitesinden ve bu nedenle oluşan ölçüm hatalarından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Diğer bir yandan, daha fazla denek sayısı olan ve farklı dozlar kullanılarak yapılacak ileri çalışmalarda anlamlı sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir.

Periferik sinir ezilmesi sırasında travma ve kısa süreli iskeminin etkisi ile miyelin kılıf yapısında bozulma, miyelin lamellerinin birbirlerinden ayrılması, akson zarı ve organellerde yapısal değişikliklerin meydana geldiği bilinmektedir. Sinir dokusunda, miyelin kılıf lamellerinin lipid içeriğinden zengin olması ve yaralanma

sonrası ortamda superoksit anyonlar gibi oksidatif ajanların ortaya çıkması, dokuda lipid peroksidasyonuna neden olacağı ve buna bağlı olarak da sinir liflerinin yapılarının bozulacağı açıktır. Gerçekten de sinir yaralanmasını takiben makrofajların bölgeye göç ettikleri ve şiddetli yaralanmalarda, inflamatuvar reaksiyonların meydana geldiği, buna bağlı olarak da hücresel yapıların bozulmasına neden oldukları bilinmektedir (110-112).

Sinir yaralanmasından hemen sonra uygulanan metilprednizolon tedavisi muhtemelen enflamasyonu azaltmakta ve buna bağlı olarak meydana gelen sekonder doku hasarlarının oluşumunu engellemektedir.

Sekiya ve ark, yapmış oldukları hayvan çalışmasında kompresyon sonucu gelişmiş kohlear sinir dejenerasyonunda metilprednizolon etkinliğini araştırmıştır. Kompresyondan önce ve sonraki dönemde ratlara metilprednizolon verilmesinin koklear nöronlarda hasarı önleyebileceğini raporlamışlardır. Bu etkinin metilprednizolonun antiödem etkisinden kaynaklanabileceği savunmuştur (113). Bizim çalışmamızda da metilprednizolon grubunda belirgin şekilde antiödem etki görülmüştür.

Yıldız ve ark, yapmış oldukları çalışmada travmatik fasiyal sinir paralizilerinde iyileşmede metilprednizolon ve n-asetil sistein etkisini araştırmıştır. Fasiyal sinirin kesilerek tekrar suture edildiği çalışmada metilprednizolonun rejenerasyonu arttırmadığı raporlanmıştır (114).

Yanılmaz, travmatik fasiyal sinir paralizilerinde aminoguanidin, melatonin ve metilprednizolonun etkinliğini araştırmış ve fasiyal sinirin kesilerek tekrar dikilmesi sonucunda iyileşmenin değerlendirilmesinde metilprednizolonun kollajen lif birikimini azaltmasına rağmen iyileşmenin önemli bir belirteci olan schwan hücre proliferasyonunu kontrol grubuna göre azalttığını tespit etmiş ve tedavide etkin olmadığını vurgulamıştır (115).

Yıldırım, farklı etiyolojik faktörlere bağlı gelişen fasiyal sinir paralizilerinde metilprednizolonun etkinliği araştırmıştır. Çalışma sonucunda kesiye bağlı oluşan fasiyal sinir paralizilerinde metilprednizolonun etkin olmadığı ancak basıya bağlı gelişmiş olan fasiyal sinir paralizilerinde etkin olduğu vurgulanmıştır (12). Dölen, travmatik fasiyal sinir yaralanmalarında nimodipin ve metilprednizolonun iyileşme üzerine etkileri araştırılmış ve metilprednizolonun iyileşme üzerine olumlu etkilerinin

olduğu vurgulanmıştır (116). Bu bulgular bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçları destekler niteliktedir.

Tüm bu çalışmalara rağmen kesiye bağlı gelişmiş olan fasiyal sinir paralizilerinde kortikosteroid etkinliği tam olarak ortaya konamamıştır. Ayrıca metilprednizolon antiinflamatuvar etkinlikleri nedeni ile yara iyileşmesi üzerine negatif etkili olduklarını gösteren çalışmalar da mevcuttur.

Nguyen ve ark, kortikosteroidlerin iyatrojenik yara iyileşmesinin erken dönemindeki etkinliğini araştırmış ve kortikosteroidlerin cerrahi bölgedeki lökosit sayısını %50 oranında azaltarak iyileşmeyi azalttığını raporlamıştır (117).

