

TC.
ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ A.D.

**SIÇANLARDA YÜKSEK YAĞLI DİYETLE
OLUŞTURULAN OBEZİTENİN PERİFERİK SİNİR
REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esra BEKAR

**Samsun
Ağustos-2011**

TC.
ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ A.D.

**SIÇANLARDA YÜKSEK YAĞLI DİYETLE
OLUŞTURULAN OBEZİTENİN PERİFERİK SİNİR
REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esra BEKAR

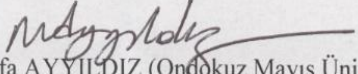
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Berrin Zuhul ALTUNKAYNAK


**Samsun
Ağustos-2011**

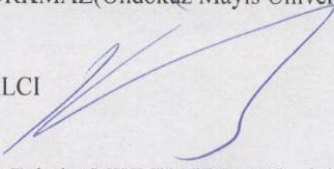
T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

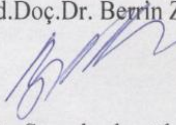
Bu çalışma jürimiz tarafından Histoloji-Embriyoloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.


Başkan : Prof.Dr. Süleyman KAPLAN(Ondokuz Mayıs Üniversitesi)


Üye : Prof.Dr. Mustafa AYYILDIZ (Ondokuz Mayıs Üniversitesi)


Üye : Prof.Dr. Adnan KORKMAZ(Ondokuz Mayıs Üniversitesi)


Üye : Doç.Dr. Kemal BALCI


Üye : Yrd.Doç.Dr. Berrin Zuhale ALTUNKAYNAK(Ondokuz Mayıs Üniversitesi)

Tezin Adı: Sıçanlarda yüksek yağlı diyetle oluşturulan obezitenin periferik sinir rejenerasyonu üzerine etkisinin araştırılması


Tezi Teslim Eden : Esra BEKAR

Tez Savunma Sınav Tarihi:19 /09 / 2011

Tez Danışmanı : Yrd.Doç.Dr. Berrin Zuhale ALTUNKAYNAK

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulu"unca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof.Dr.Süleyman KAPLAN
Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yapılabilmesinde büyük katkıları olan, fikir aşamasından itibaren her basamakta bilimsel ve teknik bilgilerinden faydalandığım, tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Berrin Zuhâl ALTUNKAYNAK'a, tez çalışmalarım sırasında, değerli görüşlerini ve hoşgörülerini esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Süleyman KAPLAN'a, yardım ve desteklerinden dolayı Histoloji-Embriyoloji Bölümü Arş. Gör. Mehmet Emin ÖNGER'e, doktora öğrencileri değerli arkadaşlarım Ebru AYRANCI ve Züleyha ERİŞGİN'e, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri; Prof. Dr. Adnan KORMAZ'a, Yrd. Doç. Dr. Bülent AYAS'a, Öğr. Gör. Dr. M. Eyüp ALTUNKAYNAK'a, ayrıca lisansüstü öğrenim gören arkadaşlarıma ve bölümümüz laboratuvar teknisyenleri Vicdan AYDOĞAN ve İlknur ÇEVİK'e çok teşekkür ederim.

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Cafer MARANGOZ'a, yardımlarından dolayı Sayın Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ'a, tüm fizyolojik çalışmalarda emeği geçen Fizyoloji Anabilim Dalı Arş. Görevlileri Gökhan ARSLAN ve Süleyman Emre KOCACAN'a da teşekkürlerimi sunarım.

Nöroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Kemal BALCI'ya katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

Pediyatrik Hematoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Davut ALBAYRAK'a, Hematoloji Laboratuvarı sorumlu Biyoloğu, değerli ablam, Sayın Sevinç Sultansuyu KILINÇARSLAN'a, değerli arkadaşım Kübra BAŞ'a tüm yüksek lisans öğrenimim boyunca gösterdikleri sabır, destek ve iyi niyetlerinden ötürü çok teşekkür ederim.

Ayrıca, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinin sayın idarecileri ve personeline, tez çalışmamı PYO.TIP.1904.10.042 no'lu proje olarak destekleyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Fonu'na çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım süresince desteklerini esirgemeyen ablam Şengül TURAL'a, eniştem Ercan TURAL'a, ömrüm boyunca destek ve dualarıyla bana güç veren biricik Annem'e sonsuz teşekkür ederim...

ÖZET
SIÇANLARDA YÜKSEK YAĞLI DİYETLE OLUŞTURULAN OBEZİTENİN
PERİFERİK SİNİR REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

Esra BEKAR, Yüksek Lisans Tezi

Obezite sıklığı giderek artmakta olan ve insan sağlığını ciddi olarak tehdit eden bir hastalıktır. Obezitenin sinir sistemi üzerine ne gibi etkileri olduğu henüz araştırılmamıştır. Bu çalışmada literatürde karşılaşılmayan bir yönüyle obezitenin periferik sinir sistemi üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Bu amaçla çalışmada 8 haftalık *Sprague dawley* cinsi, 24 adet dişi sıçan kullanıldı (ort. ağırlığı 175±25 gr). Obez, kontrol, obez-hasarlı, kontrol-hasarlı olmak üzere sıçanlar 4 gruba ayrıldı (n=6). Obezite yüksek yağlı diyetle 8. hafta sonunda elde edildi. Kontrol-hasarlı ve Obez-hasarlı gruba 8.hafta sonunda siyatik sinir hasarı oluşturuldu. Hasarlı gruplar 4 haftalık rejenerasyon sürecine bırakıldı. Hasarlı gruplarda hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonrası elektrofizyolojik testler olan sinir ileti hızı ve EMG (elektromiyogram) ölçümleri yapıldı. Ayrıca hasarlı gruplarda fonksiyon testleri olan WRL (ayak geri çekme refleksi) ve SFİ (sinir fonksiyon indeksi) ölçümleri yapıldı. Elektron mikroskopik takibi yapılan siyatik sinir örneklerinden elde edilen yarı-ince kesitlerde bilgisayar destekli stereolojik analiz sistemi (CAST-GRID) kullanılarak akson sayısı, siyatik sinir alanı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı analizleri yapıldı. Işık mikroskopik takipleri de yapılan siyatik sinirlerde Hematoksilen-Eosin boyama ve GAP-43(Growth associated protein) ve TGF-β 3(Tranforming growth factor) antikorları ile immünohistokimyasal boyama yapıldı.

Analizlerden elde edilen bulgulara göre obez ve kontrol grupları arasında akson sayısı, alanı, miyelin kılıf kalınlığı bakımından anlamlı bir fark bulunmadı (Bonferroni Post Hoc Test, ANOVA; $p > 0,05$). Kontrol-hasarlı (KH) ve obez-hasarlı (OH) gruplar arasında akson sayısı ve akson alanı bakımından anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,05$) fakat miyelin kılıf kalınlığı bakımından anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$). Kontrol ve KH grubu arasında akson sayısı, akson alanı, miyelin kılıf kalınlığı bakımından çok anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,01$). Obez ve OH grubu arasında akson sayısı, akson alanı, miyelin kılıf kalınlığı bakımından çok anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,01$). SFİ, WRL, sinir ileti hızı ve EMG testlerinde KH ve OH grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı. ($p > 0,05$). Elektrofizyolojik testlerde, sinir ileti hızı ve sinir amplitüt bulgularında gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$). Ayrıca hem kontrol hem de obez grubunda hasar öncesi ve rejenerasyon sonrası EMG hızı, p-max (Maksimal pozitif yöndeki tepe-taban pik değerleri) arası mesafe ve p-p (Pozitif ve negatif pikler arasındaki mesafe değerleri açısından anlamlı fark belirlendi ($p < 0,05$)).

Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre obezitenin periferik sinir sistemi üzerinde patolojik değişikliklere ve olası bir hasarın ardından gelişecek rejenerasyon sürecinin gecikmesine neden olabileceği söylenebilir.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, Ağustos 2011

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF AFFECT ON THE PERIPHERAL NERVE REGENERATION HIGH-FAT DIET INDUCED OBESITY IN RATS

Esra BEKAR, M.Sc Thesis

Obesity is a serious disease to threat human health and their prevalence is getting increased. It that has not been investigated that how obesity affects nervous system. In the present study we aimed to investigate the effects on the peripheral nervous system which has not been encountered in the literature yet.

For this purpose, 24 female, 8 weeks old *Sprague dawley* rats (150 ± 25 gr) were used in this study. The rats were divided into 4 groups including; obese, control, obese-damaged and control-damaged (n=6). Obesity was obtained as a result of eating high-fat diet for 8 weeks. The control group was fed with a standard pallet feed. Sciatic nerve injury was performed to control-damaged and obese-damaged groups at the end of 8th week. Damaged groups were left off 4-week process of regeneration. At the moment of injury, after injury and after regeneration, nerve conduction velocity and EMG measurements were performed with the electrophysiological tests in the damaged groups. In addition, the WRL (foot withdrawal reflex) and SFI (Nerve function index) function tests were applied in all groups. In the semi-thin sections of the sciatic nerve, the number of axon, mean sciatic nerve and axon area and myelin sheath thickness were analyzed by using computer-assisted stereological analysis system (CAST-GRID). Also the sciatic nerves dyed with hematoxylin-eosin for routine histopathology and GAP-43 and TGF-B antibodies for immunohistochemistry.

According to the findings of our analysis, there were not any significant differences in terms of the area and number of axons and also thickness of the myelin sheath (Bonferroni post hoc test, ANOVA, $p > 0.05$) between the obese and control groups. The numbers of axon was significantly difference ($p < 0.05$) between the control-damaged (CD), and obese-damaged (OD) groups. But no significant difference was detected about the thickness of the myelin sheath ($p > 0.05$). There were significant differences in terms of the number and area of axons and also thickness of the myelin sheath ($p < 0.01$) between the control and CD group. In obese and OD groups, values of the number and area of axons additionally thickness of the myelin sheath were different from each other ($p < 0.01$). In SFI, WRL, nerve conduction velocity and EMG tests, no significant difference was found between CD and OD groups ($p > 0.05$). Moreover nerve conduction velocity and nerve amplitude findings were not statistically significant from each other of the groups ($p > 0.05$) in electrophysiological tests. In addition, it were determined significant difference in terms of pre-injury and post- regeneration EMG rate and also the distance between pp and p-max values in both obese and control group ($p < 0.05$).

According to the findings from this study, we inform that obesity may cause on the pathological changes in the peripheral nervous system and a delay in regeneration then possible injury.

Ondokuz Mayıs University, Samsun, August 2011

SİMGELER VE KISALTMALAR

BDNF	Beyin kökenli sinir büyüme faktörü
BKO	Bel kalça oranı
CE	Hata katsayısı
CMAP	Bileşik kas aksiyon potansiyeli
CAP	Bileşik aksiyon potansiyeli
CNTF	Silyar kökenli sinir büyüme faktörü
DETAM	Deneysel tıp araştırma merkezi
DK	Değişim katsayısı
EIT	Patolojik ayakta 2. ve 4. parmak arası mesafe
EMG	Elektromiyografi
EPL	Patolojik bası uzunluğu
ETS	Patolojik ayakta 1. ve 5. parmak arası mesafe
GAP 43	Büyümeyle ilişkili protein
GDNF	Glia kökenli sinir büyüme faktörü
K	Potasyum
KH	Kontrol-hasarlı
LIF	Lösemi inhibitör faktör
MAG	Miyelinle ilişkili glikoprotein
mV	Milivolt
ms	Milisaniye
µm	Mikrometre
µm²	Mikrometrekare
Na	Sodyum
NGF	Sinir büyüme faktörü
NPL	Normal bası uzunluğu

NT-3-4-5	Nörotropin-3,4,5
NTS	Normal ayakta 1. ve 5. parmak arası mesafe
NIT	Normal ayakta 2. Ve 4. parmak arası mesafe
OH	Obez-Hasarlı
P0	Protein sıfır
PMP22	Periferalmiyelin protein 22
p-max	Maksimal pozitif yöndeki tepe-taban pik değerleri
p-p	Pozitif ve negatif pikler arasındaki mesafe
sn	Saniye
SS	Standart sapma
SFİ	Siyatik sinir fonksiyon indeksi
SRÖ	Sistemik Rastgele Örnekleme
TGF-β1,	Transforming growth factor- β 1
TGF-β2,	Transforming growth factor- β 2
TGF-β3	Transforming growth factor- β 3
TURDEP	Türk diyabet epidemiyoloji çalışması
WRL	Ayak geri çekme refleksi
VKİ	Vücut kitle indeksi
VYO	Vücut yağ oranı

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Obezite nedir.....	3
2.1.1. Obezite değerlendirme yöntemleri.....	5
2.1.1.1. Vücut kitle indeksi.....	5
2.1.1.2. Vücut yağ oranı.....	6
2.1.1.3. Bel/Kalça oranı.....	6
2.1.1.4. Biyoelektrik impedans.....	7
2.1.1.5. Cilt kalınlığı.....	7
2.1.1.6. Dual enerjili X ışını absorpsiyometrisi.....	7
2.1.1.7. Potasyum izotopu.....	7
2.1.1.8. Bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme.....	8
2.1.2. Obezitenin Etiyolojisi.....	8
2.1.2.1. Nöroendokrin nedenler.....	8
2.1.2.2. Leptin.....	8
2.1.2.3. Serotoninerjik sistem.....	9
2.1.2.4. Histaminерjik sistem.....	9
2.1.2.5. Genetik nedenler.....	9
2.1.2.6. Sosyal faktörler.....	9
2.1.2.7. Diğer faktörler.....	10
2.2. Periferik sinir sistemi.....	10
2.2.1. Periferik sinir yaralanmaları.....	14
2.2.1.1. Gerilme tipi yaralanma.....	14
2.2.1.2. Yırtılma tipi yaralanma.....	15
2.2.1.3. Ezilme tipi yaralanma.....	15
2.2.2. Sinir yaralanmalarının sınıflandırılması.....	15
2.2.2.1. Nöropraksi.....	16
2.2.2.2. Aksonotmezis.....	16
2.2.2.3. Nörotmezis.....	16

2.2.3.	Rejenerasyon sırasında perikaryonda meydana gelen değişiklikler.....	18
2.2.4.	Schwann hücreleri.....	18
2.2.5.	Periferik sinir rejenerasyonu.....	19
2.2.6.	Periferik sinirde ileti.....	21
2.2.7.	Nörotrofik faktörler.....	22
2.2.8.	TGF-β3(Transfome Edici Büyüme Faktörü-Beta).....	24
2.2.9.	GAP-43 (Growth Associated Protein).....	24
2.2.10.	Siyatik sinir anatomisi.....	25
2.3.	Stereoloji Nedir.....	25
	MATERYAL METOD	28
3.1.	Fonksiyon Testleri.....	29
3.1.1.	SFİ.....	29
3.1.2.	WRL.....	31
3.2.	Siyatik sinir hasarının oluşturulması ve siyatik sinirin disseksiyonu.....	32
3.3.	Elektrofizyolojik testler	33
3.3.1.	Sinir ileti hızı ölçümü.....	34
3.3.2.	EMG ölçümü.....	35
3.4.	Histolojik çalışmalar.....	37
3.4.1.	Elektronmikroskopik takip protokolü.....	37
3.4.2.	Işık mikroskopik takip protokolü.....	38
3.4.3.	Kesitlerin alınması ve hematoksilin-eozin ile boyanması.....	38
3.4.4.	Kesitlerin rutin histolojik yöntemle değerlendirilmesi.....	39
3.5.	Stereolojik işlemler.....	39
3.5.1.	Bilgisayar destekli stereolojik analiz sistemi.....	39
3.5.2.	Kesitler üzerinde alan örneklemeşi.....	40
3.6.	İmmunohistokimyasal işlemler.....	44
3.6.1.	İmmunreaktivitenin değerlendirilmesi.....	45
3.7.	İstatistiksel değerlendirme.....	46
	BULGULAR	47
4.1.	Oluşturulan obezitenin değerlendirilmesi.....	47
4.1.	Stereolojik bulgular.....	49
4.1.1.	Tüm Gruplardaki Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Akson Sayısı Bulguları	49
4.1.2.	Tüm Gruplardaki Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Akson Alanı Bulguları.	51

4.1.3.	Tüm Gruplardaki Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Miyelin Kılıf Kalınlığı Bulguları.....	53
4.1.4.	Siyatik sinir alanı.....	55
4.2.	Stereolojik analizlerin istatistiksel açıdan yorumlanması.....	56
4.3.	Fonksiyonel değerlendirme bulguları.....	57
4.3.1.	SFİ bulguları.....	57
4.3.2.	WRL bulguları.....	62
4.4.	Elektrofizyolojik değerlendirme bulguları.....	64
4.4.1.	EMG	64
4.4.2.	Pozitif ve negatif pikler arası mesafe değerleri.....	67
4.4.3.	Maksimum pozitif pik değerleri.....	69
4.4.4.	Sinir ileti hızı bulguları.....	70
4.5.	Histolojik bulgular.....	76
4.6.	İmünohistokimyasal bulgular.....	86
4.6.1.	GAP-43 antikoru ile elde edilen stereolojik ve histolojik bulgular.....	86
4.6.2.	TGF-β3 antikoru ile elde edilen stereolojik ve histolojik bulgular.....	89
	TARTIŞMA	92
	SONUÇVE ÖNERİLER	102
	KAYNAKLAR	107
	EKLER	118
	ÖZGEÇMİŞ	119

GİRİŞ

Yaşam boyunca bedensel ve zihinsel yönden sağlıklı olma, sağlıklı kalma, dengeli ve yeterli beslenme sonucu mümkün olmaktadır (Uzun, 2011). Obezite besinlerle alınan enerji miktarının metabolizma ve fiziksel aktivite ile tüketilen enerji miktarından daha fazla olduğu durumlarda ortaya çıkan ve vücutta fazla miktarda yağ birikmesiyle oluşan, tedavi edilmesi gereken ciddi bir hastalıktır (Altunkaynak ve Özbek, 2006). Enerji alınması ve harcanması arasındaki dengenin bozulmasından kaynaklanan ihtiyaç fazlası kalorinin organizmada depolanmasının sonucu meydana gelen obezitenin etiolojisinde daha çok yüksek kalorili diyet ve hareket azlığı gibi faktörler rol oynamaktadır (Uzun, 2011). Başta kardiyovasküler sistem olmak üzere tip 2 diabetes mellitus, hipertansiyon, hiperlipidemi, insülin rezistansı, inme, uyku apnesi, safra kesesi taşı, hiperürisemi, gut, osteoartrit ile erkeklerde kolon, rektum, prostat, kadınlarda endometriyum, meme ve safra kesesi kanseri gibi bazı kanser tipleri gibi morbidite ve mortalitesi yüksek sağlık sorunlarına yol açmaktadır (Annagür, 2010; Kalan ve Yeşil, 2010). Prevalansı giderek artmakta olan obezitenin birçok sağlık sorununa yol açtığı açıkça görülmektedir (Annagür, 2010). Obezite günümüzde gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin en önemli sağlık sorunları arasında yer almaktadır (Tubitak, 2007).

Periferik sinirler, omurilik ön boynuzundaki motor nöronların, dorsal ganglionlardaki duyuşal nöronların ve sempatik ganglionlardaki sempatik nöronların destek bağ doku ile çevrili aksonal uzantılarından oluşan ve sonlandıkları hedef organa göre motor, duyu ya da otonomik fonksiyonları olan yapılardır (Shenag ve Kim, 2006). Periferik sinir yaralanmaları günlük hayatta karşılaşılabileceğimiz, sinirde gerilme, ezilme ve kesilme gibi sebeplerden ötürü meydana gelmektedir. Periferik sinir yaralanması sonucu oluşan klinik tablo kişilerin günlük yaşamını etkilemekte ve önemli ölçüde iş-güç kaybına neden olmaktadır (Ertaş, 2004; Akbay, 2005; Benli, 2005; Aydoğ, 2005; Okutan, 2008).

Obezite de sinir sistemi ile yapılan çalışmalarda, obezitenin periferik nöropatiye neden olabileceği, merkezi sinir sistemi aktivitesini düşürdüğü, yüksek yağlı diyetle beslenerek obez ve prediyabet oluşturulan farelerde nöropati oluştuğu gözlenmiştir (Çolak ve ark., 1997; Okutan, 2001; Miscio ve ark., 2005).

Gebelikte obezitenin, fetüs üzerinde konjenital merkezi sinir sistemi defektleri ile ilişkisi değerlendirilmiştir (Watkins ve ark., 2003). Maternal obezitenin neden olduğu sinir sistemi defektlerinde spina bifida, anensefali, hidrosefali, holopronsefali, nöral tüp defekti yer almaktadır (Watkins ve ark., 2003).

Periferik sinire yönelik travmatik bir olay sonrası TGF- β 1 düzeyi aşırı ölçüde artış göstermekte ve rejenerasyon gösteren sinir uçlarının distal segmente ulaşmasına dek yüksek düzeylerde kalmaktadır (Rufer ve ark., 1994). Sıçanlarda, travmatik siyatik sinir hasarı sonrası gelişen rejenerasyon esnasında sütür hattının proksimal ve distalinde mevcut olan Schwann hücreleri tarafından TGF- β oluşumunun indüklendiği düşünülmektedir (Einheber ve ark., 1995). Yapılan çalışmalarda, TGF- β 'nın Schwann hücre proliferasyonunda rol oynadığı ileri sürülmüştür (Guenard ve ark., 1995; Stark ve ark., 2001). Rejenerasyonda akson gelişirken büyüme konisi yakınında, membranda GAP 43 fosfoproteini üretimi artmaktadır ve büyüme bölgesinin ilerlemesinde rol almaktadırlar (Faweett ve Keynes, 1990; Shen ve ark., 2002). Çalışmamızda obezitenin bu büyüme faktörlerinin düzeylerini ne derece etkilediği incelendi.

Obezitenin periferik sinir sistemi üzerinde de olumsuz etkileri olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte obezitenin periferik sinir sistemi üzerine olan etkisi yada periferik sinir rejenerasyonu sürecinde obezitenin fizyolojik sinir iletimini de ne derece etkilediği henüz bilinmemektedir.

Bu çalışmanın amacı yüksek yağ içerikli diyet uygulamasıyla bir obezite modeli oluşturmak ve bu uygulamanın vücuttaki en büyük ve tek parçalı periferik sinir olan siyatik sinir üzerindeki olası etkilerini stereolojik, elektrofizyolojik, fonksiyonel, histopatolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle incelemektir.

GENEL BİLGİLER

2.1.OBEZİTE NEDİR?

Besinlerle alınan enerji miktarının metabolizma ve fiziksel aktivite ile tüketilen enerji miktarından daha fazla olduğu durumlarda ortaya çıkan ve vücut yağ kitlesindeki artışla oluşan, tedavi edilmesi gereken ciddi kronik bir hastalıktır (Altunkaynak ve Özbek, 2006). Obezite son 20 yılda çoğu ülkede giderek artış göstermektedir (Annagür, 2010).

Obezite başlıca, tip 2 diabetes mellitus, hipertansiyon, hiperlipidemi, kardiyovasküler hastalıklar, insülin rezistansı, inme, uyku apnesi, safra kesesi taşı, hiperürisemi, gut, osteoartrit ile erkeklerde kolon, rektum, prostat, kadınlarda endometriyum, meme ve safra kesesi kanseri gibi bazı kanser tipleri gibi morbidite ve mortalitesi yüksek birçok sağlık sorunlarına yol açmaktadır (Annagür, 2010; Kalan ve Yeşil, 2010; Tablo 1). Etiyolojisinde genetik, bazal metabolik hız, kalori alımı, yağ hücreleri, yeme alışkanlıkları, çevresel faktörler ve fiziksel aktivitenin rolü vardır (Styne, 2001).

Son yıllarda gelişmiş ülkelerde beslenme, yaşam biçiminin değişimi ve artan ekonomik refah düzeyi nedeniyle obezite sıklığında bir artış mevcuttur. Bizim gibi gelişmekte olan ülkelerde de obezite sıklığının yüksek olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Obezitenin sıklığındaki artış; ilgili sorunları da beraberinde getirdiğinden önem taşımaktadır (Gülcan, 2006). Avrupa’da obezite prevalansı WHO MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Diseases) çalışmasına göre kadınlarda %22, erkeklerde %15 olarak bildirilmiştir (Molarius, 1999). Türkiye’de de tüm dünyada olduğu gibi obezite prevalansı giderek artmaktadır, özellikle kadınlarda oldukça yüksek oranlardadır. 1999 yılında Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, DETAM (Türk Diyabet Vakfı) ve Sağlık Bakanlığının gerçekleştirdiği 24.788 kişinin tarandığı TURDEP (Deneysel Tıp Araştırma Merkezi) çalışmasında kadınlarda %30, erkeklerde %13, genelde ise %22.3 oranında obezite prevalansı tespit edilmiştir (Satman ve ark., 2002). TEKHARF çalışmasında ise 2000 yılında obezite prevalansı %21.9, kadınlarda %43, erkeklerde %21.1 olarak saptanmıştır (Kalan ve Yeşil, 2010).

Türkiye’de kadınlardaki obezite prevalansı dünya ortalamalarına göre çok daha yüksek bulunmuştur, yüksek doğum sayısının ve düşük eğitim düzeyinin kadınlardaki obezite ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır (Sansoy, 2003).

Tablo 1: Obezitenin yol açtığı sağlık sorunları (Kalan ve Yeşil, 2010).

Obezitenin Yol Açtığı Sağlık Sorunları
1. Metabolik-Hormonal Komplikasyonlar <ul style="list-style-type: none">• Metabolik sendrom• Tip 2 diyabet• İnsülin direnci, hiperinsülinemi• Dislipidemi
2. Kardiyovasküler Sistem Hastalıkları <ul style="list-style-type: none">• Serebrovasküler hastalık• Konjestif kalp yetersizliği• Koroner kalp hastalığı• Tromboembolik hastalık
3. Solunum Sistemi Hastalıkları <ul style="list-style-type: none">• Obezite-hipoventilasyon sendromu• Uyku apne
4. Sindirim Sistemi Hastalıkları <ul style="list-style-type: none">• Safra kesesi hastalığı• Karaciğer hastalığı• Gastroözofajiyal reflü hastalığı
5. Polikistik Over Sendrom
6. İmmün Sistem Disfonksiyonu
7. Cilt Hastalıkları
8. Cerrahi Komplikasyonlar
9. Kanser <ul style="list-style-type: none">• Meme• Kolon• Dişi üreme: serviks, endometrium, over• Safra kesesi• Prostat
10. Obezitenin Mekanik Komplikasyonları <ul style="list-style-type: none">• Osteoartrit• Artmış karın içi basıncı, herni
11. Psiko-Sosyal Komplikasyonlar

2.1.1. Obezite Değerlendirme Yöntemleri

Obezite, alınan kalori ile harcanan kalori arasındaki dengesizlik sonucu vücuttaki yağ doku oranının yağsız doku oranına göre fazla olduğu, tedavi edilmesi gereken ciddi kronik bir hastalıktır. Vücutta yağ dokusundaki artışla meydana gelen bir durumdur. Erkeklerde vücut ağırlığının %15-18'ini, bayanlarda %20-25'ini yağ doku oluşturur. Yağ dokunun total vücut ağırlığına oranının, erkeklerde %25, kızlarda %30'un üzerine çıkması şişmanlığı oluşturur (Tüzün, 1999). Obezite ölçümünde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Tablo 2).

Tablo 2. Obezite ölçüm yöntemleri

Obezite Ölçüm Yöntemleri
1. Vücut kitle indeksi
2. Vücut yağ oranı
3. Bel-kalça oranı
4. Deri kalınlıkları ölçümü
5. Dual enerji x-ray absorpsiyometri
6. Biyoelektrik empedans
7. Potasyum izotopu
8. Bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme

2.1.1.1.Vücut Kitle İndeksi (VKİ)

Obezite için en yaygın kullanılan ölçüm, Vücut Kitle indeksidir. VKİ, vücut ağırlığının (kg), boyun karesine (m²) bölünmesi ile hesaplanır. Bu değer yaş ve cinsiyetten bağımsızdır. Bununla beraber VKİ, çocuklarda, hamile kadınlarda ve çok adaleli kişilerde kullanılmamalıdır. Dünya sağlık örgütü (WHO) vücut kitle indeksine göre obeziteyi tanımlamış ve şu şekilde bir sınıflandırma yapmıştır (WHO, 1995; Tablo 3).

Tablo 3. Vücut kitle indeksine göre WHO'nun yaptığı obezite sınıflandırılması

WHO Sınıflandırması	VKI
Zayıf	VKI<18.5kg/m ²
Normal	18.5<VKI<24.9kg/m ²
Aşırı Kilo	25<VKI<29.9kg/m ²
Obez-Class I	30<VKI<34.9kg/m ²
Obez-Class II	35<VKI<39.9kg/m ²
Obez-Class III	VKI≥40kg/m ²

2.1.1.2. Vücut Yağ Oranı (VYO)

Obezite genel inanın aksine fazla kilolu olmak değil vücuttaki yağ oranının normalden fazla olmasıdır (Ersoy ve Çakır, 2007). Kilo artışı da bu yağ doku artışının fiziksel görüntüye etkisidir. VYO; vücut kitlesi, yaş ve cinsiyet değişkenleri üzerine geliştirilen bir formül ile yaklaşık olarak belirlenebilir (Duerenberg ve ark., 1991).

$$\text{VYO} = 1,2 (\text{Vücut Kitle İndeksi}) + 0,23 (\text{Yaş}) - 10,8 (\text{Kadın için } 0/\text{Erkek için } 1) - 5,4$$

Obezite tanısı için VYO' nın ortalama olarak erkekte %25, kadında ise %35'in üzerinde olması gerekmektedir (Duerenberg ve ark., 1991).

2.1.1.3. Bel/Kalça Oranı (BKO)

Vücut yağ dokusunun miktarı gibi dağılımı da önem taşımaktadır. Yağın abdominal bölgede ve iç organlarda toplanması Tip 2 DM, hipertansiyon, dislipidemi, koroner arter hastalığı ile de yakın ilişkili olan insülin direncine yol açmaktadır (Ersoy ve Çakır, 2007). Bu nedenle obeziteye bağlı riskin değerlendirmesinde Bel/Kalça Oranı önem taşımaktadır. Erkeklerde 0.95, kadınlarda 0.8 üzerindeki değerler abdominal obezite göstergesidir (Ersoy ve Çakır, 2007). Erkeklerde 102 cm, kadınlarda 88 cm üzerindeki bel çevresi ölçümleri metabolik sendrom için yüksek risk göstergesidir (Klein ve ark., 2007).

2.1.1.4. Biyoelektrik İmpedans

Elektrolit içeren vücut sıvılarının akımı ileteceği temeline dayanan bir sistemdir. Dokudan geçirilen düşük voltajlı elektrik akımı ile dokulardaki kitlesi ile ters orantılı olan impedans ölçülür (Ersoy ve Çakır, 2007). Bu yöntem vücut yağ kitlesini ölçmekte, bölgesel yağ birikimi konusunda bilgi vermemektedir (Jebb, 2000).

2.1.1.5. Cilt Kalınlığı

Deri kıvrım kalınlığı ölçümü belli bölgelerdeki deri kıvrımlarının ölçülmesi ve bunun vücut yağ depoları tayininde kullanımı esasına dayanır. Deri kıvrım kalınlığının standart basınç uygulayan kaliperler (çap pergel) kullanılarak ölçümüdür. Bu ölçüm triseps, biceps, subskapular ve suprailiyak bölgelerde cilt altı yağ dokusu hakkında bilgi verir, ancak aynı ölçümü yapan kişilerin verileri arasında farklılıklar bulunabilmektedir. (Ersoy ve Çakır, 2007). En çok kullanılan bölgeler olarak, triseps bölgesinden yapılan ölçümlerde erkeklerde 19 mm üzeri, kadınlarda 30 mm üzeri değerler, subskapular bölgede erkeklerde 22 mm üstü, kadınlarda 27 mm üstü değerler obezite göstergesidir (Jebb, 2000).

2.1.1.6. Dual enerjili X ışını absorpsiyometrisi

Bu yöntem vücut yağı ve yağsız vücut kitlesinin ölçümü için kullanılır. Farklı dokuların ışınları farklı absorbe etme güçlerine dayanılarak yapılan ölçümler kemik, kas, yağ kitlesini hesaplamak için kullanılır. Pahalı olması, standardizasyonun güçlüğü ve 150 kg üzeri olan kişilerde kullanılamaması yöntemin dezavantajlarıdır (Ersoy ve Çakır, 2007).

2.1.1.7. Potasyum İzotopu

Vücut hücre kitlesini değerlendiren bir yöntemdir. Potasyumun %95'ten fazlası intrasellüler olduğundan potasyum izotopu ile alınan ölçümler vücut hücre kitlesi için bir indeks oluşturmaktadır. Yağ dokusu hakkında dolaylı bilgi vermesi avantajdır, fakat pahalı ve güç uygulanabilir bir yöntemdir (Jebb, 2000; Ersoy ve Çakır, 2007).

2.1.1.8. Bilgisayarlı Tomografi ve Manyetik Rezonans Görüntüleme

Üç boyutlu ölçüm yaparak vücut yağ kitlesini belirledikleri gibi, yağ dağılımı hakkında da bilgi verirler Maliyetleri oldukça yüksek olan bu yöntemler pratikte kullanılmamaktadır (Jebb, 2000; Ersoy ve Çakır, 2007).

2.1.2. Obezitenin Etiyolojisi

Obezitenin nedeni kesin olarak bilinmemekle birlikte harcanandan daha fazla kalori alınımı olarak açıklanmaktadır (Ersoy ve Çakır 2007). Faktörlerin bireyin kilosunun belirlenmesinde nasıl etki gösterdiği bilinmiyorsa da bu durum rastlantı sonucu olan bir süreç değildir (Ağralı 2005). Obezitenin gelişiminde genetik, çevresel ve psikolojik etmenlerin rolü olduğu düşünülmektedir (Armitagea ve ark., 2008). Psikolojik etmenlerin obezite gelişimindeki rolü kesin olarak kabul edilmemekle birlikte söz konusu etmenlerin obeziteye nasıl yol açtığı ise kesin olarak bilinmemektedir (Ağralı 2005).

2.1.2.1. Nöroendokrin Nedenler

Endokrin nedenler obezite etiyolojileri içinde en az rastlanılan nedenler olmakla birlikte altta yatan bozukluğun tedavisi obezitenin de düzenlenmesine yol açtığı için önem taşımaktadır (Ersoy ve Çakır 2007).

2.1.2.2. Leptin

Leptin, vücudun yağ durumu ile ilgili uyarı vermesi ile ilişkilidir. Adipositler tarafından salınarak işlev görürler. Leptin konsantrasyonları, hipotalamustaki nöron gruplarınca algılanır. Açlık süresince, leptin seviyeleri düşer ve böylece besin olmadığında davranışsal, hormonal ve metabolik cevabı aktive eder. Kilo alımı plazma leptin konsantrasyonunu artırır ve farklı bir tepki ortaya çıkarır, bu da negatif bir enerji dengesine yol açar. Bu durum, besin alımında azalma ve enerji harcanmasında artışla karakterizedir. Artan ve azalan leptin seviyelerine, benzer ya da farklı nöronların mı yanıt verdiği henüz bilinmemektedir (Gülle, 2002). Leptin beslenme davranışını düzenleyen ve enerji dengesinin kontrolü için kısa ve uzun dönem sistemin bir komponenti olarak görülmektedir.

Besin alımını kantitatif olarak düzenleyen faktörlerden olan uzun süreli regülasyon (enerji regülasyonu); başlıca vücuttaki enerji depolarının normal miktarının uzun süreli korunması ile ilgilidir.

Kısa süreli regülasyon (beslenme regülasyonu) ise başlıca öğünlerde aşırı yemeyi önlemekle ilgilidir (Erarslan ve ark., 2006).

2.1.2.3. Serotonerjik Sistem

Serotonerjik sistem yeme davranışı ve vücut ağırlığının düzenlenmesin de etkindir. Ayrıca leptin salgılanmasının düzenlenmesin de serotoninin (5-HT) rol oynadığı yolunda veriler bulunmaktadır (Erarslan ve ark., 2006). Özellikle 5-HT_{2c} serotonin reseptörü yemenin düzenlenmesinde önemli bir yere sahiptir. 5-HT_{2c} uyarılması ile sıçanlarda beslenme azalırken, antagonist maddelerle artmaktadır. 5-HT_{2c} reseptörü olmayan fareler daha çok yemektedir (şişmanlamaktadır) ve geç başlangıçlı diabetes mellitus'a daha fazla yakalanmaktadır (Erarslan ve ark., 2006).

2.1.2.4. Histaminerjik Sistem

Hipotalamik histamin, H₁ reseptör (alt tip reseptör) üzerinden leptine bağlı yeme davranışını düzenlemektedir (Erarslan ve ark., 2006).

2.1.2.5. Genetik Nedenler

Bazı genler ve kromozomal anormallikler obezite gelişmesinde primer faktörken, çevresel faktörlerin bazıları genleri etkileyerek obeziteye neden olabilir (Ersoy ve ark. 2007). Yapılan değişik çalışmalarda obezitenin % 20-80 oranında genetik nedenlerle ortaya çıktığı gösterilmiştir. Birçok genin obezite ile birlikteliği görülmüş ve obezitenin poligenik olduğu sonucuna varılmıştır. Nadir olarak tek gen mutasyonuna bağlı obezite saptanmıştır (Ersoy ve ark., 2007).

2.1.2.6. Sosyal Faktörler

Sosyal faktörler, obeziteye neden olan faktörler içinde özellikle kadınlar açısından önemli bir yer tutmaktadır (Gülle 2002).. Kadınlar arasında obezite, daha alt düzey sosyoekonomik grupta daha fazla karşımıza çıkmaktadır. Erkekler açısından bakılırsa bu fark belirgin değildir.

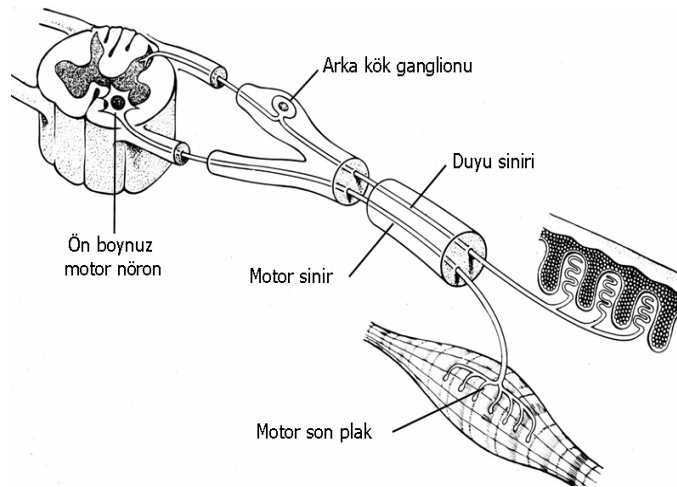
Diğer sosyal faktörler de (etnik, dini, vb.) obezite ile yakından ilgilidir. Fakat bu konuda elimizde yeterince çalışma bulunmamaktadır. Sosyal faktörler açısından birden çok ve kompleks mekanizmaların etkili olduğu düşünülse de yaşam tarzı en önemli yeri tutmaktadır (Gülle 2002).

2.1.2.7. Diğer Faktörler

Bazı ilaçlar özellikle psikoaktif ilaçlar ve bazı hormon preparatları kilo aldırırlar. Bu ilaçlar içinde; antipsikotikler (fenotiazin grubu ilaçlar ve butirofenonlar), antidepresanlar (trisiklik antidepresanlar, lityum), antiepileptikler, glukokortikoidler, adrenerjik reseptör antagonistleri, serotonin antagonistleri ve antidiyabetikler (sulfonilüreler, glitazonlar, insülin) sayılabilir (Ersoy ve ark., 2007).

2.2. PERİFERİK SINİR SİSTEMİ

Periferik sinir sistemi, merkezi sinir sistemi ile organlar arasında iletimi sağlayan böylece motor, duyu ve otonomik fonksiyonların düzenlenmesinde görev alan bir sistemdir. Üç tip periferik sinir bulunmaktadır, bunlar; motor, duyu ve otonom sinirlerdir. Motor sinirlerin hücre gövdeleri medulla spinalis ön boynuzunda, duyu sinirlerinin hücre gövdeleri ise arka kök gangliyonu içerisindedir. Duyusal ve motor lifler içeren periferik sinirler, dorsal ve ventral spinal köklerin birleşmesiyle oluşur (Şekil 1). Otonom sinir sistemine ait nöronlar merkezi sinir sistemi içinde ve dışında bulunan, nükleus ve ganglionlarda toplanmış şekildedir (Shenaq ve Kim, 2006).



Şekil 1: Periferik sinirlerin hücre gövdelerinin yerleşimi.

Periferik sinir sistemini oluşturan sinir hücresi, perikaryon denilen bir gövde ile akson ve dendrit adı verilen uzantılardan oluşur (Ertaş, 2004; Benli, 2005). Perikaryon, temel fonksiyonel ünite olan sinir liflerinin beslenmesini, korunmasını ve devamlılığını sağlar. Perikaryonun sitoplazmasında, iyonların taşınmasında rol oynayan ve aynı zamanda nöron hücre şeklinin korunmasında ve desteklenmesinde etkisi olan nörofibriller, Nissl cisimcikleri, lipofuksin, melanin, demir içeren granüller bulunur (Snell, 1992). Granüllü endoplazmik retikulum sinir hücresi içerisinde Nissl cisimciği olarak gözlenir ve protein sentezinden sorumludur. Sitoplazma içerisinde bulunan diğer önemli bir yapı da, dendrit ve aksonların sonlarına kadar uzanarak nörotübül ve nörofilamentlerden oluşan nörofibrillerdir. Bunlar metabolitlerin taşınmasında, hücre şeklinin korunması ve desteklenmesinde görev alan yapılardır. Nörotübüller sayesinde proteinler, enzimler ve besleyici faktörler iletilerek, hem son plağın beslenmesi hem de perikaryondan son plağa bilgi taşınması sağlanmış olur (Bullock ve ark., 1994).

Dendritler, çevreden gelen uyarıların hücre gövdesine iletilmesinden ve nöronlar arasındaki bağlantının sağlanmasından sorumlu iken aksonların öncelikli görevi sinirsel uyarıyı periferdeki kas dokusuna aksiyon potansiyeli olarak taşımaktır. Akson boyunca süreklilik gösteren plazma membranı “aksolemma” olarak isimlendirilmektedir. Hücre sitoplazmasının akson içerisindeki eşdeğeri ise “aksoplazma” adını almıştır. Aksoplazma, akson içerisinde bulunan çeşitli proteinler, hücre iskeletini oluşturan mikrotübüller ve nörofilamanları içeren ara maddeden oluşmaktadır (Snell, 1990).

Periferik sinir sisteminin uydu hücreleri olan Schwann hücreleri akson çevresindeki alanda iyon dengesinin sağlanmasına, nörotransmitterlerin dağılımına ve aksolemma boyunca sodyum kanallarının yerleşimine katkıda bulunan hücrelerdir. Schwann hücreleri, aynı zamanda akson çevresinde konsantrik karakterde proteofosfolipid bir tabaka olan miyelin kılıfını hazırlarlar. (Dahlin, 2004). Bir sinir ezildiği yada kesildiği zaman meydana gelen dejenerasyon, aksonun distalinde başlar ve bu dejenerasyon akson kılıfının fagositozu, Schwann hücre proliferasyonunu içerir. Bu, Schwann hücresi ve aksonun ortak reaksiyonudur. Meydana gelen metabolik veya kimyasal hasar Schwann hücresini etkiler ve bunun sonucu demiyelinizasyon gelişir (Berthold ve ark., 1993; Jessen ve Mirsky, 1998) .

Sinir lifleri miyelinli ya da miyelinsiz olabilmesine rağmen, periferik sinir sisteminde her sinir lifinde aksonlar mutlaka uç uca dizilmiş Schwann hücreleri ile sarılmışlardır

(Shenaq ve Kim, 2006). Miyelinli sinirlerde, bir sinir lifi tek bir schwann hücresi tarafından sarılırken, miyelinsiz sinirlerde tek bir schwann hücresi, birçok sinir lifini çevrelemektedir (Kaplan ve ark., 2009).

Miyelinizasyon schwann hücreleri tarafından intrauterin yaşamın 14-16. haftalarında başlar ve doğum sonrası da değişken hızlarda devam etmektedir (Kaplan ve ark., 2009). Miyelin esas olarak merkezi sinir sisteminde oligodendrositlerin, periferik sinir sisteminde ise Schwann hücrelerinin plazma membranlarından oluşmaktadır. Miyelinin yapısı diğer plazma membranlarına benzemekle birlikte, içerik açısından farklıdır. Biyokimyasal olarak % 75 lipit ve % 25 proteinden meydana gelmektedir (Atalay ve Üstün, 2004). Miyelin tabaka içerisinde bulunan lipitlerin % 20-30'unu oluşturan kolesterol bu çok tabakalı yapının durağan şekilde kalmasını sağlamaktadır. Miyelin içeriğindeki diğer lipitler ise glikolipit yapısında olan galaktoserebrosid, sülfatid ve gangliosidlerdir (Garbay ve ark., 2000).

Periferik sinir sistemi miyelininin % 20-30'unu oluşturan proteinler, çoğunlukla glikoprotein yapısındadır. Po, PMP22, MAG, epitelyal kadherin ve periaksin baskın olarak bulunan glikoproteinlerdir (Frostick ve ark., 1998; Garbay ve ark., 2000).