Zhao ve ark. nın hayvan modelleri üzerinde (118), Shimoda ve ark. nın hepatositler üzerinde(119) yaptığı çalışmalarda edaravonenin apoptozisi önleyebildiği gösterilmiş ve bu etkisi nedeniyle de Parkinson's ve kardiyovasküler hastalıklar gibi bir çok hastalık tedavisinde uygulanmıştır (10, 118).

Zhang ve ark. nın siyatik sinir üzerinde yaptığı çalışmada elde edilen sonuçlara göre, edaravonenin Bcl-2 protein seviyesini yükseltip Bax protein aşırı üretimini baskılayarak Bcl-2/Bax apoptotik yolağını inhibe ettiği gösterilmiştir. Erken dönemde, siyatik sinir hasarından sonra nöroprotektif etkiyi bu yolla sağladığı düşünülmüştür (104). Ayrıca, oksidatif stres apoptotik işlemi hızlandırmaktadır (120) (121) (122). Bu nedenle edaravonenin, antioksidan mekanizması ile apoptotik işlemi yavaşlatarak nöroprotektif etki gösterdiği düşünülmektedir (123).

Bu bilgilere dayanarak, edaravonenin, hücrelerde serbest radikal hasarını hafifleterek lipid peroksidasyonunu ve hücre dışı apoptotik etkileri inhibe ettiği bir çok çalışmada gösterilmiştir. Erken dönemde mekanik faktörlerin neden olduğu periferik sinir hasarında rejenerasyonu bu etkileri ile sağladığı sonucuna varılmaktadır (104).

Çalışmamızda, ışık mikroskopisi incelemesinde ortalama sinir lifi çapı (akson+myelin çapı), aksonal ve myelin dejenerasyon açısından hasarlı gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmiştir. Myelin lifi kalınlığı, Grup 2 ve 3'te Grup 1'e göre; grup 3'te de grup 2'ye göre artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 14). Grup 1'de aksonlarda yaygın olarak dejenerasyon, dilatasyon veya incelmeye izlenmiş; myelin kılıfında ise yaygın olarak kesintilere

uğrama ve kayıp izlenmesine bağlı akson çapında artma, myelin çapında azalma izlenmiştir. Grup 3'te ise sağ fasiyal sinir dokusunun ışık mikroskopik incelenmesinde, yer yer şişmiş aksonlar izlenmekle birlikte genel olarak normal yapıda aksonlar izlenmiştir. Myelin kılıfı yer yer şişmiş ve kesintiye uğramış myelin yapısı yanında normal myelin çapı ve akson çapında artış olmuştur (Şekil 15, 16).

Aksonal ve myelin dejenerasyon Grup 2 ve 3'te Grup 1'e göre daha düşük oranda izlenmiş olup, Grup 2 ve 3 arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır. Hatta Grup 3'te aksonal dejenerasyon Grup 2'den daha yüksek seviyede oluşmuştur. Bunun sebebi olarak grup 2'de aksonlarda aksonal küçülme olması ve grup 3'te ise aksonal şişme şeklinde bazı akson yapıları olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Grup 2 ve 3'te normale yakın akson ve myelin yapısı izlenmiştir. Myelin dejenerasyon ise grup 2 ve 3'te eşit izlenmiştir (Tablo 12).

Grup 3'teki bu değişime dayanarak, edaravone tedavisinin sinir rejenerasyonu üzerinde etkili olduğu metilprednizolona göre daha iyi histolojik bulgular oluşturduğu gösterilmiştir. Ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır.

Ayrıca, Schwann hücre apoptozisini tespit etmek için TUNEL tekniği kullanılarak ışık mikroskopik inceleme yapılmıştır. Metilprednizolon grubuna ait sağ ve sol sinir kesitlerinde hafif seviyede; edaravone grubunda ise sağ ve sol fasiyal sinir kesitlerinde çok az miktarda apoptotik Schwann hücresi, yaygın olarak da normal Schwann hücreleri izlenmiştir (Şekil 17). İstatistiksel olarak incelendiğinde ise Schwann hücre apoptozis skoru için Grup 1 ile 2 ve Grup 1 ile 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Grup 2 ve 3 ışık mikroskopik bulguları karşılaştırıldığında Grup 3'te daha az apoptozis izlenmesine rağmen bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır (Tablo 12).

Çalışmamızda, ezilme tipi yaralanma uygulanan fasiyal sinirde metilprednizolon, postoperatif olarak 1 mg/kg/gün dozunda bir hafta boyunca verildi. Gerçekten de bu grupta ışık mikroskopik bulguların deney kontrol grubuna göre daha iyi durumda olması, lipid peroksidasyonunun nisbeten azalması ilgi çekici bulunmuştur.