Periferik sinir sistemine ait miyelinli liflerde, akson boyunca dizilim gösteren Schwann hücreleri arasında miyelin kılıfın bulunmadığı 1 µm'lik alanlar mevcuttur. Miyelin kılıf boyunca iletilen impulslar "Ranvier düğümü" adı verilen bu alanlarda bir sıçrama yaparak bir sonraki miyelin kılıfa geçerler (Lawrence, 1995). Ranvier düğümleri; uyarının sıçrayıcı şekilde iletimi ile, çok hızlı taşınmasını sağlar (Terzis ve Smith, 1990; Shenaq ve Kim, 2006). Ayrıca Ranvier düğümleri arası ne kadar uzun ise myelin o kadar kalındır (Samorajski, 1967; Ertekin, 2006).

Bir sinirin myelinli olması aksiyon potansiyelinin iletim hızını arttırmaktadır. Myelin kılıfın kalınlığı da iletim hızını etkiler. Myelinsiz liflerde çap 0.2–1.5 µm ve iletim hızı 0.4–2.0 m/sn (metre/saniye) iken; kalın myelinli sinirlerde çap 12–20 µm ve iletim 72–120 m/sn gibi yüksek hızlardadır (Shenaq ve Kim, 2006). Sinir lifleri iletim hızları ve çaplarına göre 3 gruba ayrılır (Terzis ve Smith, 1990):

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

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

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

Bağ dokusu, enine kesilmiş bir sinirin kesit alanının % 25–85 kadarını oluşturmaktadır ve bu oran sinire ve yer aldığı bölgeye göre değişmektedir. Eklem bölgelerinde bu oranın arttığı bilinmektedir. Periferik sinirler 3 ayrı destek bağ dokusu tabakası ile kuşatılmıştır (Kaplan ve ark., 2009). Her bir sinir lifi, en içte endonörium adı verilen mezoderm kaynaklı bir bağ doku ile çevrelenmektedir. Endonörium, mukopolisakkarit temel madde içerisinde yer alan kollajen ve retiküler lifler, fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri ve kapiller sistemden oluşan bir bağ dokudur, çevrelediği alan içerisindeki bölge sinir işlevleri için uygun bir ortam sağlar (Terzis ve Smith, 1990; Maggi ve ark., 2003). Sinir liflerinin bir araya gelerek oluşturduğu yapıya ise fasikül denilmektedir. Her fasikül mekanik olarak sağlam, yoğun bir tabaka olan perinörium ile sarılmıştır.

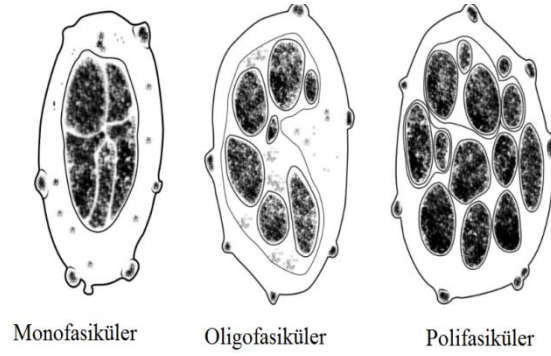
Perinörium, yassı perinöral hücreler tarafından oluşturulmuş olan çok katlı bir tabakadır ve tramvalara karşı bir bariyer görevi görür. Perinörium aynı zamanda kan-sinir bariyerinden sorumlu olan yapıdır (Lundborg, 1987; Özmen, 2002; Kaplan ve ark., 2009). Periferik siniri en dıştan kuşatan bağ doku tabakası ise epinörium adını almaktadır. Epinörium kollajen tip I ve III, elastik lifler, fibroblastlar ve değişen oranlarda yağ dokusundan meydana gelmiştir. Epinöriumun görevi, fasikülleri ekstremitte hareketleri sırasındaki tramvalardan korumaktır. Bu nedenle özellikle eklem bölgelerinde daha kalın bir yapıya sahiptir (Lundborg, 1987; Maggi ve ark., 2003). Epinöriumun kalınlığı sinirin tipi, seviyesi ve bireylere göre farklılık göstermektedir, yüzeysel yada eklemleri geçen sinir kısımlarında bağ doku daha da kalındır, nedeni travmalara karşı koruyuculuğu arttırmaktır (Terzis ve Smith, 1990; Sunderland, 1990; Maggi ve ark., 2003). Toplam sinir kesit alanının % 35-75'i arasında değişen bu kalınlık distale gittikçe azalmaktadır. Fonksiyonel olarak iki tabakadan oluşan epinöriumun derin tabakaları “internal (interfasiküler) epinörium” olarak adlandırılır ve bu tabaka fasiküllerin etrafını tek tek sararak fasikülleri bir arada tutar. “Eksternal (epifasiküler) epinörium” ise daha dışta yer alan ve paranörium olarak da bilinen bağ dokusu yapısında bir kılıftır (Thomas ve ark., 1993). Epinörium içeriye doğru uzanarak epifasiküler epinöryumu meydana getirir (Williams ve ark., 1989; Bullock ve ark., 1994; Ertekin, 2006).

Fasiküler yapılarına göre periferik sinirler üç ana gruba ayrılırlar (Şekil 2) .

1. Monofasiküler periferik sinir; Birçok sinir lifi içeren tek bir fasikül bulunur.

2. Oligofasiküler periferik sinir; Birkaç büyük fasikülden oluşan sinirdir.

3. Polifasiküler periferik sinir: Çok sayıda fasikül mevcuttur. Fasiküller gruplar halinde veya grup oluşturmaksızın bir arada bulunabilirler (Lundborg, 1988).



Şekil 2: Periferik sinirlerin fasiküler yapılarına göre sınıflandırılması

2.2.1. Periferik Sinir Yaralanmaları

Periferik sinir yaralanmaları çeşitli nedenlerle (gerilme, yırtılma, ezilme vb.) oluşabilmektedir. Burada önemli olan travmanın sinirin içyapısında oluşturduğu hasarın derecesidir. Yaralanmayla beraber sinirin distal ve proksimalinde önemli histolojik değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Periferik bir sinirde meydana gelebilecek herhangi bir yaralanma sinir hücresi (sinir lifi) ölümüne yol açmazsa, etkili fonksiyonel bir restorasyonla ya da başarısızlıkla sonuçlanabilecek rejenerasyon süreci başlatılır. Aksonal devamlılığı kesintiye uğratacak derecedeki yaralanmalarda aksonda sinir fonksiyonunun devamlılığı için gereken metabolik olaylar gerçekleşmediği için distal kısımlar dejenerasyona uğrar (Lundborg, 1987; Terzis ve Smith, 1990).

2.2.1.1. Gerilme Tipi Yaralanma

En yaygın görülen yaralanma tipidir (Burnett ve Zager, 2004). Periferik sinirler, endonöryumlarından dolayı elastiktir, fakat sinire uygulanan çekme, sinirin gerilme kapasitesinin üzerine çıkarsa, yaralanma meydana gelebilir ve devamlılık tamamen kaybolabilir. Genellikle yaralanmalarda devamlılığın korunduğu görülmüştür. Sinirin koptuğu durumlarda ise çoğunlukla cerrahi tedavi gerekir (Ertaş, 2004; Benli, 2005; Ertekin, 2006; Daneyemez ve Seçer, 2008).

2.2.1.2. Yırtılma Tipi Yaralanma

Kesici ve delici alet yaralanmaları, ateşli silah yaralanmaları ve ekstremitelerde meydana gelen açık yaralanmalar en sık görülen sebeplerdir. Ciddi yaralanmaların % 30'unu oluşturan yaralanmalardır. Bu tip yaralanmalarda tam bir kesi olabilmesine rağmen, sıklıkla bazı sinir elemanlarının devamlılığı korunabilir (Robinson, 2000; Burnett ve Zager, 2004). Yırtılma tipi yaralanmalar, kolay bir şekilde oluşturulabildiğinden, araştırmalarda yaygın olarak kullanılan bir modeldir. Tam kesi varsa uç uca onarılmalı, tam kesi olmayan yaralanmalarda en az 4 hafta çevre doku iyileşmesi için beklenmelidir.

2.2.1.3. Ezilme Tipi Yaralanma

Yaygın olarak görülen diğer yaralanma türü, ezilme tipi yaralanmalardır. Bu yaralanmada sinirsel elemanların ayrılması veya kopması söz konusu değildir. Ezilme tipi yaralanmalarda, motor ve duyu fonksiyonlarının total kaybı meydana gelebilmektedir ve yapılan çalışmalarda kan sinir bariyerinin bozulduğu, yaklaşık 7. günde aşamalı olarak tekrar düzeldiği gözlenmiştir (Hirakawa, 2003).

Ezilme tipi yaralanmada nöral hasar fazladır. Bu yaralanmalarda hasta önce medikal tedavi ile izlenmelidir. Eğer 3–4 ay sonra beklenen gelişme olmazsa uygun cerrahi planlanmalıdır (Ertaş, 2004; Daneyemez ve Seçer, 2008). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, ezilme tipi yaralanmalarda mekanik deformasyonun etkilerinin daha ön planda olduğunu görüşü ön plana çıkmıştır (Robinson, 2000; Zochodne, 2000; Burnett ve Zager, 2004).

2.2.2. Sinir Yaralanmalarının Sınıflandırılması

Periferik sinir onarım yolunun başarısı ve süresi sinir yaralanmasının derecesine bağlıdır (Stoll ve Müller, 1999; Burnett ve Zager, 2004). Seddon ve Sunderland tarafından geliştirilen sınıflandırma günümüzde yaygın olarak kabul edilmektedir (Fernandez ve ark., 1997; Stoll ve Müller, 1999; Robinson, 2000). Seddon sinir yaralanmalarını şiddetine göre 3 sınıfa ayırmaktadır.

2.2.2.1. Nöropraksi

Sinir devamlılığının kaybolmadığı ancak geçici bir fonksiyonel kaybın olduğu, grup içerisindeki en hafif yaralanma tipidir. Geçici segmental iletim bloğu ile karakterize olup anatomik bütünlük ve aksonal devamlılık korunmuştur (Sunderland, 1990; Brushart, 1999). Miyelin yapısında bazı değişiklikler meydana gelmesine rağmen, oluşan geçici fonksiyon kayıplarının yaralanma bölgesindeki lokal bir iyon-aracılı iletim bloğundan dolayı olduğu düşünülmektedir. Deneysel ve klinik gözlemler nöropraksi gelişiminden birden çok mekanizmanın sorumlu olabileceğini göstermektedir ve demiyelinizasyon bu etkenlerden birisidir. Spontan iyileşir ve iyileşme tam olur, ancak iyileşme zamanı 5 gün ile 3 ay arasında değişir, histolojik olarak sık demiyelinizasyon görülür (Maggi ve ark., 2003). Sinir yapısı ve yaralanma distalindeki kasların uyarılabilirliği korunduğu için dejenerasyon görülmez (Lundborg, 1987).

2.2.2.2. Aksonotmezis

Aksonotmezis durumunda, periferik sinirde bölgesel olarak sadece miyelin kılıf ve akson devamlılığında bir kesilme mevcuttur. Schwann hücrelerinin bazal membranı, endonörium, perinörium ve epinörium sağlamdır. Bu tür bir yaralanma sonrasında şayet hücre ölmez ise, lezyon seviyesinin distal ucunda Wallerian dejenerasyon ve proksimal ucunda aksonal tomurcuklanma görülür (Seckel, 1990). Endonöral doku ve bazal membran, Schwann hücreleri için kılavuz tüp görevi görerek onların yeni kolonlar oluşturacak şekilde prolifer olmalarını sağlar (Seckel, 1990). Bağ doku bütünlüğü korunduğu için aksonun proksimalden distale doğru ilerlemesi kolaydır. Prognoz genellikle iyidir ve fonksiyonların geri dönüşü tamdır. Rejenerasyon günde 1-2 mm hızla olur, iyileşme sürecinde uyarılmayan kaslarda denervasyon atrofi gelişebilir (Terzis ve ark., 1990; Sunderland, 1990; Seckel, 1990; Brushart, 1999;).

2.2.2.3. Nörotmezis

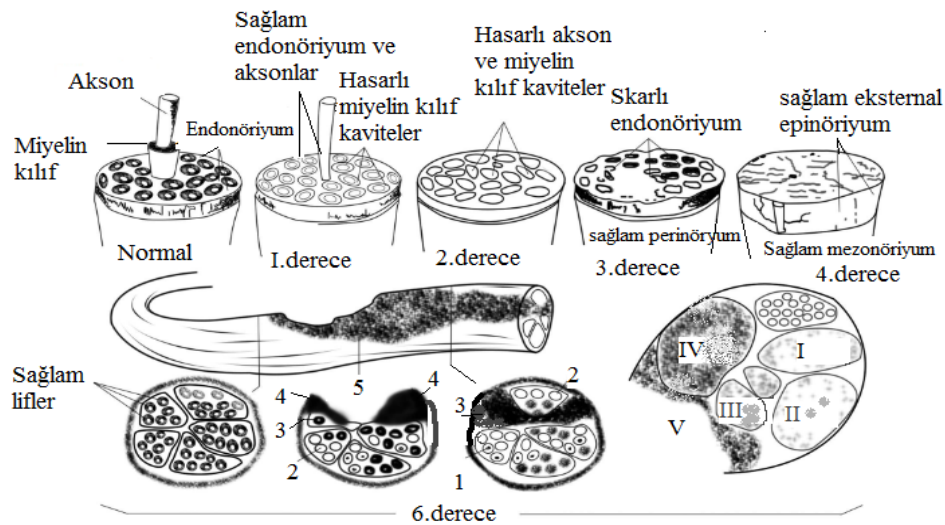
Sinirin bağlantılarının kesildiği ve tam bir fonksiyonel kaybın olduğu yaralanma tipidir. Bu tip yaralanmada aksonda yeniden büyümeyi yönlendirecek yapılar kaybolur ve skar oluşur. Cerrahi girişim yapılmadan genellikle iyileşme meydana gelmemektedir (Fernandez ve ark., 1997). Sunderland, bu sınıflamayı yaralanmanın şiddetine göre beş dereceye ayırmıştır (Ertaş, 2004; Ertekin, 2006; Daneyemez ve Seçer, 2008; Şekil 2).

1.derece; Seddonun nöropraksi tipi yaralanmasına eşdeğerdir, spontan olarak iyileşir (Sunderland, 1990; Maggi, 2003).

2.derece; aksonotmezis tipi yaralanmaya eşdeğerdir. Schwann hücre bazal membranı ve endonöralkılıf sağlam olduğu için prognoz iyidir ve spontan olarak iyileşir (Sunderland, 1990; Maggi, 2003; Dvali, 2006).

3. derece; aksonda kesilme ile meydana gelen, nöropraksi ve aksonotmezis tipi arasında yaralanmadır. Epinörium ve perinörium sağlam, ancak Schwann hücre kılıfı, endonörium ve aksonun devamlılığı bozulmuştur. Endonörium ve Schwann hücre kılıfının hasarlı olması nedeniyle iyileşme tam olmaz. Dördüncü ve 5. derece; nörotomezis'e eşdeğer kabul edilir.

Dördüncü derecede epinörium haricinde sinirin bütün kısımları bozulmaktadır. Spontan iyileşme görülebilmesine rağmen tedavi uygulanmadığında fonksiyonel dönüş nadiren gerçekleşir. Bu nedenle cerrahi onarım gereklidir (Sunderland, 1990; Dvali, 2006). Beşinci derecede sinir tamamen kesintiye uğramaktadır. İyileşme cerrahi girişimle sağlanır (Fernandez ve ark., 1997; Quan ve Bird, 1999; Robinson, 2000; Burnett ve Zager, 2004). Son olarak da Mackinnon bu sınıflandırmaya 6. derece sinir hasarı adı altında bir ekleme yapmıştır (Mackinnon, 1989). Bu tip yaralanmada sinir boyunca değişik seviyelerde ve farklı derecelerde sinir hasarlarının bir arada bulunması söz konusudur (Şekil 3). Özellikle ezici tipte yaralanmalarda ortaya çıkmaktadır.



Şekil 3: Periferik sinir yaralanmalarının sınıflandırılması

2.2.3. Rejenerasyon Sırasında Perikaryonda Meydana Gelen Değişiklikler

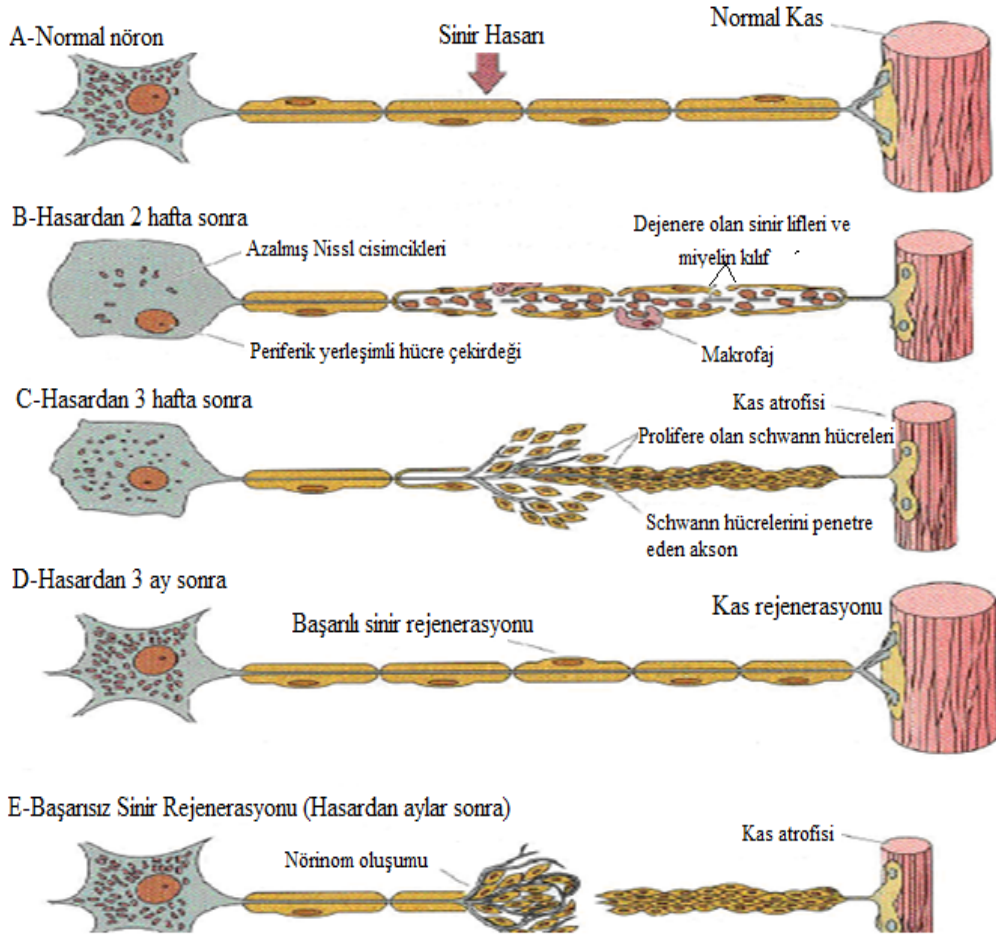
Rejenerasyon esnasında, sinir hücrelerinin perikaryonu ve aksonu arasında son derece önemli fonksiyonel bir ilişki vardır. Fonksiyonel periferik bağlantılar yeniden düzenlenmedikçe, perikaryonda eksiksiz bir iyileşme meydana gelmez. Aksonal çap artışı ile perikaryon iyileşmesi doğru orantılıdır. Akson hasarı sonrası perikaryonda bazı değişiklikler meydana gelir. Bu değişikliklerden biri olan kromatolizde sitoplazmada Nissl cisimciği bozulur, nöroplazmaya dağılır ve bazofili azalır (Stoll ve Müller, 1999; Zochodne, 2000; Stoll ve ark., 2002; Ross ve Pawlina, 2006). Perikaryon hacminde artış görülür ve 6 saat içinde çekirdek perikaryonda perifere çekilir (Şekil 4-B).

2.2.4. Schwann Hücreleri

Schwann hücreleri nöral krestten gelişen, nöral epitelyum kısmından köken alırlar (Kaplan ve ark., 2009). Schwann hücreleri, periferik sinir sisteminde aksonları saran ve akson etrafında miyelin kılıfı yapan destek hücreleridir (Frostick ve ark., 1998; Ross ve Pawlina, 2006; Mirajullah ve Xinya, 2006). Ayrıca periferik sinir gelişiminin erken evrelerinde oldukça düzenleyici görevleri vardır (Kaplan ve ark., 2009).

Schwann hücreleri tarafından üretilen ve temel olarak ekstraselüler matriks proteinlerinden (kollajen tip IV ve laminin) oluşan bir bazal membran sinir lifini çevrelemektedir ve bu yapının rejenerasyon için önemi büyüktür (Dahlin, 2004).

Schwann hücreleri ve makrofajlar, dejenere miyelin kılıf ve akson yıkıntılarını fagosite ederek, yaralanma bölgesini bir haftadan bir aya kadar değişebilen bir süre içerisinde temizlerler (Jones ve ark., 2001; Pagnotta ve ark., 2002; Hirata ve Kawabuchi, 2002; Burnett ve Zager, 2004). Yaklaşık 3. günde Schwann hücreleri önceden akson ve miyelin kılıfla dolmuş olan alanı doldurmak için hızla mitozla bölünür, proliferer olurlar (Şekil 4-C). Rejeneratif Schwann hücreleri aksonal kökten rejenerer olan filizleri kabul etmek için distal segmentte Büngner bandını yapar (Frostick ve ark., 1998; Anselin ve ark., 1998; Zochodne, 2000; Burnett ve Zager, 2004). Schwann hücrelerinin gelişim esnasında, nöronal yaşam için gerekli olduğu ayrıca hasarlı sinirlerde başarılı bir rejenerasyonu ve fonksiyonel geri dönüşü sağladığı bilinmektedir (Kaplan ve ark., 2009).



Şekil 4. Periferik sinir dejenerasyonu ve rejenerasyonu (Gartner ve Hiatt, 2001)

2.2.5. Periferik Sinir Rejenerasyonu

Aksonun proksimal parçasının yaraya yakın bölümü kısa bir mesafede bozunur ancak artıklar makrofajlar ve Schwann hücreleri tarafından temizlenir temizlenmez büyüme başlar. Makrofajlar, Schwann hücrelerini sinir büyümesini kolaylaştırıcı maddeler salgılamaya iten İnterlökin-1'i üretirler. Sinir rejenerasyonu proksimal güdükten dışa büyüme şeklinde olur. Bir gün kadar bir süre sonunda proksimal kesit akson ucu büyüme konisi şeklinde çıkıntı yapar (Şekil 4-C). Büyüme konisi proksimal kesit aksonun ucundaki aksoplazmik büyüme alanıdır. İnternal aktin filamentler ve miyozin içerir, membranı dışa çıkıntı yapan ameboid tarzda kasılan pekçok filopod içerir (Tennyson, 1970; Selzer, 1980; Letourneau, 1981). İleri doğru hareket bununla sağlanır. Filopod tarafından uygun bir tutunacak madde algılandığında yapışma olur.

İleri doğru büyüme; akson ucundan proksimale doğru birkaç segmentlik Ranvier boğumundan ve büyüme konisinden dalların filizlenmesiyle birlikte uç kısmın ilerlemesiyle oluşur (Matson, 1950; Forman ve Berenberg, 1978). 24 saat sonra birkaç filiz yaralanma alanına ulaşır ve gelişen skarın yaralanma alanına penetrasyonu 2. ve 3. gün gerçekleşir. Aksonal filizlenmeye Schwann hücreleri eşlik eder (Spencer, 1977). Membranlar arası geçiş olayıyla internal aktin filamentler kararlı hale gelir ve retraksiyon oluştuğunda büyüme konisi ileri doğru çekilir, akson ve içerikleri tutunmuş filopoda doğru itilir ve akson aynı doğrultuda uzar (Weiss, 1944; Letourneau, 1981). Bir aksondan birçok filopod sinir fibrilinden aşağı doğru bu şekilde gelişebilir ve gelişigüzel dallanabilir veya geriye kendine doğru büyüyebilir.

Hedef organla bir filiz bağlantı kurduğunda diğer filizler dejenere olur ve tek bir akson olgunlaşır (Spencer, 1977). Bu tek akson proksimalden distale Schwann hücreleriyle sarılır ve sadece birkaç aksonun eski endonöral tabakaya girdiği görülür. Rejenere filizler yeni Schwann hücre ara yüzeyi boyunca ilerlerler. Miyelinizasyon ana akson tarafından belirlenir (Cabaud ve ark., 1982). Büyüme yönü ve büyüme konisinin şekli, mekanik faktörlerden etkilenir. Geçilemez bir skar ilerleyen aksonun büyüme yönünde değişikliklere veya dallanmasına sebep olur (Weiss, 1944). Ayrıca büyüme konisinin dokuları delerek geçme yeteneğini arttıran Proteaz salgıladığı yönünde deliller mevcuttur (Krystosek ve Seeds, 1982).

Wallerian Dejenerasyonu sırasında Schwann hücreleri miyelin ve aksonal artıkların yıkımında başrolü oynar ve kalan endonöral bağ dokusu tabakasının bazal laminası içerisinde polifere olurlar (Satinsky ve ark., 1964). Polifere oldukça, Büngner bandı olarak bilinen longitudinal sıra halinde yoğun olarak toplanmaya başlarlar. Bu Schwann hücre sıraları rejenere tomurcukları için önemli bir geçiş yolu oluşturarak rehberlik görevi yaparlar. Akson tomurcuklarını ve ilerleyen rejenere aksonları kabule ve de yeniden miyelinize etmeye artık hazırdırlar (Selzer, 1980; Thomas ve ark., 1984).

Sinir lezyonundan sonra 28-35. günler arasında, aksonal büyüme için uygun potansiyel boşluğu daraltan, ek bir endonöral kollajen tabakası birikimi olur. Aksonun çapı azalır (Thomas, 1964). Birim uzunluk başına düşen Schwann hücre sayısı artar ve rejenere aksonun yeniden miyelinizasyonu sonrasında bu, azalmış internodal uzunluk olarak yansır (Cragg ve Thomas, 1964; Thomas, 1984).

2.2.6. Periferik Sinirde İleti

İstirahat döneminde, sinir lifi polarize durumda ve içi dışına göre negatif olup potansiyel farkı -80 milivolt düzeyindedir (Snell, 1980). Sodyum (Na^+) ve potasyum (K^+) iyonlarının plazma zarından diffüzyonu ile oluşan ve ATP enerjisi kullanan sodyum potasyum pompası aracılığı ile sürdürülen bu duruma istirahat membran potansiyeli adı verilmektedir (Snell, 1980). Bir uyarı uygulanması sonrası, Na^+ iyonları akson içine geçmekte ve aksolemma dışındaki pozitif iyonlar nötralize olmaktadır. Bu durumda membranın dış kısmı içe göre negatif olup potansiyel farkı $+40$ milivolt'tur (Snell 1980).

Yeterli şiddetteki bir uyarı ile aksonun ilk segmentinden başlayan ve aksolemma boyunca ilerleyen negatif elektrik dalgasına aksiyon potansiyeli adı verilmekte olup, sinir impulsları sinir lifi boyunca aksiyon potansiyelinin hareketi sonucu ilerlemektedir (Snell, 1980).

Bir sinir lifinin iletme hızı, aksonun çapı ile ilişkilidir ve kalın lifler küçük çaplı olanlara kıyasla daha hızlı bir iletme sağlar (Snell, 1980). Yine, miyelin kılıfının kalınlığı da iletme hızı üzerine etkili olan diğer bir faktör olup, bir sinir lifindeki iletme hızı; en kalın liflere ait 120 m/sn ile en ince liflerdeki 2 m/sn'nin altındaki değerler arasında değişmektedir (Snell, 1980; Sunderland, 1991). Klinik pratikte, sinir lifinin çapının ve miyelin kılıfı kalınlığının değiştiği travmatik sinir lezyonları gibi değişik patolojilerde de sinir iletme hızında bozukluk ortaya çıkması kaçınılmaz bir sonuçtur.

Sinir rejenerasyonunun değerlendirilmesinde, nöroma oluşumunun histolojik özellikleri yanında sinir aksiyon potansiyeli kayıtlaması ve sinir iletme hızı ölçümleri de değerlidir (Gutmann ve Sanders, 1943). Miyelinli sinir liflerinde, miyelin kılıfı bir yalıtkan işlevi görmektedir olup lif çapı ile iletme hızı arasında doğrusal bir ilişki mevcuttur (Snell, 1980; Sunderland, 1991). Sunderland'a göre, miyelinli sinir liflerinde iletme hızı; yaklaşık olarak, sinir lifinin dış çapı (μm) x 6 'ya eşittir (Sunderland, 1991).

Miyelinsiz sinir liflerinde ise; iletme hızı lif çapının karekökü ile orantılı olup, basit bir ifade ile sinir lifinin çapı (μm) x 2 'dir (Sunderland, 1991).

2.2.7. Nörotrofik Faktörler

Nörotrofik faktörler, nöronların yaşamını devam ettirmesi için ihtiyaç duyduğu bir polipeptid ailesidir (Funakoshi ve ark., 1998; Terenghi, 1999;).

Nörotrofik faktörler akson büyümesinin en önemli uyarıcılarıdır ve travma bölgesinde salınımının yeterli düzeye yükselmemesi yetersiz rejenerasyon nedenlerinden birisidir (Kaptanoğlu, 2008)

3 ana gruba ayrılır;

1. Grup

- a) NGF (Nerve growth factor) (sinir büyüme faktörü)
- b) BDNF (Brain-derived neurotrophic factor) (beyin kökenli sinir büyüme faktörü) (Barde ve ark., 1978)
- c) NT-3 (Ernfors ve ark.;1990)ve NT-4/5 (nörotropin-3,4,5) içeren nörotropinler (Berkemeier ve ark., 1991; Hallbook ve ark., 1991).

2.Grup

- a) CNTF (silyar kökenli sinir büyüme faktörü) (Ciliary neurotrophic factor)
- b) LIF (lösemi inhibitör faktör) içeren nörokinler

3.Grup

- a) TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 (Transforming growth factor),
- b) GDNF (Glial cell-derived neurotrophic factor) (glia kökenli sinir büyüme faktörü) içeren TGF- β ailesidir(Terenghi, 1999)

NGF (Nerve growth factor), ilk ve en iyi bilinen sinir büyüme faktörüdür (Terenghi, 1999) ve orijinal Nörotrofik faktör olarak tanımlanmıştır.

NGF, nöronların yaşamını ve gelişmelerini desteklemesinin yanında, sinir yaralanmalarında Schwann hücrelerinin proliferasyonunu artırır ve aksonal rejenerasyonu hızlandırır (Frostick ve ark., 1998; Terenghi, 1999; Funakoshi ve ark.,

1999; Gordon ve ark., 2003; Gravvanis ve ark., 2004). NGF ayrıca embriyonik dorsal gangliyon nöronlarının, sempatik ve duyu nöronlarının gelişim ve yaşamını destekler (Santos ve ark., 1998; Terenghi, 1999; Pagnotta ve ark., 2002; Lee ve ark., 2003). Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, NGF'nin yetişkin duyu liflerini rejenere ettiği görülmüştür (He ve Chen, 1992; Oudega ve Hagg, 1996;). NGF'nin invitro ve invivo ortamlarda sempatik ve duyu nöronlarında rejenerasyonu arttırdığı tespit edilmiştir (Pagnotta ve ark., 2002; Midha ve ark., 2003; Gravvanis ve ark., 2004).

Sağlam siyatik sinir Schwann hücrelerinde CNTF (Ciliary neurotrophic factor) yüksek yoğunlukta bulunur (Terenghi, 1999; Makwana ve Raivich, 2005). CNTF normal periferik sinirlerde bol miktarda bulunur, başlıca Schwann hücre stoplazmasında yer alırlar (Friedman ve ark., 1992; Rende ve ark., 1992). CNTF'nin duyu ve sempatik nöronlarda sinir büyümesini ilerlettiği ve invitro koşullarda, motor nöronların yaşamını desteklediği ve motor nöronların apopitozunu engellediği gösterilmiştir. Ek olarak, sıçanlarda yapılan çalışmalarda da, CNTF'nin aksotomi sonrası motor nöron ölümünü engellediği, aksotomiden sonra CNTF mRNA düzeylerinin belirgin olarak azaldığı, aksonların rejenere olmasından sonra ise tekrar yükseldiği gözlenmiştir. Böylece CNTF'nin periferik sinir sisteminin akson rejenerasyonuna yardım ettiği kanaatine varılmıştır (Newman, 1996). LIF (Lösemi inhibitör faktör)'in sıçanlarda yapılan çalışmalarda periferik sinir rejenerasyonunu uyardığı gözlenmiştir (Donato ve ark., 1995). In vitro çalışmalarda sempatik nöronlar üzerindeki LIF'in etkisi CNTF'ye çok benzemektedir (Yamamori ve ark., 1989).

Embriyonik sıçan spinal kord motor nöronlarından elde edilen, nörotropin ailesinin diğer bir üyesi olan GDNF (Glial cell-derived neurotrophic factor)'nin aksotomi sonrası motor ve duyu nöronlarında hücre ölümünü azalttığı, ayrıca Schwann hücrelerinde güçlü bir tropik etkiye sahip olduğu bulunmuştur. GDNF'nin, nöronlar ve Schwann hücreleri arası etkileşimde önemli bir role sahip olduğu belirlenmiştir (Terenghi, 1999; Boyd ve Gordon, 2003). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda NGF ve diğer nörotrofik maddelerin periferik sinir rejenerasyonundaki etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır (Gravvanis ve ark., 2004).

2.2.8. TGF- β (Tranforme Edici Büyüme Faktörü-beta)

Son yıllarda, çeşitli hücre tipleri üzerine olan geniş spektrumlu bir biyolojik aktiviteye sahip olmaları nedeniyle özellikle TGF- β türü sitokinler bir hayli önem kazanmıştır.

Yapısal olarak birbirine benzer olan bu ajanlar hücre proliferasyonu ve farklılaşması, matriks oluşumu ve immünoaktivite üzerine önemli etkileri olan çok fonksiyonlu düzenleyici proteinlerdir (Davison ve ark., 1999; Wang ve ark., 2000; Sulaiman ve Gordon, 2002).

Önce, biyolojik olarak inaktif olan öncül bir tip şeklinde salgılanan bu sitokinler daha sonra aktif hale dönüşmekte ve spesifik hücre reseptörlerine bağlanmak suretiyle ilgili hücrelerde biyolojik bir yanıt oluşmasına yol açmaktadır (Wakefield ve ark., 1987; Keski ve ark., 1987). Bu nedenle, sadece immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak belli bir TGF- β tipinin varlığının ortaya konulması biyolojik bir aktivite kanıtı olarak kabul edilmemelidir (Moroco ve ark., 1987). İnsanlarda, üç tip TGF- β mevcuttur: TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3 (Davison ve ark., 1999; Wang ve ark., 2000; Sulaiman ve Gordon, 2002). Her biri farklı bazı biyolojik roller üstlenen bu ajanların etkileri hedef hücre tipine ve hücre çoğalmasının mevcudiyetine göre farklılıklar göstermektedir (Moroco ve ark., 1987; Stark; 2001). Normal siyatik sinir yapısında bulunan Schwann hücrelerinin sitoplazmalarında TGF- β 1 ile TGF- β 3 ve az miktarda TGF- β 2 mevcuttur (Scherer ve ark., 1993; Shah ve ark., 1995). Sıçanlarda, travmatik siyatik sinir hasarı sonrası gelişen rejenerasyon esnasında sütür hattının proksimal ve distalinde mevcut olan Schwann hücreleri tarafından TGF- β oluşumunun indüklendiği düşünülmektedir (Einheber ve ark., 1995). Yapılan çalışmalarda, TGF- β 'nın Schwann hücre proliferasyonunda rol oynadığı ileri sürülmüştür (Guenard ve ark., 1995; Stark ve ark., 2001).

2.2.9. GAP 43 (Growth Associated Proteins)

Aksotomi sonrası nükleusun yeni mRNA ve bu sayede aktin, tubulin gibi hücre iskeleti proteinlerini üretmesi gerekir. Bu durumda üretimi artan GAPs (growth-associated proteins) (büyüme ile ilişkili proteinler) grubudur (Shen ve ark., 2002). Rejenerasyonda aksyon gelişirken büyüme konisi yakınında, membranda GAP 43 fosfoproteini bulunur. Bu proteinin üretimi aksotomi sonrasında yaklaşık 100 katına çıkar. Büyüyen ve

rejenerasyon olan nöral membranın iç yüzeyinde bulunan ve aksonal transportu sağlayan bu fosfoproteinler protein kinaz C'nin substratını oluştururlar ve büyüme bölgesinin ilerlemesinde rol alırlar (Fawcett ve Keynes, 1990)

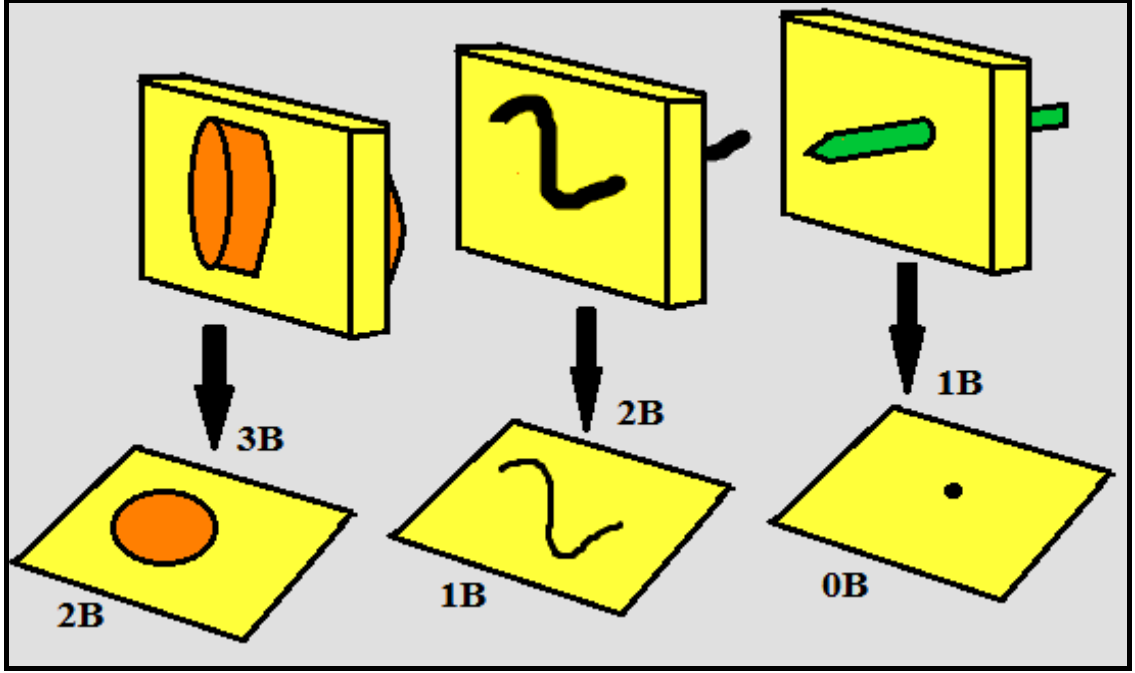
2.2.10. Siyatik Sinir Anatomisi

Lumbosakral trunkustan çıkan siyatik sinir genellikle 4., 5. ve 6. lomber spinal sinirlerin birleşmesiyle oluşur ve en kalın periferik sinirdir. Pelvis minör içinde siyatik sinir adını alarak iskiyum dorsal kenarı ile kuyruk sokumu arasındaki derin olukta ilerler. Siyatik çentikten çıktıktan sonra piriform kasın ventralinde seyrederek ve uyluk arkasına ilerler. Sırt derisinin yarıya yakın kısmını ve arka bacak kaslarının çoğunu innerve eder. İlk önce biceps femoris, semitendinöz ve semimembranöz kaslarını innerve eden ince bir motor dal verir. Daha sonra diz eklemine yaklaşık yarım santimetre proksimalinde tibial, peroneal (fibular) ve bunlardan hemen önce sural olarak 3 dala ayrılır. Peroneal sinir tibialis anterior ve ekstensör digitorum longus kaslarını innerve ederken, tibial sinir plantar fleksörleri, ayak parmak fleksörlerini ve tibialis posterior kasını innerve eder (Bayramiçli, 2005).

2.3. STEREOLOJİ NEDİR?

Stereoloji, üç boyutlu bir yapının, iki boyutlu kesitinden elde edilen bilgilerle, gerçekteki üç boyutlu özelliğine ulaşmamızı sağlayan bir yöntemdir. Biyolojik yapıların iki boyutlu kesitlerinde incelenecek yapıların izdüşümlerinin incelenmesiyle yapılan yorumlarda yanılgılar olabilir. Birincisi boyut azalması sorunudur (Şekil 5).

İki boyutlu kesit düzlemleri ile örneklenen “n” boyutlu bir yapı, kesitte “n-1” kadar boyuta sahip bir izdüşümü ile temsil edilecektir. Bu durum kesitlerden faydalanılarak yapılan morfometrik çalışmaların, uygun metotlar kullanılmadan ne kadar yanıltıcı olabileceğini göstermeye yeterlidir.



Şekil 5: Üç boyutlu yapıların kesit alınmasına bağlı boyut azalmasını göstermektedir

Eğer bu ve buna benzer hata kaynakları göz ardı edilir veya dikkate alınmazsa, sistematik bir biçimde gerçek değerden sapmalar görülecektir. Böyle bir yaklaşımda, kesin olarak yanlış sonuçlar elde edilebileceğini söylemek mümkün değilse de, şansa bağlı gerçek sonuçların elde edilmesi durumunda dahi, hataların etkileri gizli ve belirlenemez olduğu için, sonuçların ne derece gerçeği yansıttığı belirlenemeyeceğinden, bu tip bir çalışmanın güvenilirliğinden de bahsedilemez.

Bu durum hız göstergesi bozuk bir arabayla yol almaya benzetilebilir.

Stereolojide, bu gibi hata kaynaklarından etkilenmesi muhtemel olan yöntemler taraflı (biased) metodlar olarak isimlendirilmektedir. Dolayısıyla taraflı: "gerçek değerden sistematik sapma gösteren" anlamını katmaktadır. Stereolojik metodlar ise, tarafsız (unbiased) metodlardır. Böylece stereolojik metodlar kurallarına uygun bir biçimde uygulandığında, sistematik sapmadan bağımsız sonuçlar elde edilmesini ve örnekleme sayısı arttırıldıkça gerçek değere daha fazla yaklaşmaya olanak sağlar. Bilimsel araştırmalarda bir diğer önemli husus ise etkinliktir. Yani kısa sürede daha az değişkenlik gösteren sonuçlara ulaşılmasıdır.

Stereolojik metodların temelini "Sistematik Rastgele Örnekleme" (SRÖ) prensibi oluşturmaktadır.

Bu örnekleme çeşidinin temel özelliği, araştırılacak yapıdan örnekler alınmasının gerekli olduğu durumlarda, alınan örneğin yapının bütünü hakkında güvenilir bilgiler verilebilmesidir. Biyolojik materyaller kapsadıkları ve inceleme konusu olan hücre, çekirdek, vezikül vb. gibi yapılardan yapıca büyük oldukları için, materyalden elde edilen tüm kesitlerin incelemeye dahil edilerek incelenmesi çok zor olacaktır. Örneğin bir insan neokorteksindenki toplam nöron sayısını öğrenmeye yönelik bir çalışma için, örneklenecek beyinlerden on binlerce histolojik kesit alınması ve bu hücrelerin tek tek değerlendirmeye alınması hemen hemen mümkün değildir. Bu gibi durumlarda yapıların en iyi şekilde örneklenebilmesi ve bu örneklerinde yapının tamamını temsil etmesi gerekmektedir. Stereolojik metotların birçoğu SRÖ mantığına dayanmaktadır. Bunlar arasında tanecik sayımı, alan hesaplamaları, alan ve hacim oranları gibi yöntemler verilebilir.

Periferik sinir sistemi içerdiği sinir ve ganglionlarla vücut ve beyin arasındaki ilişkinin sağlanmasında önemlidir. Obezite ise ölümcül komplikasyonları olan ciddi bir hastalıktır. Günümüze değin obezitenin periferik sinir sistemi üzerine etkileri hakkında herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada literatürde eksik olduğu görülen bu konunun sıçan modelinden elde edilen ve vücuttaki en geniş ve tek parçalı periferik sinir olan siyatik sinir üzerinde stereolojik, immünohistokimyasal ve mikroskopik yöntemlerle incelenmesi amaçlandı.

MATERYAL VE METOD

Çalışmamız için “Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Araştırma Merkezi Etik Kurulundan” izin alındı ve deneyler süresince Etik Kurul şartlarının sağlanmasına özen gösterildi. Çalışmada ağırlıkları ortalama 175 ± 25 gr arasında değişmekte olan 24 adet dişi Spraque Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Denekler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edildi. Sinir ileti hızı, EMG ve fonksiyon testleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalında, tüm histolojik çalışmalar Histoloji- Embriyoloji Anabilim Dalında gerçekleştirildi.

Çalışmada kullanılan denekler sayıca eşit dört gruba ayrıldı. Dört ayrı kafese rasgele 6 adet sıçan ağırlık ölçümleri yapılarak konuldu. Bu gruplardan ikisi hazırladığımız %40 yağ içeren özel bir diyetle, diğer iki grup ise standart ticari yem ile 8 hafta boyunca beslendi. Hayvanlar deneye başlamadan önce ortama adaptasyonları ve gece gündüz ortamı sağlanarak, aynı bakım koşulları altında, çeşme suyu içirilerek, rahat hareket edebilecekleri büyüklükte, üzeri hava alabilecek şekilde kapatılmış kafesler içerisinde altışarlı gruplar halinde tutuldu. Çalışmalar için öncelikli olarak deney hayvanları aşağıda belirtildiği gibi gruplara ayrıldı.