Çalışmamızda, edaravone hasar grubundaki sinir lifi yapılarının nisbeten normale yakın oldukları, sinir rejenerasyonunun da deney kontrol grubuna göre daha iyi olduğu belirlendi. Bunun yanında, edaravone verilen grupta, ortalama sinir lifi çapı, akson çapı ve miyelin kılıf kalınlığı dikkate alındığında, kontrol-hasar grubuna göre anlamlı bir artışın meydana geldiği dikkati çekmiştir.

Periferik sinir rejenerasyonunda, akson dışında Schwann hücrelerinin de önemli rollere sahip olduğu düşünülmektedir. Yaralanma sonucu, Schwann hücrelerinin hücre yapışma moleküllerini sentezledikleri, bu yolla aksonal oryantasyon ve rejenerasyonu kolaylaştırdıkları kaydedilmiştir (12).

Çalışmamızda, edaravonenin Schwann hücrelerinde apoptozisi önleyerek sinir rejenerasyonuna katkı sağladığı düşünülmüştür.

Bu sonuçlara dayanarak, edaravone tedavisiyle aksonların rejenere olduğunu, akson sayılarının ve çaplarının arttığını, Schwann hücre apoptozisinin önlendiğini ve rejenere aksonlar etrafında miyelin yapımının uyarıldığını söylemek yanlış olmayacaktır.

Histopatolojik verilerimize göre sinir bütünlüğünün korunmuş olduğu travmatik periferik sinir paralizisinde edaravone ve metilprednizolon gruplarında, kontrol grubuna göre dejenerasyonun azaldığı ve rejenerasyonun arttığı görülmüştür. Edaravone grubunda normale yakın akson, miyelin ve sinir yapısı gözlemlendiği; ayrıca apoptozis skorunun azaldığı ve bunun da rejenerasyona katkı sağladığı görülmüştür.

En önemlisi de, histopatolojik bulgular fonksiyonel bulgular ile uyumlu bulunmuştur. Mekanik nedenlerle oluşan sinir bütünlüğü korunmuş sıçan üzerindeki fasiyal sinir modelinde edaravonenin nöroprotektif etkinliği gösterilebilmiştir.

Bu çalışmada bazı kısıtlılıklar mevcuttu. İlk olarak, çalışma, optimal edaravone dozu veya optimal kullanım süresinin kesin olarak analiz etmek için yeterince güçlendirilmelidir. Edaravonenin mekanik periferik sinir hasarının tedavisinde klinik kullanımı için en iyi doz, terapötik periyod, emniyet ve etkinliğini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. İkincisi, periferik sinir hasarından sonra edaravonenin fonksiyonel iyileştirme mekanizmasını incelerken objektif bir belirteç olan elektrofizyolojik çalışmalara gerek duyulmaktadır. Edaravonenin iyileşmedeki antioksidan etkisini gösterebilmek için de daha fazla denek sayılı, doz ayarlı, kombine