(1.Grup) ; 6 adet obezite ve siyatik sinir hasarı oluşturulmayan, kontrol (K)

(2.Grup); 6 adet obezite oluşturulmadan siyatik sinir hasarı oluşturulan kontrol, kontrol-hasarlı (KH)

(3.Grup) ; 6 adet yüksek yağlı diyetle obezite oluşturulan, obez (O)

(4.Grup) ; 6 adet obezite oluşturulduktan sonra siyatik sinir hasarı oluşturulan, obez-hasarlı (OH)

Yağ oranı %40 olan yem; standart toz sıçan yemine hayvansal yağ ilave edilerek hazırlandı. Hayvansal yağ eritilerek toz sıçan yemi ile karıştırıldı ve karışım pelet haline getirilerek kurutuldu ve deney grubuna verildi (Altunkaynak ve ark. 2008). Deney ve kontrol grubundaki deneklerin haftalık kilo alımları izlendi.

Toplam 8 hafta boyunca süren bu takip sonucunda her iki gruptaki deneklerin VKİ hesaplamaları yapılarak obez olup olmadıkları değerlendirildi (Altunkaynak ve ark.

2008). VKİ hesaplamasında; burun ucundan kuyruk başlangıcı arası mesafe boy olarak kabul edildi. Ölçülen ağırlık ve boy parametreleri VKİ formülü kullanılarak hesaplandı ve VKİ sonuçları 5 kg/m²'den büyük olan deneklerin obez olduğu kabul edildi.

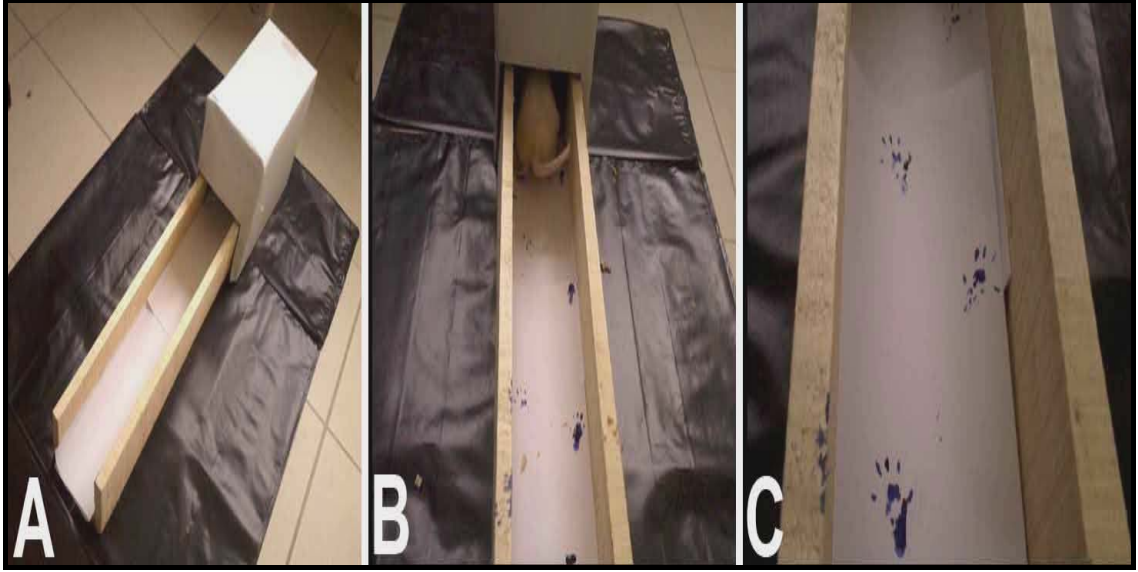
3.1. FONKSİYON TESTLERİ

Siyatik sinir rejenerasyonunun fonksiyonel olarak takibinde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden motor fonksiyon takibinde, siyatik sinir fonksiyon indeksini ve duyu fonksiyonların değerlendirilmesinde ise ayak geri çekme refleksi olan WRL testlerini uygulandı.

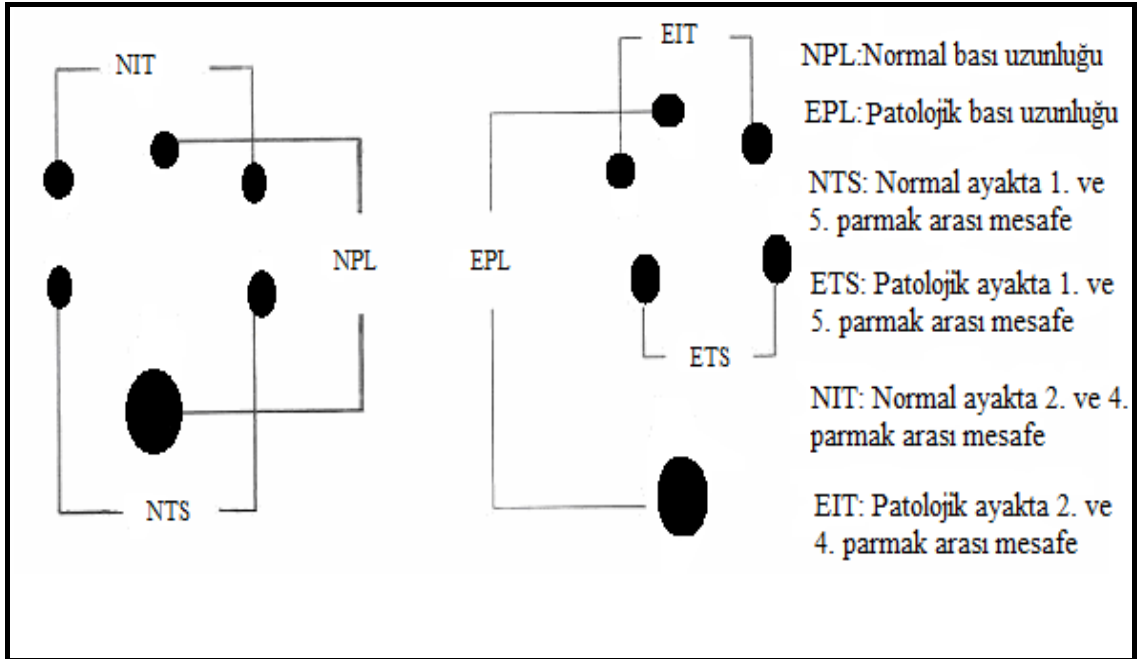
3.1.1. SFİ (Siyatik Sinir Fonksiyon İndeksi)

Çalışmamızda sinir rejenerasyonunun motor fonksiyon takibinde Siyatik Sinir Fonksiyon İndeksi (SFİ) kullanıldı. Yürüme analizi 100 cm uzunluğunda 12 cm genişliğinde, 10 cm yüksekliğinde ve kapalı bir kutu ile sonlanan yürüyüş yolu üzerinde yapıldı (Şekil 6-A). Deneklere bu koridorda test öncesi alışmaları için yürüyüş denemeleri yaptırıldı. Bu yöntemde 2 adet 12×42cm boyutlarında beyaz kâğıt yürüyüş koridoruna art arda yerleştirildi. Deneklerin her iki arka ayağı mürekkep konulmuş tablaya bastırılarak yeteri kadar boyandıktan sonra, yürüyüş yoluna bırakıldı (Şekil 6-B). Formüle göre belirlenen parmaklar arasındaki ölçümler yapıldı (Şekil 6-C). Beyaz kağıda çıkan ayak izleri kullanılarak Bain ve ark. tarafından 1989'da düzenlenen formül ile SFİ değerleri hesaplandı (Bain ve ark., 1989) (Şekil 7).

Bu yöntemde 0 ve 0'a yakın değerdeki sonuçlar normal siyatik sinir fonksiyonunu gösterirken, -100 ve -100'e yakın değerdeki sonuçlar tam kesiyi ifade etmektedir.



Şekil 6: A, Yürüyüş yolu düzeneğini; B, SFİ testinin uygulanmasını; C, Ayak izlerinin elde edilmesini göstermektedir.



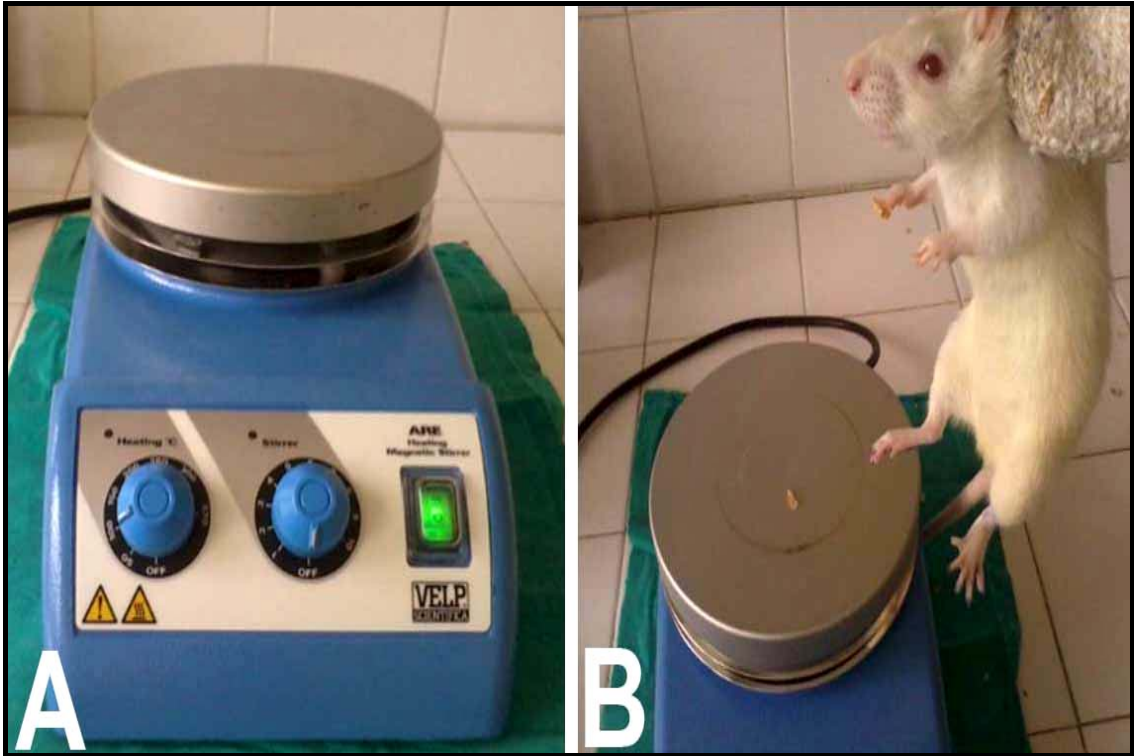
Şekil 7: SFİ hesaplamasında kullanılan parmaklar arası mesafeleri gösteren parametreler.

Bain ve ark. tarafından önerilen SFİ hesaplama formülü:

$$SFİ = -38.3 \frac{(EPL-NPL)}{NPL} + 109.5 \frac{(ETS-NTS)}{NTS} + 13.3 \frac{(EIT-NIT)}{NIT} - 8.8$$

3.1.2. WRL (Ayak geri çekme refleksi)

Çalışmamızda duyu fonksiyonunun değerlendirilmesi için ayak geri çekme refleksi (WRL testi) VELP® scientifica ARE (VELP Scientifica srl, Milano; Italy) marka sıcak tabla cihazı kullanılarak uygulandı (Şekil 8-A). WRL ağırlı bir uyarana karşı hayvanın arka ayağını geri çekerek yanıt vermesidir (Rupp ve ark., 2007; Şekil 8-B). Normal sıçanlar ayaklarını bu sıcak plakadan 4 saniye ya da daha az sürede çekmektedirler (Hu ve ark., 1997). Yanık oluşumunu engellemek için maksimum süre 12 saniye olarak kabul edildi ve 12 saniye sonuna dek WRL alınamayan sıçanların testleri sona erdirilerek WRL değerleri 12 saniye olarak kaydedildi (Varejao ve ark., 2003; 2004). Bu fleksiyon refleksinin oluşabilmesi için kalça, diz ve ayak bilek fleksör kaslarının kasılmaları gerekmektedir. WRL için 56 derecede plakaya hasar verilecek taraftaki ayak temas ettirilerek refleks süresi kronometre yardımıyla 3 kez ölçüldü ve ortalaması alındı. Elde edilen veriler kaydedildi (Shir ve ark., 2001).

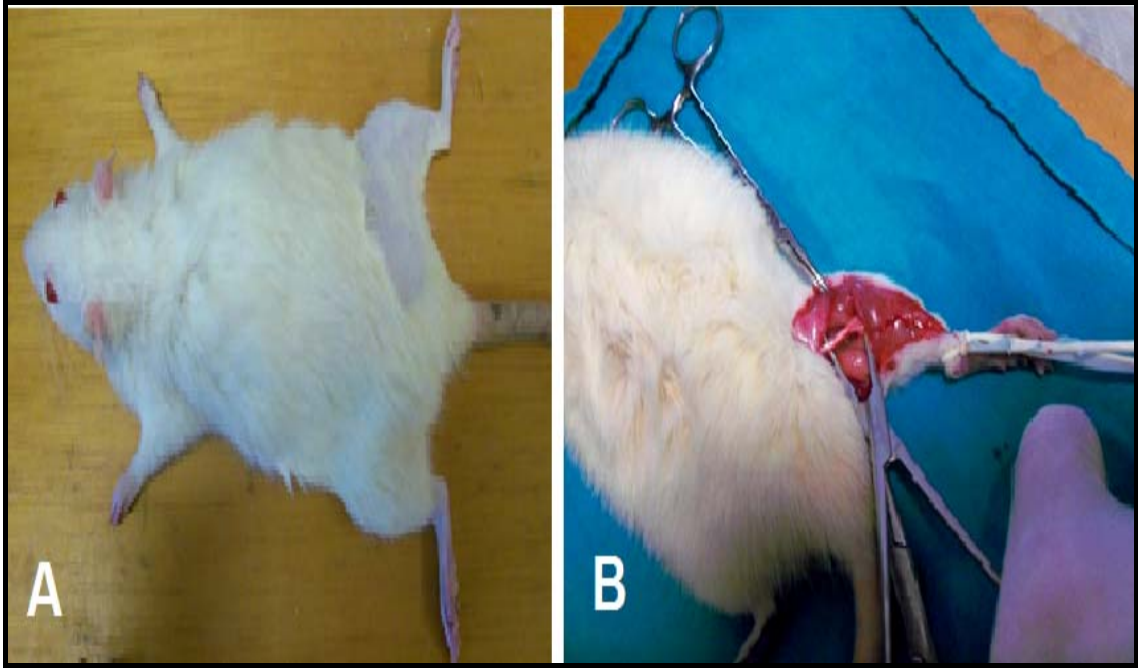


Şekil 8: A, WRL testi için kullanılan sıcak tabla cihazı; B, ısı refleksiyle WRL testinin uygulanmasını göstermektedir.

3.2.SİYATİK SİNİR HASARININ OLUŞTURULMASI VE SİYATİK SİNİRİN DİSSEKSİYONU

Siyatik sinir hasarı oluşturulacak gruplara deneyin 8. haftası sonunda operasyon yapılmaya başlandı. Denekler Ketamin® (Ketasol 90mg/kg, Richter Pharma AG, Weis-Avusturalya) ve Xylazin® (Rompun 10mg/kg, Bayer, Almanya) kullanılarak intraperitonel olarak anesteziye alındı.

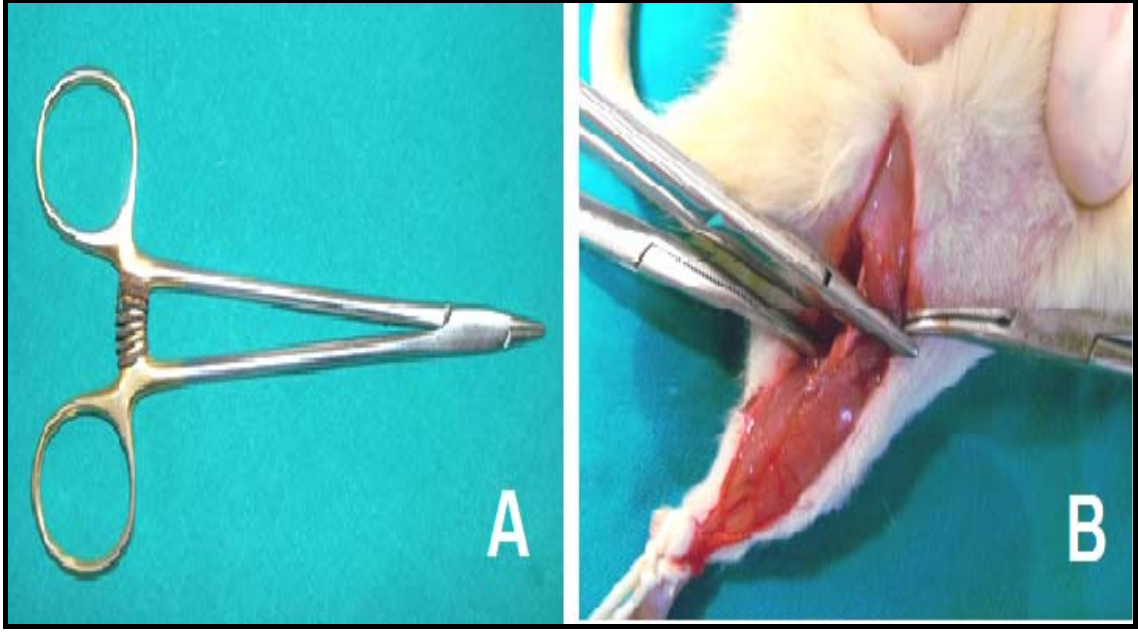
Anesteziyi takiben deneklerin sağ bacakları öncelikle tıraş edildi ve gluteal bölgeden açılarak, biceps femoris kası altından künt diseksiyon ile siyatik sinire ulaşıldı (Şekil 9-A,B).



Şekil 9: A, Hasar verilecek bacak bölgesi tıraş edilmesini; B, Künt diseksiyonla siyatik sinire ulaşılmasını göstermektedir.

Hasarın standart bir şekilde oluşturulması için 58 Newton basınç uygulayan portekü Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fizik Bölümünde özel olarak hazırlatıldı (Şekil 10-A).

Hasar öncesinde tüm gruplarda sinir ileti hızı ölçüldü ve sinire 58 Newton basınç uygulayan portegü yardımıyla 3 dakika süre ile ezilme hasarı oluşturuldu (Şekil 10-B). Önce kas doku sonra deri ipek suturla dikilip kapatıldı. Sonrasında denekler 4 hafta boyunca sürecek olan rejenerasyon sürecine bırakıldı.



Şekil 10: A, Ezilme tarzı hasarı oluşturan 58 Newton basınçlı porteküyü; B ,portekü ile siyatik sinire ezilme tipi hasar oluşturulmasını göstermektedir.

Siyatik sinir hasarı oluşturulmadan önce, SFİ (siyatik sinir indeksi) ve WRL (ayak geri çekme refleksi) testleri tüm gruplara uygulandı. Hasar oluşturulmayacak gruplarda da sinir ileti hızı ölçülüp disseke edilen siyatik sinir örnekleri elektron mikroskopik ve rutin histolojik yöntemlerle takip edildi. Hasar oluşturulan rejenerasyon sürecindeki sıçanlara da hasar öncesinde ve hasar sonrası 7, 14, 21, 28. günlerde SFİ ve WRL testleri uygulandı.

3.3. ELEKTROFİZYOLOJİK TESTLER

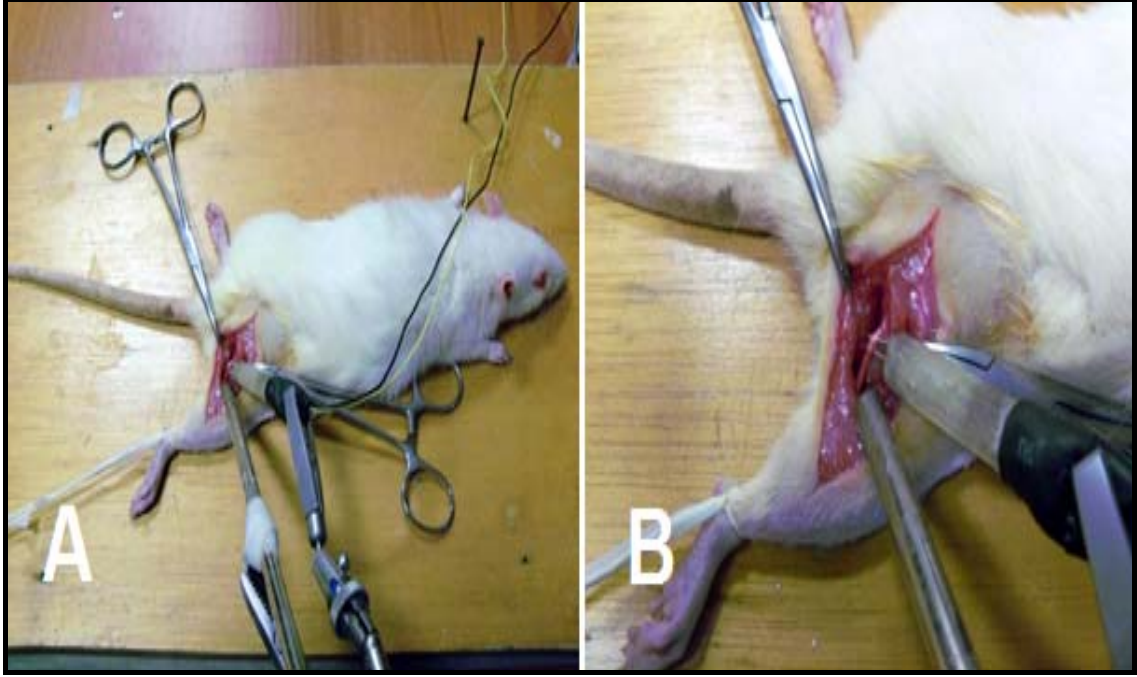
Elektrofizyolojik testler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalında PowerLab/4SP (ADInstruments, ADInstruments, Sydney, Australia) cihazı (Şekil 11) ve Scope (3.7.2) programı kullanılarak yapıldı. Sinir ileti hızı ve EMG ölçümleri hasar öncesi, hasardan hemen sonra ve rejenerasyon süreci sonrası yapılarak elde edilen veriler karşılaştırıldı.



Şekil 11: Elektrofizyolojik testler için kullanılan PowerLab/4SP cihazını göstermektedir.

3.3.1. Sinir İleti Hızı Ölçümü

Sinir ileti hızı incelemelerinde ölçümü yapılacak sinir supramaksimal akım ile uyarıldı ve oluşturulan aksiyon potansiyelleri yine sinir üzerinden kaydedildi (Şekil 12-A, B). İntraperitoneal yapılan anestezi altında, hasar verilecek gruplarda sağ siyatik sinirler siyatik çentikten trifukasyon bölgesine kadar disseke edilerek etraf dokudan serbestlendi. Uyarı veren kanca şeklindeki elektrot siyatik çentikten yaklaşık 10 mm distale ve ezilme hasarı oluşturulan alanın 5 mm proksimaline yerleştirildi. Kayıt alan kanca elektrot ise hasar distaline yerleştirilerek her ölçümde elektrotlar arası mesafe kaydedildi (Kaplan ve ark., 2011). Aksiyon potansiyel amplitüdü ve latans değerleri ölçüldü.