tedavi grupları ve daha hassas ölçümler sağlayabilecek kitler ile daha çalışmalar yapılması ileri çalışmalarda amaçlanmaktadır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışmamızda, fonksiyonel değerlendirme ile teyit edilerek fasiyal sinir ezilme yaralanması modeli oluşturulmuştur.
2. Edaravone alan grupta fonksiyonel iyileşmenin diğer gruplara göre daha erken başladığı ve daha hızlı etki gösterdiği tespit edilmiştir.
3. Edaravone grubunda sinir rejenerasyonunun belirgin olduğu, sinir lifleri ve miyelin yapılarının çoğunlukla normal olduğu izlenmiştir.
4. TUNEL boyama ile yapılan apoptozis skoru değerlendirilmesinde 4. haftada edaravone alan grupta skorun anlamlı olarak düşük olduğu bulunmuştur.
5. Çalışmamızda, gruplar arasında serum ve doku örneklerindeki antioksidan ve oksidan parametrelerde anlamlı fark bulunmamıştır.
6. Fasiyal sinirin ezilme hasarında edaravonenin fonksiyonel ve histopatolojik iyileşme skorlarında anlamlı olarak düzelmeye yol açtığı gösterilmiştir.
7. Edaravonenin mekanik fasiyal sinir hasarının tedavisinde iyileştirici etkilerini objektif olarak gösterebileceğimiz elektrofizyolojik çalışmalara ihtiyaç vardır. Edaravonenin iyileşmedeki muhtemel antioksidan etkileri, daha fazla denek sayılı, ileri çalışmalarda gösterilebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Davis R, Telischi FF. Traumatic facial nerve injuries: review of diagnosis and treatment. *The Journal of cranio-maxillofacial trauma*. 1994;1(3):30-41.
2. Roob G, Fazekas F, Hartung H-P. Peripheral facial palsy: etiology, diagnosis and treatment. *European neurology*. 1999;41(1):3-9.
3. Green Jr JD, Shelton C, Brackmann DE. Surgical management of iatrogenic facial nerve injuries. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*. 1994;111(5):606-10.
4. Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurgical focus*. 2004;16(5):1-7.
5. Robinson LR. Traumatic injury to peripheral nerves. *Muscle & nerve*. 2000;23(6):863-73.
6. Topdag M, Topdag DO, Ila K, Muezzinoglu B, Yaprak B, Ozturk M, et al. The effect of memantine on functional recovery of the facial nerve after crush injury. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2015;272(2):473-8.
7. Lundborg G, Dahlin LB. Anatomy, function, and pathophysiology of peripheral nerves and nerve compression. *Hand clinics*. 1996;12(2):185-93.
8. Hohl M, Schopfer P. Water relations of growing Maize coleoptiles comparison between Mannitol and Polyethylene glycol 6000 as external osmotica for adjusting turgor pressure. *Plant Physiology*. 1991;95(3):716-22.
9. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical biochemistry*. 1993;26(5):351-7.
10. Kikuchi K, Tancharoen S, Takeshige N, Yoshitomi M, Morioka M, Murai Y, et al. The efficacy of edaravone (radicut), a free radical scavenger, for cardiovascular disease. *International journal of molecular sciences*. 2013;14(7):13909-30.
11. Anzai K, Furuse M, Yoshida A, Matsuyama A, Moritake T, Tsuboi K, et al. In vivo radioprotection of mice by 3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one (Edaravone; Radicut®), a clinical drug. *Journal of radiation research*. 2004;45(2):319-23.
12. Yıldırım MA. Farklı etiyolojik faktörlere bağlı gelişen fasiyal sinir paralizlerinde metilprednizolonun etkileri [tez]. Elazığ: Fırat Üniversitesi; 2012.
13. Greenece EC. Anatomy of the rat. (Reprint of Transactions of the American Philosophical Society VNYHPC, 1955.
14. Hebel R, Stromberg MW. Anatomy of the laboratory rat. *Anatomy of the laboratory rat*. 1976.
15. Mattox DE. Clinical disorders of the facial nerve in *Otolaryngology Head and Neck Surgery*. Cummings CW FJ, Harker LA, Krause CJ, Schuller DE eds. Second Edition, Mosby Year Book, St Louis, 1993 P: 3217–29.
16. Borin A, Toledo RN, de Faria SD, Testa JRG, Cruz OLM. Behavioral and histologic experimental model of facial nerve regeneration in rats. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*. 2006;72(6):776-85.
17. Mattox DE, Felix H. *Surgical anatomy of the rat facial nerve*. LWW; 1987.
18. Lundborg G, Dahlin LB. The pathophysiology of nerve compression. *Hand clinics*. 1992;8(2):215.
19. Seddon H. Three types of nerve injury. *Brain*. 1943;66(4):237-88.
20. Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain*. 1951;74(4):491-516.