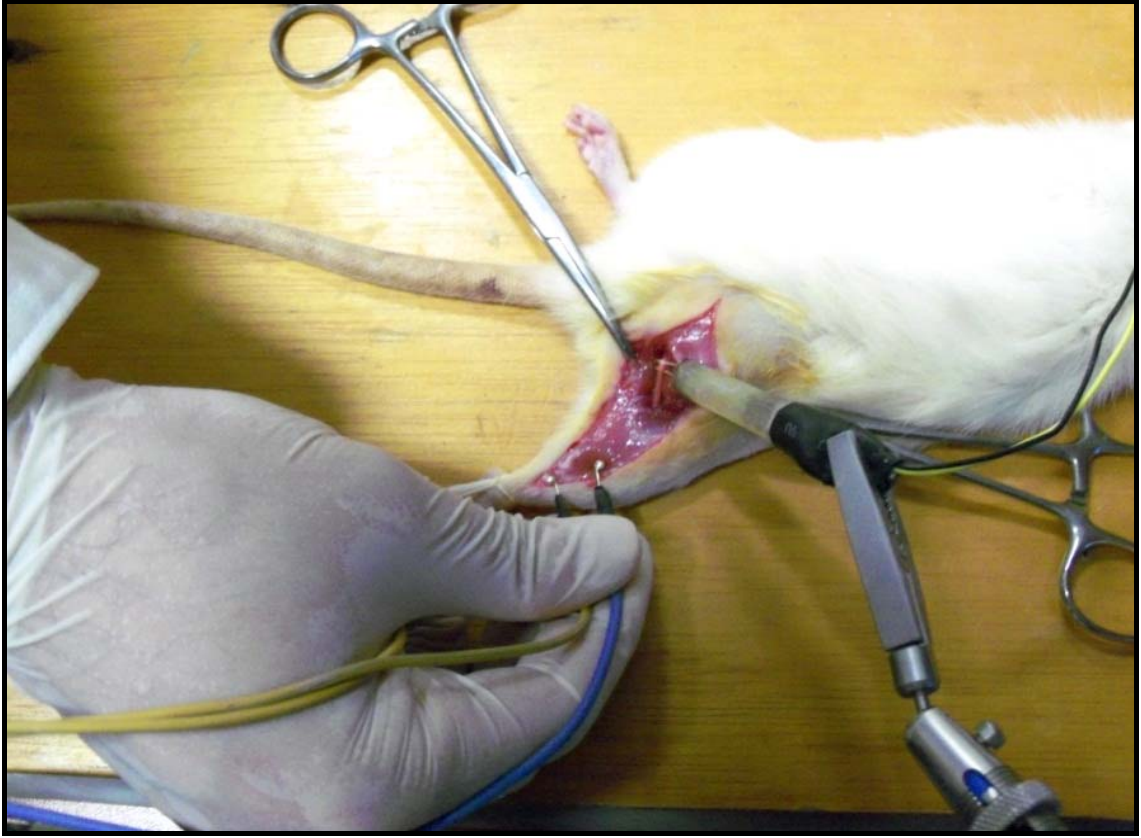


Şekil 12: A,B, Sinir ileti hızı ölçümlerini göstermektedir.

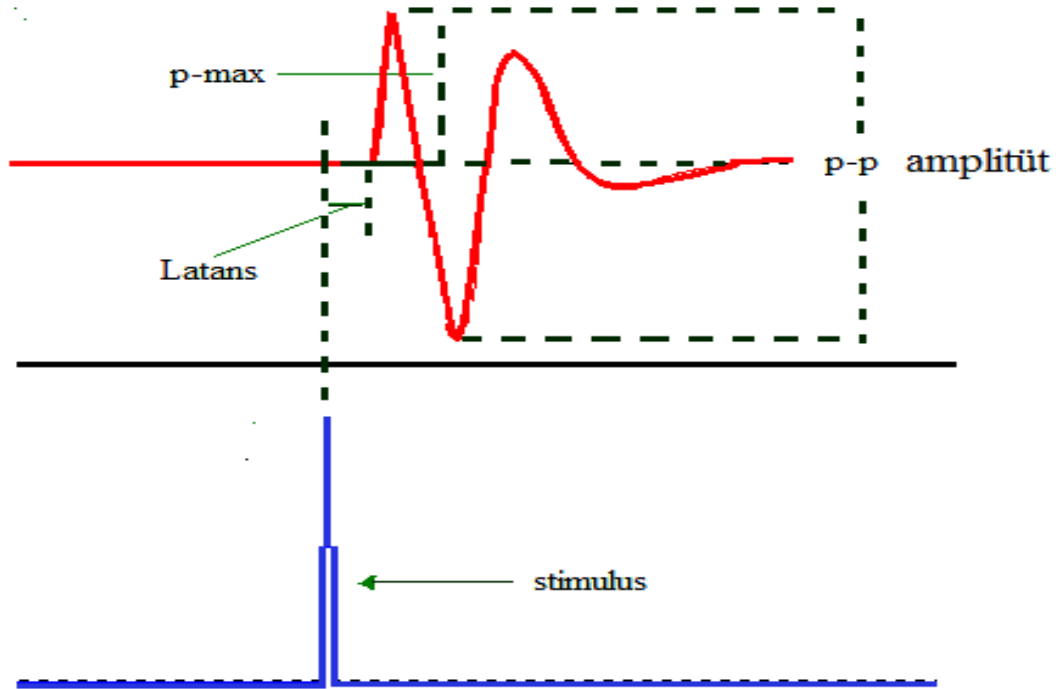
İleti hızı, uyarı ve kayıt elektrotları arasındaki mesafenin, başlangıç latansına bölünmesi ile hesaplandı (milimetre/saniye).

3.3.2. EMG Ölçümü:

İntraperitoneal anestezi altında, hasar verilecek gruplarda sağ siyatik sinirler siyatik çentikten trifukasyon bölgesine kadar disseke edilerek etraf dokudan serbestlendi. Uyarı veren kanca şeklindeki elektrot siyatik çentikten yaklaşık 10 mm distale ve ezilme hasarı oluşturulan alanın 5 mm proksimaline yerleştirildi. Top elektrotlar ise uyarı elektrotuna 2,5 cm mesafede gastrokinemus kası yüzeyine yerleştirildi (Şekil 13). Top elektrotlar arası 1 cm olarak ayarlandı. EMG kayıtları, 1 miliamper akım aralığında, %0 ile %100 arasında akım hızı arttırıp azaltılarak her bir hayvan için supramaksimal uyarı eşikleri bulunduktan sonra alındı. Bu şekilde gastroknemius kası birleşik kas aksiyon potansiyelleri ölçüldü (CMAP: Compound muscle action potential). Çizdirilen aksiyon potansiyeli eğrilerinde uyarıdan defleksiyonun başladığı zamana kadar geçen süre, yani ‘latans’ değerleri, oluşan potansiyelin tepe-tepe amplitüdü (p-p amplitüt) ve maksimal pozitif yöndeki tepe-taban pik değerleri (p-max) ölçüldü. Üçer adet aksiyon potansiyeli eğrileri çizdirilerek ortalama değerler alındı ve bu değerler istatistiksel olarak birbirleri ile karşılaştırıldı (Şekil 14).



Şekil 13: EMG ölçümünü göstermektedir.



Şekil 14: EMG kaydında değerlendirilen parametreleri göstermektedir.

3.4. HİSTOLOJİK ÇALIŞMALAR

Dört ayrı gruptan elde edilen siyatik sinir dokularından, hem elektron mikroskopik hem de ışık mikroskopik takip yapıldı. Elektron mikroskopi prosedürüne göre takibi yapılan dokular stereolojik analizlerde, ışık mikroskopik yöntemle takip edilen dokular ise immünohistokimyasal ve rutin histolojik boyamalarda kullanıldı.

3.4.1. Elektronmikroskopik Takip Protokolü

Denekler anestezi halinde iken çıkarılan dokular;

- %5'lik Gluteraldehit solüsyonu içerisinde 1 saat bekletildi.
- Süre sonunda 4x15 dakika Milloning tamponuyla yıkandı.
- Tamponla yıkamanın ardından %1 'lik Osmium Tetraoksit içerisinde 1,5 saat karanlık bir ortamda bekletildi.
- Süre sonunda 4x15 dakika Milloning tamponuyla tekrar yıkandı ve dehidratasyon işlemi için;
- %50'lik asetonda 15 dakika,
- %75'lik asetonda 15 dakika,
- %95'lik asetonda 15 dakika,
- %100'lük asetonda 20 dakika,
- %100'lük asetonda 20 dakika bekletildi. Ardından
- Propilen oksitde 20 dakika,
- Propilen oksitde 20 dakika,
- %50 Propilen oksit + %50 Araldit karışımında 1 saat,
- %100 Aralditde 1 saat boyunca infiltrasyon işlemine tabi tutuldu.
- Flat gömme kalıbı içerisinde bloklanan dokular 45°C de Etüve yerleştirildi ve 30 dakikada bir 5°C'lik ısı artımlarıyla 62 °C ye ulaşıldığında 48 saat bekletilerek polimerize edildi. Daha sonra elde edilen plastik bloklar mikrotom yardımı ile 0.5 µm kalınlığında kesildi ve kesitler lam üzerine alınarak %1 lik toluidin mavisi ile boyandı. Elde edilen kesitler CASTGrid (Computer Assisted Stereological Toolbox, versiyon 2.00.03; California, USA) sistemi ile stereolojik olarak (Leica DM 4000B; Tokyo, Japan) kamera ataçmanlı ışık mikroskobu ile de histopatolojik açıdan değerlendirildi.

3.4.2. Işık Mikroskopik Takip Protokolü

- Dokular %10'luk formaldehit içerisinde konuldu ve bir hafta sonra rutin ışık mikroskopik takibe başlandı.
 - Dokular akarsu altında 2 saat yıkandı,
 - %70'lik alkolde 4 saat,
 - %80'lik alkolde sabaha kadar,
 - %96'lık alkolde 1 saat,
 - %96'lık alkolde 1 saat,
 - %100'lük alkolde 1 saat,
 - %100'lük alkolde 1 saat tutularak dokulardan suyun uzaklaştırılması sağlandı.
- Ardından
- Ksilen içerisinde 3x10 dakika bekletilerek şeffaflandırılan dokular taze Paraplast içerisinde bloklandı.

3.4.3. Kesitlerin Alınması ve Hematoksilen-eozin ile Boyanması

Paraplast içerisinde bloklanan dokulardan mikrotom aracılığıyla histolojik incelemeler için 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Kesitler jelâtinli sıcak su banyosuna konularak açılmaları sağlandı ve lamlara alınan kesitler iyice kuruduktan sonra Hematoksilen-Eozin boyama işlemine geçildi.

Bu işlemler aşağıda sırasıyla verildi;

1. Ksilol 'de (20 dak.) bekletildi.
2. Ksilol 'de (10 dak.) bekletildi.
3. %80'lik Alkolde (10 dak.) bekletildi.
4. İki ayrı %96'lık Alkol serisinde (5 dak.) bekletildi.
5. Kesitler çeşme suyunda yıkandı
6. Hematoksilen boyasında 1 dak. bekletildi.
7. Asit-Alkol karışımına batırılıp çıkarıldı.
8. Eozin solüsyonunda (1 dak.) bekletildi.
9. Suda (1 dak.) yıkandı.
10. %80'lik Alkolde (10 dak.) bekletildi.
11. İki ayrı %96'lık Alkol serisinde (10 dak.) bekletildi.
12. Ksilol serilerinde (20 dak.) bekletildi.

13. Entellan ile kapatma işlemi gerçekleştirildi.

3.4.4. Kesitlerin Rutin Histolojik Yöntemle Değerlendirilmesi

İncelemeye hazır hale gelen kesitler Leica (Leica DM 4000B; Tokyo, Japan) kamera ataçmanlı ışık mikroskobu altında incelenerek ilgili tüm gruplara ait fotoğraflar çekildi.

3.5. STEREOLOJİK İŞLEMLER

3.5.1. Bilgisayar Destekli Stereolojik Analiz Sistemi

Stereolojik değerlendirmeler için kullanılan bilgisayar destekli stereolojik analiz sistemi (Şekil 15) JVC (TK-C1380), (Tokyo, Japan) marka kameralı Leica marka bir mikroskop, mikroskop tablasını hareket ettiren Prior (London; UK) motorize sistem ve bunların kullanımını kontrol eden CAST-Grid (Computer Assisted Stereological Toolbox, versiyon 2.00.03; California, USA) yazılımını barındıran Leica (Tokyo, Japan) marka bir bilgisayardan oluşmaktadır.



Şekil 15: Sayım işlemlerinin yapıldığı Bilgisayar Destekli Stereolojik Analiz Sistemini göstermektedir.

3.5.2. Kesitler Üzerinde Alan Örneklemesi

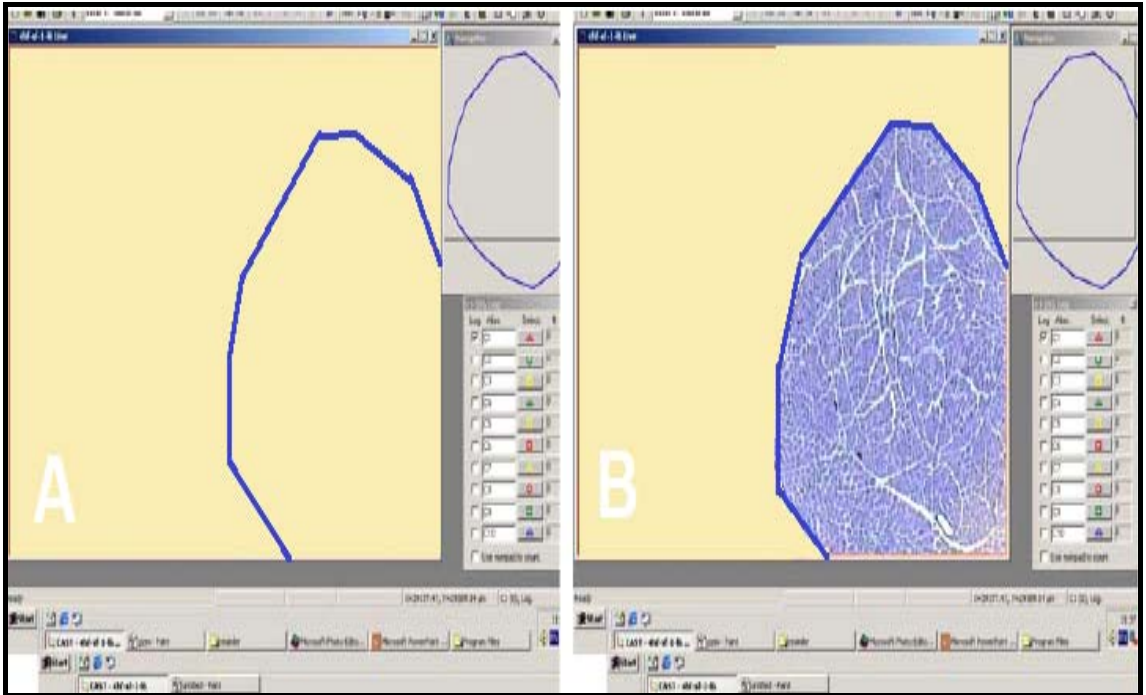
Tüm kesitlerde siyatik sinirden geçen her alan CAST-Grid bilgisayar destekli stereolojik analiz sistemi ile hesaplandı.

Bu işlem, stereolojinin temel prensiplerinden “**hata katsayısı**” göz önünde bulundurularak gerçekleştirildi. Hata katsayısı değeri dikkate alınarak uygun alan örnekleme aralığı belirlendikten sonra ilgili alandan diğer alana geçişte başlangıcı rasgele olacak biçimde önceden belirlenen bir sistematik aralıkta ilgili kesitlerin tüm yüzeyi adım adım taranarak sayım işlemleri gerçekleştirildi.

Sonuç itibariyle çalışmamızın bu aşamasında ulaşılması amaçlanan, miyelinli aksonların sayısal yoğunluğu ve toplam sayısı değerleri elde edildi.

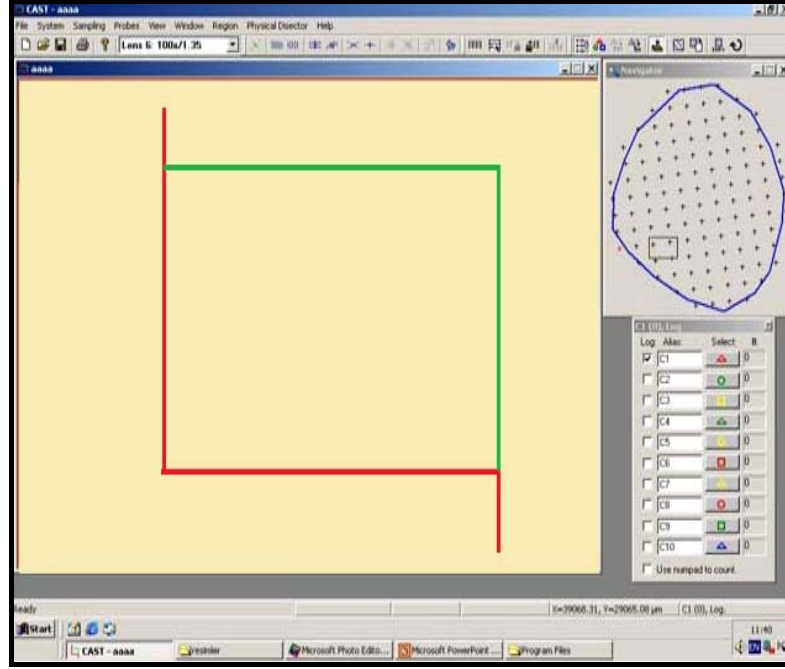
Bu çalışmada akson sayısının hesaplanmasında aşağıdaki işlem sırası takip edildi:

- 1- Sayılması istenen objeyi (akson) içeren alanlar kesitler üzerinde belirlendi.
- 2- İlgilenilen alanların dış hatları CAST-Grid programında çizildi (Şekil 16).



Şekil 16: A, B CAST-Grid yazılımı ile siyatik sinir kesitleri üzerinde yapılan çizim işlemini göstermektedir. A; orijinal sinir kesitini B; orijinal sinir kesitinin çizilmiş dış hatlarını göstermektedir.

- 1- Dış hatları belirlenen kesitin alanı hesaplandı.
- 2- Hesaplanan referans kesit alanı uzaysal olarak X ve Y düzlemlerinde eşit aralıklı alanlar içeren adımlara bölündü (Şekil 17).



Şekil 17: X ve Y düzlemlerinde eşit aralıklı adımlara bölünmüş siyatik sınır örneğini göstermektedir

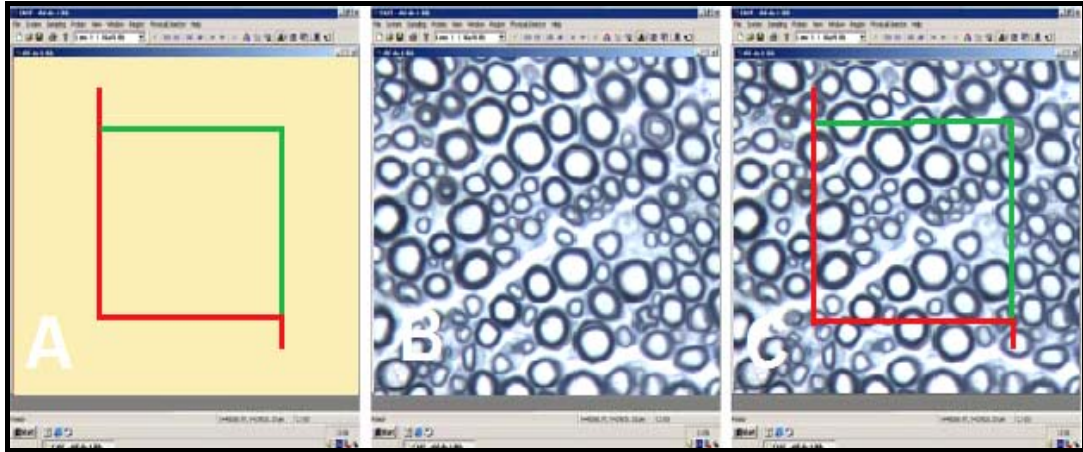
X –Y düzlemindeki adım aralığı ve bir aşama sonrasında da ilgili adım aralığına yerleştirilen tarafsız sayım çerçevesinin alanı yapılan pilot çalışmalar sonucunda uygun hata katsayısına göre belirlenmiştir.

Bu aşamada stereoloji terminolojisinde geçen “hata katsayısı (Coefficient of Error; CE)” kavramının ne anlama geldiğine de göz atılması yararlı olacaktır. Kısaca hata katsayısı terimi; “stereolojik bir çalışmada, örnekleme ve hesaplama yöntemlerinden veya bir başka ifadeyle uygulanan değerlendirme metodundan kaynaklanan toplam hata miktarını istatistiksel olarak göstermektedir” denilebilir. Yukarıda ifade edilenler ışığında “**hata katsayısı**” dikkate alınarak ilgili çalışmanın örnekleme stratejisi ve ölçüm yoğunluğunun kontrol edilebileceğini veya bir başka ifadeyle doğru ölçüm aralığında olup olunmadığının stereolojik terminolojiye uygun biçimde ayarlanabileceğini söyleyebiliriz. Yukarıda kabaca açıklanan “hata katsayısı” kavramın teknik ifadesi ise örnekten elde edilen sayısal verilerin standart sapmasının örnekten elde edilen sayısal verilerin ortalamasına bölünmesidir. Bir örnekleme sonucunda elde

edilen sayısal verilerin ilgili yapının bütünü hakkında sağlıklı bilgi verebilmesi için toplam hata katsayısının 0,05 değerinde veya bu değerden daha az olmasının yeterli olduğu kabul edilmektedir (Canan ve ark., 2008).

X –Y düzlemindeki uygun adım aralığı belirlendikten sonra belirlenen bu adım aralığında ilgilenilen objelerin sayımlarının yapılabilmesi için kesit düzleminde sayım kuralları önceden belirlenmiş sayım çerçevelerine ihtiyaç bulunmaktadır.

Sözü edilen bu tür çerçevelerin kullanılmasındaki ilk amaç sınırlı bir alanda bulunan objelerin sayısının belirlenmesi olup ikinci amaç sayılması istenilen objenin ne gerçekte olduğundan az, ne de gerçekte olduğundan daha fazla örneklenmesini sağlamaktır. Yukarıda sözü edilen amaçlar doğrultusunda herhangi bir objenin kesit düzlemindeki sayımları yapılırken sayım kuralları tarafsızlık esaslarına göre belirlenmiş olur. Bu amaçla daha önceki çalışmalarda, bizim de bu çalışmada kullandığımız **“tarafsız sayım çerçevesi”** olarak adlandırılan bir çerçeve önerilmektedir (Şekil 18).



Şekil 18: A, B,C; CAST-Grid yazılımı ile siyatik sinir kesitleri üzerinde yapılan adımlama ve sayım işlemini göstermektedir. A; Akson sayısının hesaplanması için kullanılan tarafsız sayım çerçevesi, B; Orijinal sinir kesitinden yüksek büyütmede (x100) alınmış görüntü, C; Çerçevesi orijinal kesit görüntüsünü göstermektedir.

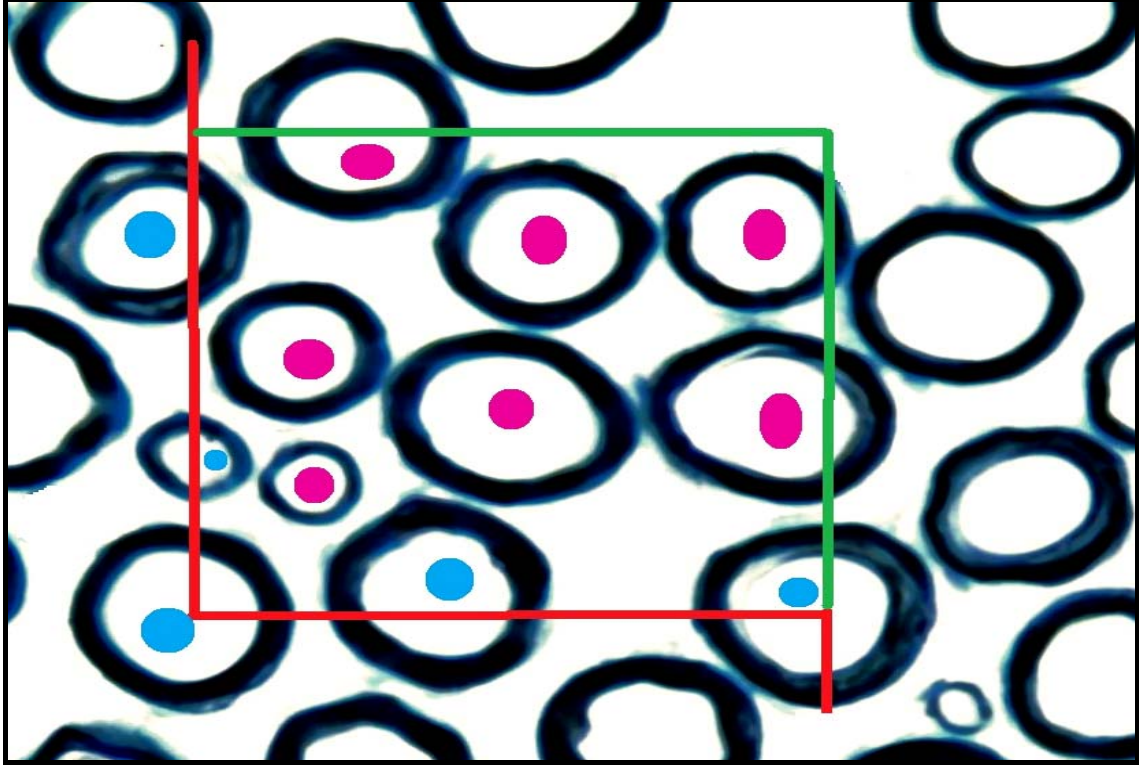
Yukarıdaki bilgilerin verilmesinin ardından **“tarafsız sayım çerçevesi”** kurallarından bahsetmek yerinde olacaktır. Buna göre,

a. Tamamen çerçeve içerisinde izdüşümleri kalan, yani herhangi bir kenar veya köşeyle kesişmeyen tanecikler sayıma dahil edilir.

b.Çerçevenin kalın ve kesintisiz çizgileri ile ifade edilen kenarları ile kesişen izdüşümler sayılmazlar.

c. Kesintili çizgi ile teması olan taneciklerin izdüşümleri sayıma dahil edilir.

d. Çerçevenin kalın ve kesintisiz çizgilerinin uzantıları ile kesişen izdüşümlerin bir kısmı sayıma dahil olan alan içinde bulunsa bile sayılmazlar (Şekil 19).



Şekil 19: Şematik olarak bir ekran üzerine yerleştirilmiş bir tarafsız sayım çerçevesi görülüyor. Yeşil çizgiler serbest ya da dahil kenarları, kırmızı çizgiler ise yasak kenarları göstermektedir. Yasak çizgilerin uzantılarının doğrultuları, sayımın doğruluğu için gerekli ve önemlidir. Pembe noktalar sayılabilir, mavi noktalar ise sayılamayan aksonlardır.

Yukarıda sözü edilen aşamalardan sonra X-Y düzlemindeki her bir adım üzerinde aynı noktalara tafrasız sayım çerçevesi yerleştirildikten sonra çerçeve kuralları dâhilinde sayımlar gerçekleştirilerek tüm adımlardaki alanlar bu esaslara göre değerlendirildi.

1- Sayım işlemi tamamlandıktan sonra her cm^2 'deki ortalama akson sayısı (N_A akson) aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$\sum QA_{kson}$ = hesaplanan akson profillerinin toplam sayısı

A = sayım çerçevesinin alanı

$$N_{A \text{ Akson}} = \frac{\sum Q}{A} \cdot \text{Toplam Sinir Alanı}$$

2- Son olarak elde edilen akson sayısal yoğunluk verisi önceden hesaplanan toplam alan verisiyle çarpılarak toplam miyelinli akson sayısı elde edildi.

3.6. İMMUNOHİSTOKİMYASAL İŞLEMLER

GAP-43 nöronun gelişimi, aksonal rejenerasyon esnasında büyüme konisinden yüksek seviyede eksprese edilen kritik öneme sahip, spesifik bir sitoplazmik proteindir. Nöronun oluşumu, rejenerasyonu ve plastisitesi için gereklidir (Benowitz ve Routtenberg, 1997; Aarts ve ark., 1998).

Normal siyatik sinir yapısında bulunan Schwann hücrelerinin sitoplâzmalarında TGF- β 1 ile TGF- β 3 ve az miktarda TGF- β 2 mevcuttur. Sıçanlarda, travmatik siyatik sinir hasarı sonrası gelişen rejenerasyon esnasında sütür hattının proksimal ve distalinde mevcut olan Schwann hücreleri tarafından TGF- β oluşumunun indüklendiği düşünülmektedir. Çalışmalarda, TGF- β 'nın Schwann hücre proliferasyonunda rol oynadığı ileri sürülmektedir (Stark ve ark., 2001).

Böylece bu çalışmada obezitenin rejenerasyon öncesi ve sonrasında akson sitoplazmasındaki GAP-43 düzeyleri ve Schwann hücresi sitoplazmasındaki TGF- β 3 düzeyleri üzerine herhangi bir etkisi olup olmadığı araştırıldı.

Bu amaçla seçilen parafin bloklardan elde edilen 5 mikrometre kalınlığındaki kesitler, önceden poly-L-Lysin ile kaplanmış lamlara alındı. Kesitler bir gece önce 57° C'lik sıcaklıkta etüvde bekletildi. Deparafinizasyon işlemi için etüvden alınan kesitler 30 dakika süresince 3 ayrı şale ile ksilolden geçirildi. Daha sonra derecesi azalan alkollerden 20 dakikada geçirilen kesitler distile su ile yıkandı. Antijen retrieval amacıyla plastik taşıyıcıya alınan kesitler, kesit yüzeyini örtecek şekilde PH 6 sitrat

tampon solusyonu içine yerleştirildi. Üç kez 5'er dakikalık sürelerle toplam 15 dakika mikrodalga fırında şoklandı. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra kesitler distile su ile yıkandı. Dokuların etrafı hidrofobik kalem ile çizildi ve kesitler PBS (phosphate buffered saline) ile yıkandı. Dokudaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak amacıyla, kesitlerin üzerine hidrojen peroksidin %0,3'lük çözeltisi damlatılarak 15 dakika bekletildi. Kesitler tekrar PBS ile yıkandı. Nonspesifik bağlanmaları engellemek amacıyla kesitler üzerine Ultra V Block Nonspecific Blocking Reagent (Lab Vision Corporation, CA, USA) 10 dakika uygulandı. Ardından Gap 43 (Epitope Spesific Rabbit Antibody, Thermo Fisher Scientific Anatomical Pathology, CA USA), damlatılıp 60 dakika bekletildi. Dört ayrı PBS banyosunda 10 dakika yıkandı. Sekonder antikor olarak Biotinylated Goat Anti- Polyvalent (Lab Vision Corporation, CA USA) uygulandı ve 15 dakika bekletildi. Kesitler tekrar 4 ayrı PBS banyosunda yıkandı ve kesitlerin üzerine immün reaksiyonu gözlemlemek için işaretleyici (label) olarak Streptavidin Peroxidase (Lab Vision Corporation, 47790 CA, USA) damlatılarak 15 dakika beklendi. PBS ile yıkanan kesitlerin üzerine immün reaksiyonu gözlemlemek için AEC kromojen sistemi (AEC Substrate system, Thermo Fisher Scientific Anatomical Pathology, CA USA) kullanıldı.

Yirmi mikrolitre AEC kromojen, 1 ml AEC substrat ile karıştırıldıktan sonra kesitlere 10 dakika süre ile uygulandı. Daha sonra kesitler distile su ile yıkanıp zıt boya olarak 1,5 dakika Mayer hematoksilen ile boyandı. Su bazlı kapama maddesi damlatılarak kesitler kapatıldı.

3.6.1. İmmunreaktivitenin değerlendirilmesi

Kontrol, kontrol-hasarlı, obez ve obez-hasarlı gruplar arasında yapılan immünohistokimyasal boyamalarda GAP-43 antikoruna pozitif yanıt gösteren sitoplazmaya sahip aksonlar stereolojik yöntemlerle sayıldı ve gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Yine TGF- β 3 pozitif sitoplazma içeren Schwann hücreleriyle çevrelenmiş aksonlar da stereolojik yöntemlerle sayıldı ve elde edilen bulgular istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

3.7. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

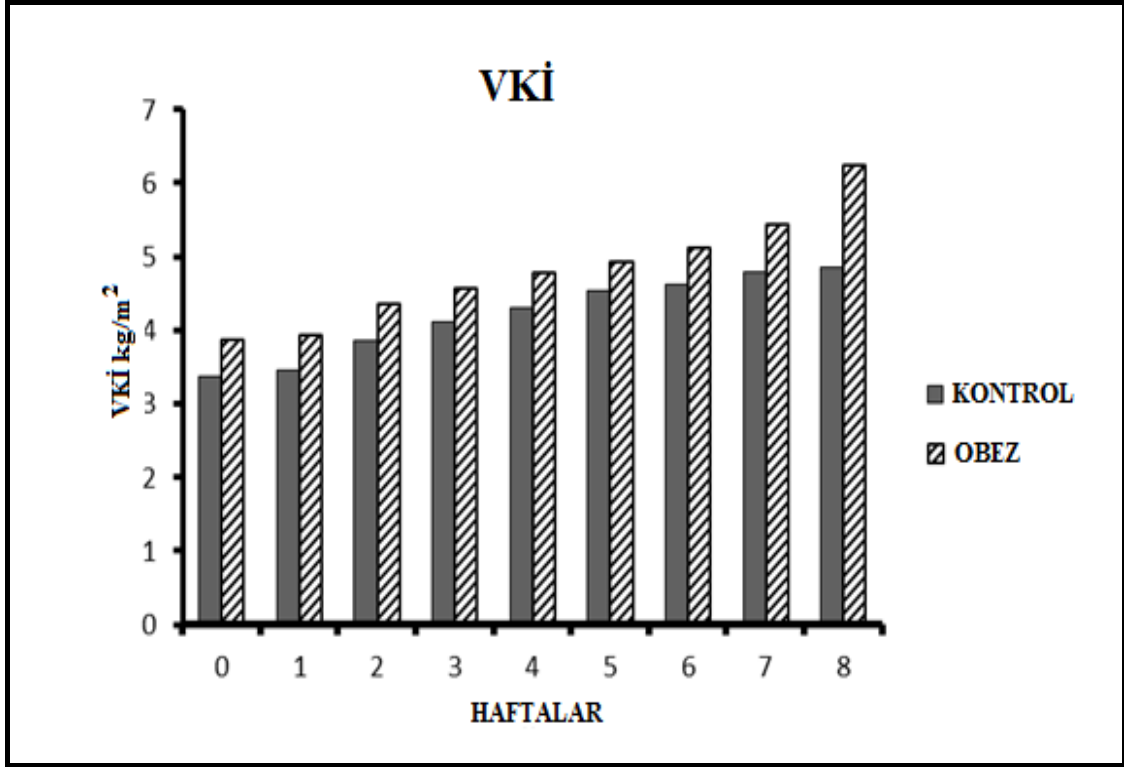
Bu çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS® 13,0 for Windows® (Amerika) programı ile yapıldı. İkili grupların birbirleri ile karşılaştırmalarında Bağımsız Örnekler T Testi, çoklu grup karşılaştırmalarında ise One Way ANOVA (Bonferroni Post-Hoc Test; $\alpha=0,05$) kullanıldı.

BULGULAR

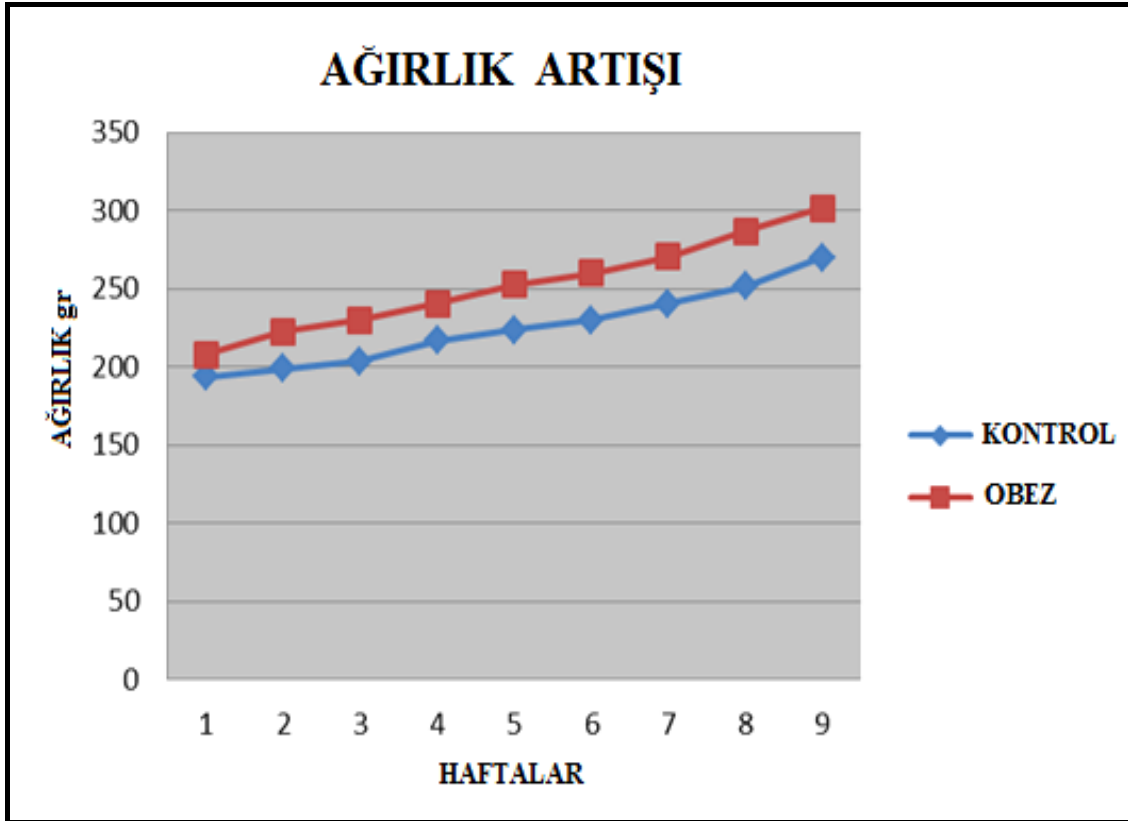
Bu çalışmada obez, kontrol, obez-hasarlı ve kontrol-hasarlı olmak üzere dört grup kullanıldı. Obezite yüksek yağlı diyetle 8 haftalık bir süreçte oluşturuldu, bu süreçte kontrol grubu standart palet yem ile beslendi ve süre sonunda siyatik sinirler incelenmek üzere çıkarıldı. Obez-hasarlı ve kontrol-hasarlı grupları arasında 8. hafta sonunda siyatik sinirde ezilme tipi hasar oluşturuldu ve 4 haftalık rejenerasyon süreci sonunda incelenmek üzere siyatik sinirler çıkarıldı. Her bir grupta elektrofizyolojik testler olan sinir ileti hızı, EMG ölçümü ve fonksiyon testleri olan SFİ ve WRL testleri uygulandı. Toplam akson sayısı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı stereolojik yöntemlerle hesaplandı. Ayrıca aynı kesitler üzerinde rutin histopatolojik ve immünohistokimyasal boyamalarla değerlendirmeler de yapıldı ve bu değerlendirmeler sonucunda aşağıdaki bulgular elde edildi.

4.1. Oluşturulan Obezitenin Değerlendirilmesi

Deney ve kontrol grubundaki deneklerin haftalık kilo alımları izlendi. Toplam 8 hafta boyunca süren bu takip sonucunda her iki gruptaki deneklerin VKİ hesaplamaları yapılarak obez olup olmadıkları değerlendirildi (Altunkaynak ve ark. 2008). VKİ hesaplamasında; burun ucundan kuyruk başlangıcı arası mesafe boy olarak kabul edildi. Ölçülen ağırlık ve boy parametreleri VKİ formülü kullanılarak hesaplandı ve VKİ sonuçları 5 kg/m^2 'den büyük olan deneklerin obez olduğu kabul edildi (Şekil 20). Obez olarak değerlendirilen gruplarda kontrol grubuna oranla daha hızlı kilo alımı gözlemlendi (Şekil 21). Vücut kitle indeksi ve karın çevresi ölçümlerinin de desteklemesiyle 8. hafta sonunda deney grubunda obezitenin oluşturulduğu kanaatine varıldı.



Şekil 20: Obez ve kontrol grubu VKİ grafiği görülmektedir.

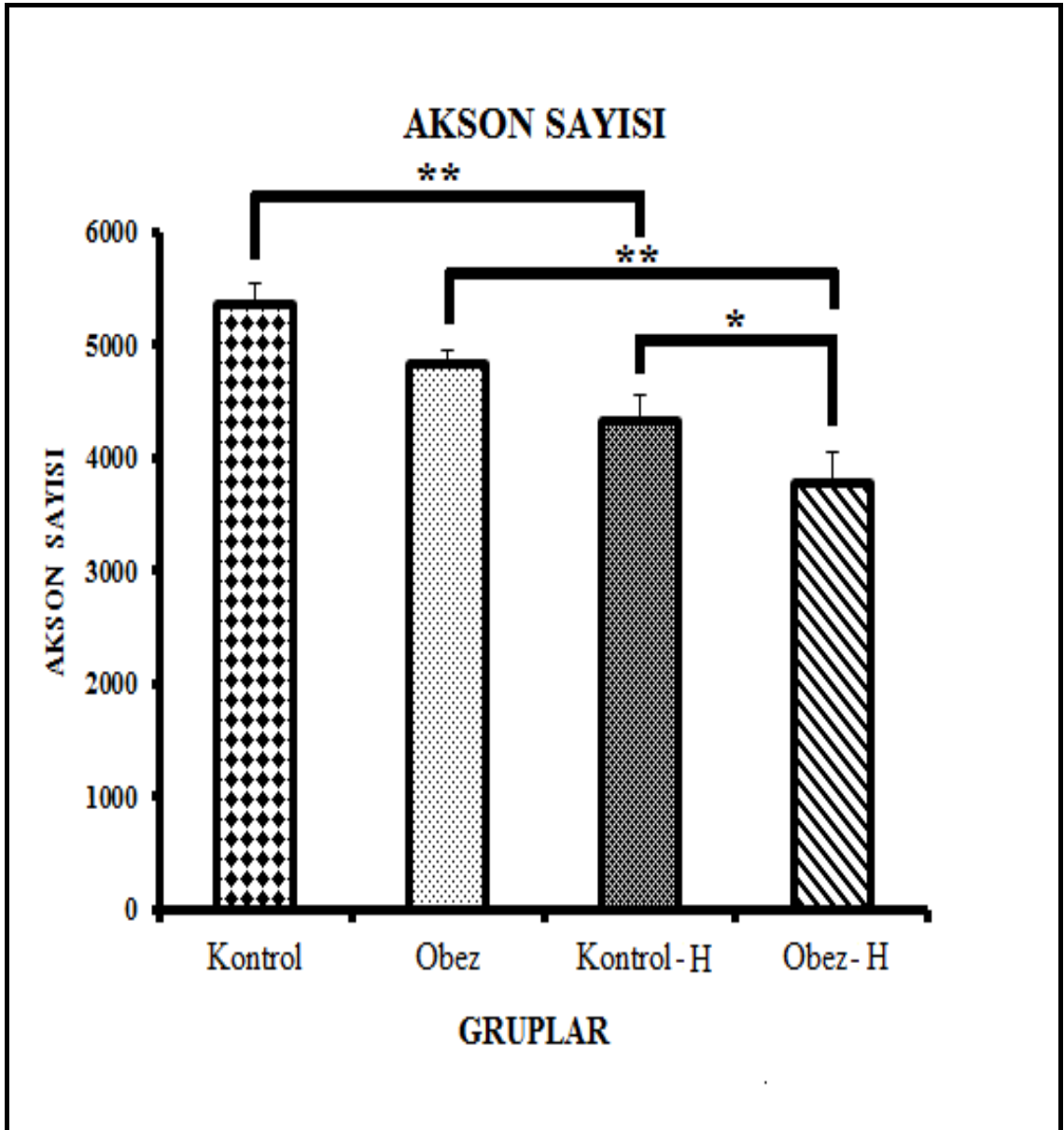


Şekil 21: Obez ve kontrol grubu arasında ağırlık artış grafiği görülmektedir.

4.1. STEREOLOJİK BULGULAR

4.1.1. Tüm Gruplardaki Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Akson Sayısı Bulguları

Tüm gruplardaki deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan hesaplamalar sonucunda toplam akson sayısı her bir denek ve grup için aşağıdaki tablo ve şekilde görülmektedir (Tablo 4, Şekil 22).