21. Mackinnon SE. New directions in peripheral nerve surgery. *Annals of plastic surgery*. 1989;22(3):257-73.
22. İmplantasyon SLK. Koç C, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. Ankara, Turgut Yayıncılık. 2004:403-14.
23. Kim J. The Effective Treatment for Incomplete Recovery after Facial Nerve Paralysis. *Korean Journal of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2013;56(7):397-405.
24. Lundborg G. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *The Journal of hand surgery*. 2000;25(3):391-414.
25. Seckel BR. Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle & nerve*. 1990;13(9):785-800.
26. Wong B, Crumley RL. Nerve wound healing. An overview. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 1995;28(5):881-95.
27. Terzis J, Faibisoff B, Williams HB. The nerve gap: suture under tension vs. graft. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1975;56(2):166-70.
28. Hall SM. Regeneration in the peripheral nervous system. *Neuropathology and applied neurobiology*. 1989;15(6):513-29.
29. Lundborg G. Nerve regeneration and repair: A review. *Acta Orthopaedica Scandinavica*. 1987;58(2):145-69.
30. Özbayoğlu AC. Deneysel Sıçan Siyatik Sinir Ezilme Tarzı Yaralanma Modelinde Sinir Rejenerasyonunda Trombositten Zengin Plazmanın Etkileri [tez]. Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi 2008.
31. Maggi SP, Lowe JB, Mackinnon SE. Pathophysiology of nerve injury. *Clinics in plastic surgery*. 2003;30(2):109-26.
32. Terzis JK, SKRagotpnMJ, May JW, Litter WJ, editors. *Plastic surgery*. Philadelphia: WB Saunders; 1990. Volume 1, p: 630-97.
33. Dahlin LB. The biology of nerve injury and repair. *Journal of the American Society for Surgery of the Hand*. 2004;4(3):143-55.
34. Brandt K, Mackinnon S. Microsurgical repair of peripheral nerves and nerve grafts. *Grabb and Smith's plastic surgery*. 1997:79.
35. Deumens R, Bozkurt A, Meek MF, Marcus MA, Joosten EA, Weis J, et al. Repairing injured peripheral nerves: bridging the gap. *Progress in neurobiology*. 2010;92(3):245-76.
36. Tanyeri G. Fasiyal Sinir Hasarında Nöroprotektif Ajanların Rejenerasyon Üzerine Etkilerinin Gösterilmesi: Deneysel Çalışma [tez]. Manisa: Celal Bayar Üniversitesi; 2013.
37. Bunge RP. The role of the Schwann cell in trophic support and regeneration. *Journal of neurology*. 1994;242(1):S19-S21.
38. Dokusu EDS, Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Temel Histoloji İstanbul Barış/Appleton-Lange*. 1993:196-231.
39. Brushart T. Motor axons preferentially reinnervate motor pathways. *Journal of Neuroscience*. 1993;13(6):2730-8.
40. Dellon A. Wound healing in nerve. *Clinics in plastic surgery*. 1990;17(3):545-70.
41. Tanyeri Y URPFPCOe, Asya Tıp Kitabevi, İzmir, 2007, pp: 283-290.
42. Masterson L, Vallis M, Quinlivan R, Prinsley P. Assessment and management of facial nerve palsy. *bmj*. 2015;351:h3725.

43. May M.: Facial Nerve Paralysis. In Paparella MM SDeOP, WB Saunders Co., 1991, s. 1097-1136.
44. Wheeler CR, Salzman JA, Elsayed NM, Omaye ST, Korte DW. Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activity. *Analytical biochemistry*. 1990;184(2):193-9.
45. Akyıldız N: Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi CI, Bilimsel Tıp Yayınevi,. Bölüm III: Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi,. Bilimsel Tıp Yayınevi,. 2002;Cilt II:215-330.
46. Nilssen E, Wormald P. Facial nerve palsy in mastoid surgery. *The Journal of Laryngology & Otology*. 1997;111(2):113-6.
47. House J. Iatrogenic facial paralysis. *Ear, nose, & throat journal*. 1996;75(11):628-33.
48. Bagdatoglu C, Saray A, Surucu HS, Ozturk H, Tamer L. Effect of trapidil in ischemia/reperfusion injury of peripheral nerves. *Neurosurgery*. 2002;51(1):212-20.
49. Rinker B, Fink BF, Barry NG, Fife JA, Milan ME, Stoker AR, et al. The effect of cigarette smoking on functional recovery following peripheral nerve ischemia/reperfusion injury. *Microsurgery*. 2011;31(1):59-65.
50. Finn JT, Weil M, Archer F, Siman R, Srinivasan A, Raff MC. Evidence that Wallerian degeneration and localized axon degeneration induced by local neurotrophin deprivation do not involve caspases. *Journal of Neuroscience*. 2000;20(4):1333-41.
51. Sayan H, Haktan Ozacmak V, Ozen OA, Coskun O, Oktay Arslan S, Cem Sezen S, et al. Beneficial effects of melatonin on reperfusion injury in rat sciatic nerve. *Journal of pineal research*. 2004;37(3):143-8.
52. Barber DA, Harris SR. Oxygen Free Radicals and Antioxidants: A Review: The use of antioxidant vitamin supplements to scavenge free radicals could decrease the risk of disease. *American pharmacy*. 1994;34(9):26-35.
53. Cheeseman K, Slater T. An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*. 1993;49(3):481-93.
54. Brunori M, Rotilio G. [2] Biochemistry of oxygen radical species. *Methods in enzymology*. 1984;105:22-35.
55. Weiss S. Oxygen, ischemia and inflammation. *Acta physiologica Scandinavica Supplementum*. 1986;548:9.
56. Biliński T, Litwińska J, Błszyński M, Bajus A. Superoxide dismutase deficiency and the toxicity of the products of autooxidation of polyunsaturated fatty acids in yeast. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*. 1989;1001(1):102-6.
57. Markesbery WR. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 1997;23(1):134-47.
58. Reiter RJ. Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin. *Progress in neurobiology*. 1998;56(3):359-84.
59. McCord JM, Day ED. Superoxide-dependent production of hydroxyl radical catalyzed by iron—EDTA complex. *FEBS letters*. 1978;86(1):139-42.
60. Basaga H. Biochemical aspects of free radicals. *Biochemistry and Cell Biology*. 1990;68(7-8):989-98.
61. Dreher D, Junod AF. Role of oxygen free radicals in cancer development. *European Journal of cancer*. 1996;32(1):30-8.
62. Freeman B, Crapo J. Biology of disease: free radical injury to tissue. *Lab Invest*. 1982;47:412-26.

63. Fridovich I. Superoxide anion radical ($O_2^{\cdot -}$), superoxide dismutases, and related matters. *Journal of Biological Chemistry*. 1997;272(30):18515-7.
64. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *Journal of Biological chemistry*. 1969;244(22):6049-55.
65. Kajihara J-i, Enomoto M, Katoh K, Mitsuta K, Kohno M. Relationship between the Ligand Structure of Copper and the Stability of Superoxide Dismutase. *Agricultural and biological chemistry*. 1990;54(2):495-9.
66. Salin M, McCord J. Free radicals and inflammation. Protection of phagocytosine leukocytes by superoxide dismutase. *Journal of Clinical Investigation*. 1975;56(5):1319.
67. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları, Konya*. 1995:134.
68. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clinical Chemistry*. 1991;37(11):1932-7.
69. Shimizu N, Kobayashi K, Hayashi K. The reaction of superoxide radical with catalase. Mechanism of the inhibition of catalase by superoxide radical. *Journal of Biological Chemistry*. 1984;259(7):4414-8.
70. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical biochemistry*. 2004;37(4):277-85.
71. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*. 2005;38(12):1103-11.
72. O. K. Kortikosteroid antagonistleri ve ACTH. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji Hacettepe Taş Kitabevi*. 2005;11:1079-107.
73. Kayaalp S. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Feryal Matbacılık, Ankara. 1993: 2566-626.
74. Uhler TA, Frim DM, Pakzaban P, Isacson O. The Effects of Megadose Methylprednisolone and U-78517F on Toxicity Mediated by Glutamate Receptors in the Rat Neostriatum. *Neurosurgery*. 1994;34(1):122-8.
75. Hilton G, Frei J. High-dose methylprednisolone in the treatment of spinal cord injuries. *Heart & lung: the journal of critical care*. 1991;20(6):675-80.
76. Grogan PM, Gronseth GS. Practice parameter: Steroids, acyclovir, and surgery for Bell's palsy (an evidence-based review) Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2001;56(7):830-6.
77. Wolf SM, Wagner JH, Davidson S, Forsythe A. Treatment of Bell palsy with prednisone A prospective, randomized study. *Neurology*. 1978;28(2):158-.
78. Sakamoto A, Ohnishi ST, Ohnishi T, Ogawa R. Relationship between free radical production and lipid peroxidation during ischemia-reperfusion injury in the rat brain. *Brain research*. 1991;554(1):186-92.
79. Schwab ME. Repairing the injured spinal cord. *Science*. 2002;295(5557):1029-31.
80. Tang Dq, Li Yj, Li Z, Bian Tt, Chen K, Zheng Xx, et al. Study on the interaction of plasma protein binding rate between edaravone and taurine in human plasma based on HPLC analysis coupled with ultrafiltration technique. *Biomedical Chromatography*. 2015;29(8):1137-45.

81. Topsakal C, Erol FS, Ozveren FM, Yilmaz N, Ilhan N. Effects of methylprednisolone and dextromethorphan on lipid peroxidation in an experimental model of spinal cord injury. *Neurosurgical review*. 2002;25(4):258-66.
82. Lapchak PA. A critical assessment of edaravone acute ischemic stroke efficacy trials: is edaravone an effective neuroprotective therapy? *Expert opinion on pharmacotherapy*. 2010;11(10):1753-63.
83. Zhang N, Komine-Kobayashi M, Tanaka R, Liu M, Mizuno Y, Urabe T. Edaravone reduces early accumulation of oxidative products and sequential inflammatory responses after transient focal ischemia in mice brain. *Stroke*. 2005;36(10):2220-5.
84. Itoh T, Imano M, Nishida S, Tsubaki M, Hashimoto S, Ito A, et al. Exercise increases neural stem cell proliferation surrounding the area of damage following rat traumatic brain injury. *Journal of neural transmission*. 2011;118(2):193-202.
85. Group EAIS. Effect of a novel free radical scavenger, edaravone (MCI-186), on acute brain infarction. Randomized, placebo-controlled, double-blind study at multicenters. *Cerebrovascular diseases (Basel, Switzerland)*. 2003;15(3):222.
86. Kano T, Harada T, Hirayama T, Katayama Y. Combination therapy using TPA and edaravone improves the neurotoxic effect of TPA. *Interventional Neuroradiology*. 2007;13(1_suppl):106-8.
87. Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiological reviews*. 1996;76(2):319-70.
88. Kihara M, Schmelzer JD, Kihara Y, Smithson IL, Low PA. Efficacy of limb cooling on the salvage of peripheral nerve from ischemic fiber degeneration. *Muscle & nerve*. 1996;19(2):203-9.
89. Erkut A, Cure M, Kalkan Y, Balik M, Guvercin Y, Yaprak E, et al. Protective effects of thymoquinone and alpha-tocopherol on the sciatic nerve and femoral muscle due to lower limb ischemia-reperfusion injury. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2016;20(6):1192-202.
90. Yagi K. [39] Assay for blood plasma or serum. *Methods in enzymology*. 1984;105:328-31.
91. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical biochemistry*. 1978;86(1):271-8.
92. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*. 1976;72(1-2):248-54.
93. Neiva FC, Borin A, Cinini S, Mello LEA, Cruz OLM, Testa JRG. Experimental model of facial paralysis by nerve compression in primates (*Callithrix* sp.): A new model of facial paralysis in small nonhuman primates. *Acta oto-laryngologica*. 2012;132(11):1239-42.
94. Gravvanis AI, Tsoutsos DA, Tagaris GA, Papalois AE, Patralexis CG, Iconomou TG, et al. Beneficial effect of nerve growth factor-7S on peripheral nerve regeneration through inside-out vein grafts: An experimental study. *Microsurgery*. 2004;24(5):408-15.
95. Tanyeri G. Fasiyal Sinir Hasarında Nöroprotektif Ajanların Rejenerasyon Üzerine Etkilerinin Gösterilmesi: Deneysel Çalışma [tez]. Manisa: Celal Bayar Üniversitesi; 2013.

96. Yetiser S, Kahraman E. An analysis of time-dependent changes of neurotrophic factors (BDNF, CNTF) in traumatic facial nerve injury of a nerve-cut and nerve-crush model in rats. *Otology & Neurotology*. 2008;29(3):392-6.
97. Vakharia KT, Lindsay RW, Knox C, Edwards C, Henstrom D, Weinberg J, et al. The effects of potential neuroprotective agents on rat facial function recovery following facial nerve injury. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery*. 2011;144(1):53-9.
98. Lindsay RW, Heaton JT, Edwards C, Smitson C, Hadlock TA. Nimodipine and acceleration of functional recovery of the facial nerve after crush injury. *Archives of facial plastic surgery*. 2010;12(1):49-52.
99. Zhang W, Sun B, Yu Z, An J, Liu Q, Ren T. High dose erythropoietin promotes functional recovery of rats following facial nerve crush. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2009;16(4):554-6.
100. Topdag M, Iseri M, Topdag DO, Kokturk S, Ozturk M, Iseri P. The effect of etanercept and methylprednisolone on functional recovery of the facial nerve after crush injury. *Otology & Neurotology*. 2014;35(7):1277-83.
101. Tanyeri G, Celik O, Erbas O, Oltulu F, Yilmaz Dilsiz O. The effectiveness of different neuroprotective agents in facial nerve injury: An experimental study. *The Laryngoscope*. 2015;125(11):E356-E64.
102. Zheng X-s, Ying T-t, Yuan Y, Li S-t. Nimodipine-mediated re-myelination after facial nerve crush injury in rats. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2015;22(10):1661-8.
103. Sharma N, Moeller CW, Marzo SJ, Jones KJ, Foecking EM. Combinatorial treatments enhance recovery following facial nerve crush. *The Laryngoscope*. 2010;120(8):1523-30.
104. Zhang T, Li Z, Dong J, Nan F, Li T, Yu Q. Edaravone promotes functional recovery after mechanical peripheral nerve injury. *Neural regeneration research*. 2014;9(18):1709.
105. Iida H, Nagasaka T, Shindo K, Shiozawa Z. Effect of the free radical scavenger edaravone on peripheral nerve ischemia-reperfusion injury. *Muscle & nerve*. 2009;40(4):582-8.
106. Toledo RN, Borin A, Cruz OL, Ho PL, Testa JR, Fukuda Y. The action of topical basic fibroblast growth factor in facial nerve regeneration. *Otology & Neurotology*. 2010;31(3):498-505.
107. Takeda T, Takeda S, Takumida M, Okada T, Kakigi A, Nakatani H, et al. Protective effects of edaravone against ischemia-induced facial palsy. *Auris Nasus Larynx*. 2008;35(3):321-7.
108. Lieven CJ, Hoegger MJ, Schlieve CR, Levin LA. Retinal ganglion cell axotomy induces an increase in intracellular superoxide anion. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2006;47(4):1477-85.
109. Sencar L. Deneysel siyatik sinir yaralanmasında betametazon ve sinir büyüme faktörünün sinir rejenerasyonuna ultrastrüktürel etkileri [tez]. Adana: Çukurova Üniversitesi; 2007.
110. Stoll G, Müller HW. Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. *Brain pathology*. 1999;9(2):313-25.
111. Pagnotta A, Tos P, Fornaro M, Gigante A, Geuna S, Battiston B. Neurotrophins and their receptors in early axonal regeneration along muscle-vein-combined grafts. *Microsurgery*. 2002;22(7):300-3.

112. Hirata K, Kawabuchi M. Myelin phagocytosis by macrophages and nonmacrophages during Wallerian degeneration. *Microscopy research and technique*. 2002;57(6):541-7.
113. Sekiya T, Shimamura N, Suzuki S, Hatayama T. Methylprednisolone ameliorates cochlear nerve degeneration following mechanical injury. *Hearing research*. 2001;151(1):125-32.
114. Karlıdag T, Yıldız M, Yalcın S, Colakoglu N, Kaygusuz I, Sapmaz E. Evaluation of the effect of methylprednisolone and N-acetylcystein on anastomotic degeneration and regeneraton of the facial nerve. *Auris Nasus Larynx*. 2012;39(2):145-50.
115. Yanılmaz M. Travmatik fasiyal paralizlerinde, sinir iyileşmesi üzerine aminoguanidin, melatonin ve metilprednizolonun etkileri [tez]. Elazığ: Fırat Üniversitesi, Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları Kliniği; 2009.
116. Dölen T. Travmatik Fasiyal Sinir Yaralanmalarında Nimodipin ve Metilprednizolon'un İyileşme Üzerine Etkileri [tez]. Elazığ: Fırat Üniversitesi, Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları Kliniği; 2012.
117. Nguyen H, Lim J, Dresner ML, Nixon B. Effect of local corticosteroids on early inflammatory function in surgical wound of rats. *The Journal of foot and ankle surgery*. 1998;37(4):313-8.
118. Zhao ZY, Luan P, Huang SX, Xiao SH, Zhao J, Zhang B, et al. Edaravone protects HT22 neurons from H₂O₂-induced apoptosis by inhibiting the MAPK signaling pathway. *CNS neuroscience & therapeutics*. 2013;19(3):163-9.
119. Shimoda M, Iwasaki Y, Okada T, Kubota K. Edaravone inhibits apoptosis caused by ischemia/reperfusion injury in a porcine hepatectomy model. *World J Gastroenterol*. 2012;18(27):3520-6.
120. Zhao F, Wang Q. The protective effect of peroxiredoxin II on oxidative stress induced apoptosis in pancreatic β -cells. *Cell & bioscience*. 2012;2(1):22.
121. Deramaudt T, Dill C, Bonay M. Regulation of oxidative stress by Nrf2 in the pathophysiology of infectious diseases. *Médecine et maladies infectieuses*. 2013;43(3):100-7.
122. Walluscheck D, Poehlmann A, Hartig R, Lendeckel U, Schönfeld P, Hotz-Wagenblatt A, et al. ATF2 knockdown reinforces oxidative stress-induced apoptosis in TE7 cancer cells. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2013;17(8):976-88.
123. Chen S-D, Yin J-H, Hwang C-S, Tang C-M, Yang D-I. Anti-apoptotic and anti-oxidative mechanisms of minocycline against sphingomyelinase/ceramide neurotoxicity: implication in Alzheimer's disease and cerebral ischemia. *Free radical research*. 2012;46(8):940-50.