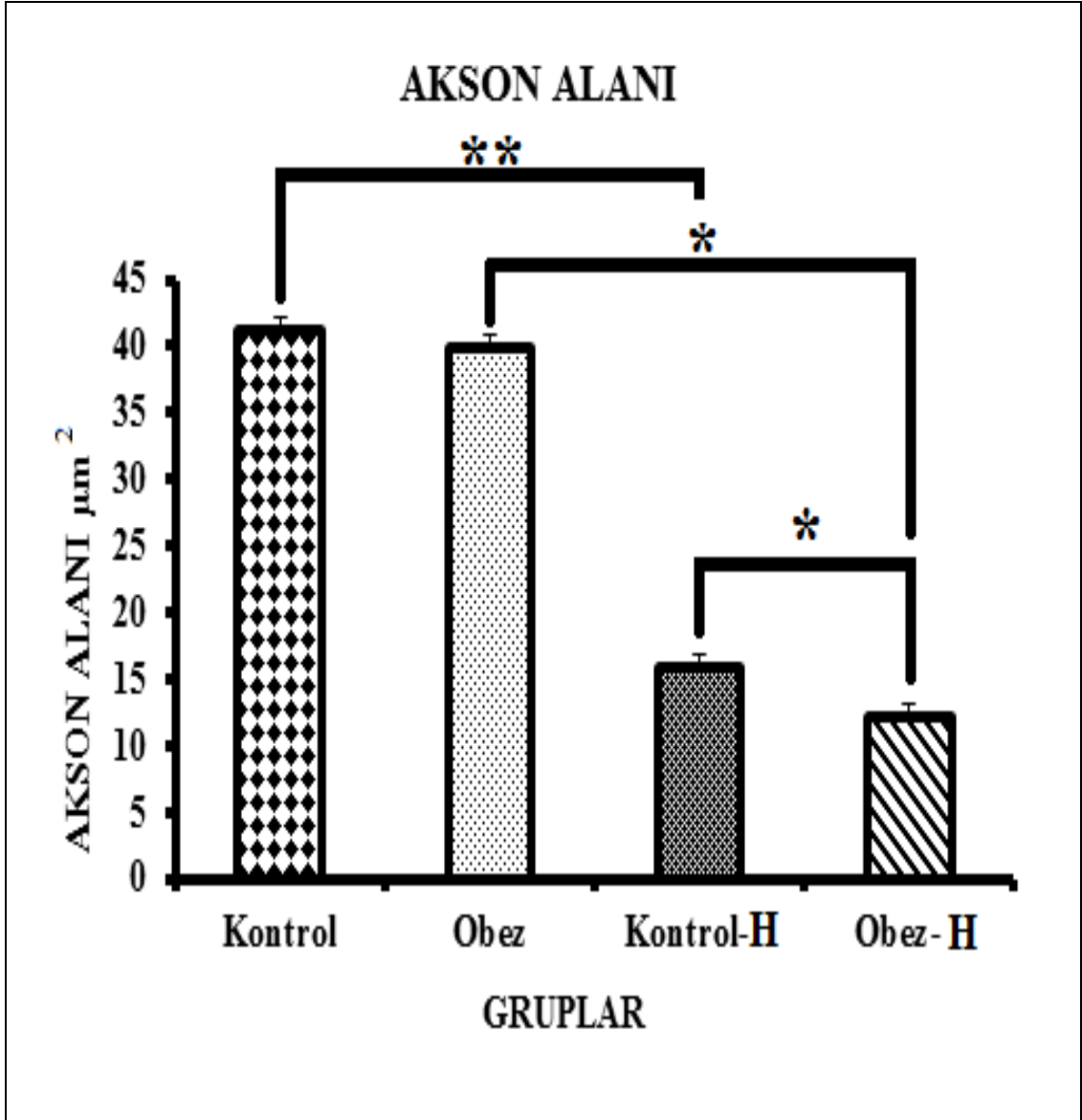
Şekil 22: Akson sayısı bakımından grupların karşılaştırılmasını gösteren grafik. İlgili gruplar arasındaki *; $p < 0,05$ **; $p < 0,01$ istatistiksel anlamlılık seviyelerini göstermektedir.

Tablo 4: K, KH, O, OH gruplarındaki herbir denekteki toplam akson sayısı , DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata

DENEK NO	KONTROL GRUBU	KONTROL-HASARLI GRUBU	OBEZ GRUBU	OBEZ-HASARLI GRUBU
1	5583	4695	4738	3812
2	5436	4479	4855	4452
3	5164	4453	5082	3240
4	5220	4413	4943	3472
5	5087	4037	4618	3930
6	5636	3938	4766	3768
Ortalama	5354	4336	4834	3779
DK	0,068230	0,15256	0,03769	0,12295
SS	384,539	600,854	179,649	463,273
SEM	171,971	268,71	80,3414	207,182

4.1.2. Tüm Gruplardaki Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Akson Alanı Bulguları

Tüm Gruplardaki deneklere ait ışık mikroskobik kesitlerde yapılan akson alanı ölçümlerinin stereolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde verilmiştir (Tablo 5, Şekil 23).



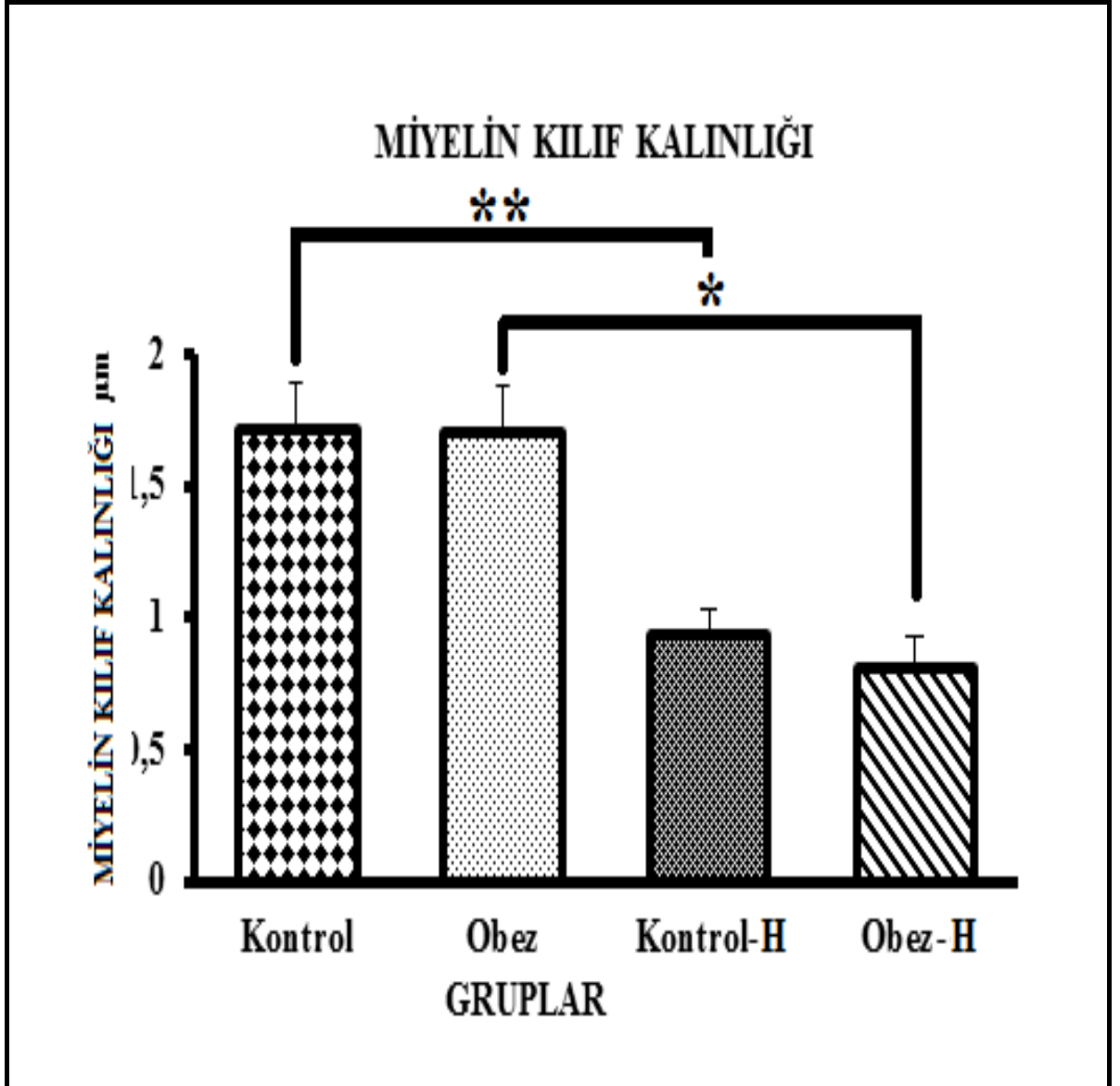
Şekil 23: Akson alanı bakımından grupların karşılaştırıldığı grafik. İlgili gruplar arasındaki *; $p < 0,05$ **; $p < 0,01$ istatistiksel anlamlılık seviyelerini göstermektedir

Tablo 5: K, KH, O, OH gruplarındaki herbir denekteki akson alanı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata

DENEK NO	KONTROL GRUBU (μm^2)	KONTROL-HASARLI GRUBU (μm^2)	OBEZ GRUBU (μm^2)	OBEZ-HASARLI GRUBU (μm^2)
1	38,08	4695	4738	3812
2	44,32	4479	4855	4452
3	43,34	4453	5082	3240
4	41,02	4413	4943	3472
5	37,98	4037	4618	3930
6	41,99	3938	4766	3768
Ortalama	41,12	4336	4834	3779
DK	0,05814	0,15256	0,03769	0,12295
SS	2,39118	600,854	179,649	463,273
SEM	0,9762	268,71	80,3414	207,182

4.1.3. Tüm Gruplardaki Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Miyelin Kılıf Kalınlığı Bulguları

Tüm gruplardaki deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan miyelin kılıf kalınlığı ölçümlerinin stereolojik analizi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde verilmiştir (Tablo 6, Şekil 24).



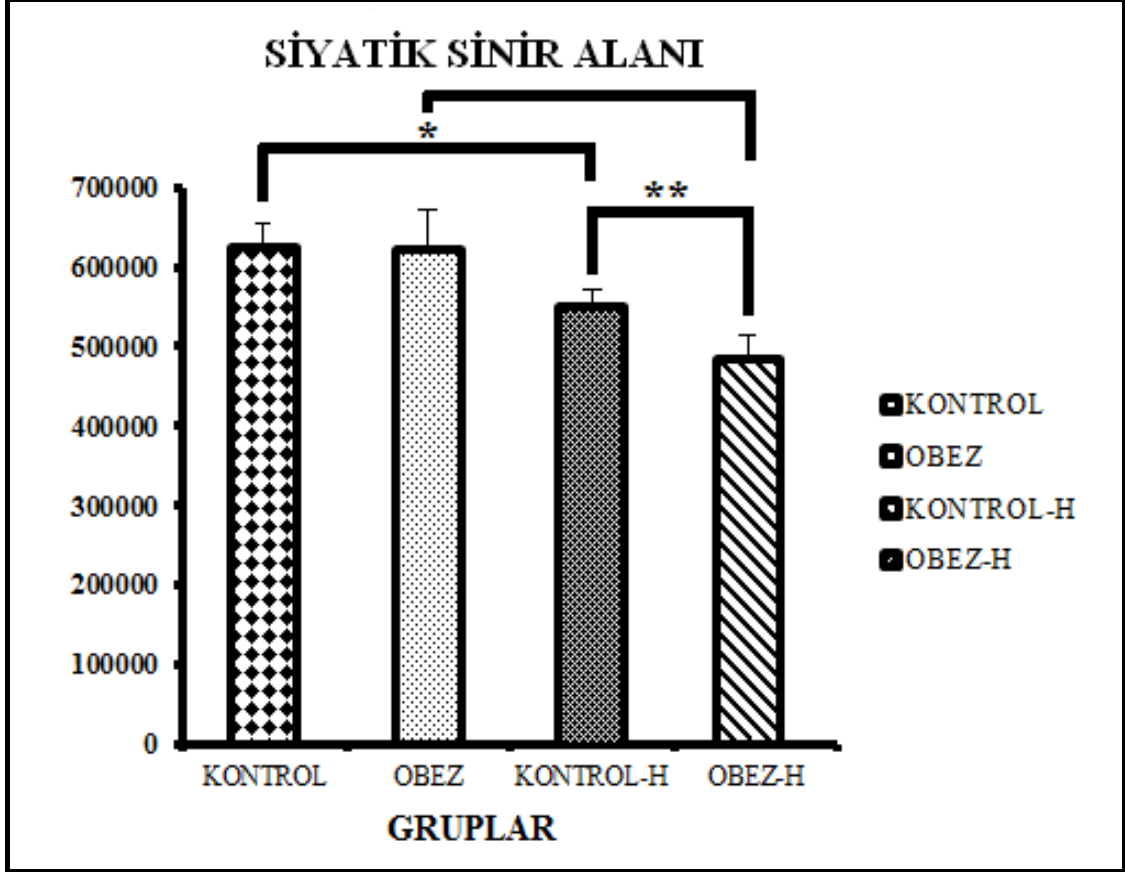
Şekil 24: Miyelin kılıf kalınlığı bakımından grupların karşılaştırılmasını gösteren grafik. İlgili gruplar arasındaki *; $p < 0,05$ **; $p < 0,01$ istatistiksel anlamlılık seviyelerini göstermektedir.

Tablo 6: K, KH, O, OH gruplarındaki herbir denekte miyelin kılıf kalınlığı, herbir gruptaki ortalama miyelin kılıf kalınlığı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata

DENEK NO	KONTROL GRUBU (µm)	KONTROL-HASARLI GRUBU (µm)	OBEZ GRUBU (µm)	OBEZ-HASARLI GRUBU (µm)
1	1,446	0,935	1,092	0,874
2	1,480	0,941	1,856	0,781
3	1,912	0,979	1,877	0,522
4	1,704	0,895	1,734	0,891
5	1,867	0,995	1,757	0,994
6	1,907	0,872	1,868	0,814
Ortalama	1,719	0,936	1,697	0,813
DK	0,096	0,410	0,158	0,409
SS	0,165	0,384	0,267	0,383
SEM	0,063	0,157	0,109	0,156

4.1.4. Siyatik sinir Alanı

Her bir kesitteki siyatik sinir alanı ölçüldü. Ortalama siyatik sinir alanı ile ilgili olarak elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve grafikte gösterilmiştir (Tablo 7, Şekil 25).



Şekil 25: Tüm grupların siyatik sinir alanlarını gösteren grafik. İlgili gruplar arasındaki *; $p < 0,05$ **; $p < 0,01$ istatistiksel anlamlılık seviyelerini göstermektedir.

Tablo 7: Tüm grupların ortalama siyatik sinir alanlarını göstermektedir

Gruplar	Siyatik Sinir Alanı (μm^2)
Kontrol	624918,2
Obez	622109,4
Kontrol-Hasarlı	554110
Obez-Hasarlı	487998,3

4.2. STEREOLOJİK ANALİZLERİN İSTATİSTİKSEL AÇIDAN YORUMLANMASI

- 1-** Akson sayısı bakımından Kontrol ve Obez Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (One Way ANOVA, Bonferroni Post-Hoc Test; $p > 0,05$).
- 2-** Akson sayısı Kontrol grubuna göre Kontrol-Hasarlı grubunda azaldı ve fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$).
- 3-** Akson sayısı Obez grubuna göre Obez -Hasarlı grubunda azaldı ve fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$).
- 4-** Akson sayısı Kontrol-Hasarlı grubuna göre Obez -Hasarlı grubunda azaldı ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$).
- 5-** Akson alanı bakımından Kontrol ve Obez Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).
- 6-** Akson alanı Kontrol grubuna göre Kontrol-Hasarlı grubunda azaldı ve fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$).
- 7-** Akson alanı Obez grubuna göre Obez -Hasarlı grubunda azaldı ve fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$).
- 8-** Akson alanı Kontrol-Hasarlı grubuna göre Obez -Hasarlı grubunda azaldı ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$).
- 9-** Miyelin kılıf kalınlığı bakımından Kontrol ve Obez Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).
- 10-** Miyelin kılıf kalınlığı Kontrol grubuna göre Kontrol-Hasarlı grubunda azaldı ve fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$).
- 11-** Miyelin kılıf kalınlığı Obez grubuna göre Obez -Hasarlı grubunda azaldı ve fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$).
- 12-** Miyelin kılıf kalınlığı bakımından Kontrol-Hasarlı ve Obez -Hasarlı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

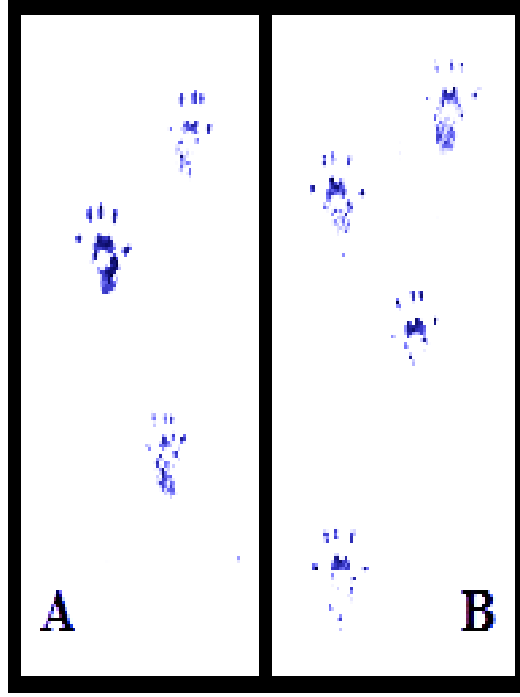
4.3. FONKSİYONEL DEĞERLENDİRME BULGULARI

4.3.1. SFİ (Sinir Fonksiyon İndeksi) Bulguları

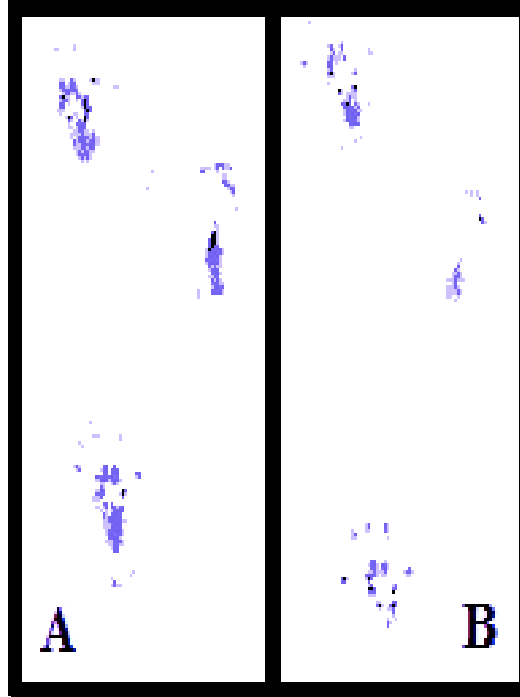
Hasar verilecek olan kontrol ve obez grupları deney öncesi yürüyüş yolunda yürütülerek 0. gün değerleri kaydedildi. Tüm gruplarda ortalama deney öncesi 0. gün SFİ değeri (SFİ0) -3.58 olarak saptandı (Tablo 7). Gruplar arasında SFİ0 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Tablo 7: Tüm gruplardan farklı günlerde elde edilen ortalama SFİ değerlerini göstermektedir.

Günler	Kontrol-hasarlı SFİ Değeri	Obez-hasarlı SFİ Değeri
0	-3,1	-3,99
7	-80,27	-86,71
14	-58,50	-61,56
21	-42,25	-44,45
28	-29,43	-32,04

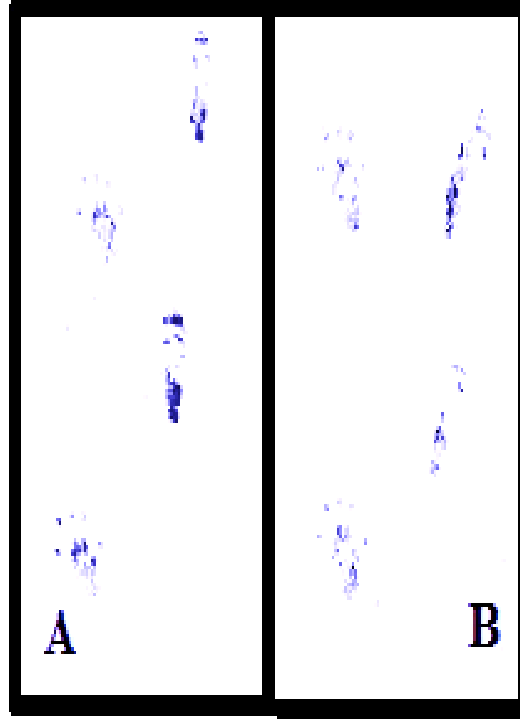


Şekil 26: SFİ-0 ölçümlerinde kullanılan hasar öncesi ayak izlerinden örnekler. A: Kontrol grubu (hasar öncesi), B: Obez grubu (hasar öncesi)

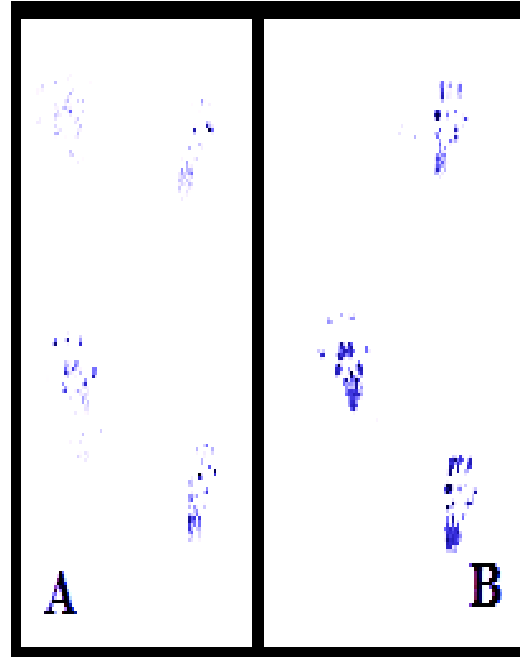


Şekil 27: SFİ-7 ölçümlerinde kullanılan hasar sonrası 7.gün ayak izlerinden örnekler. A: Kontrol-hasarlı grubu, B: Obez-hasarlı grubu

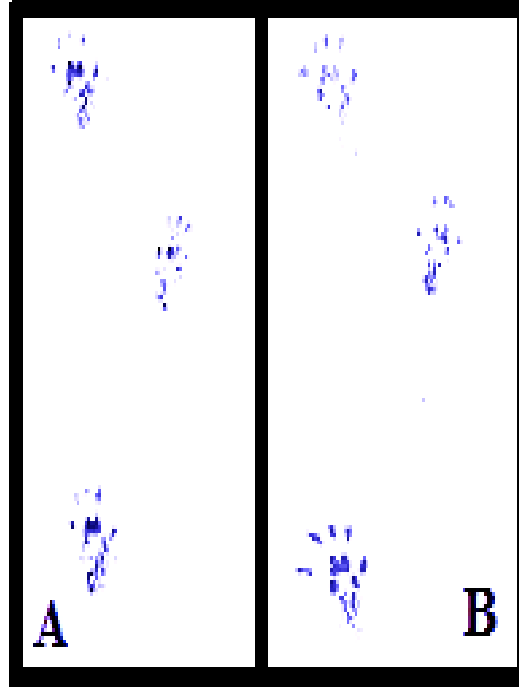
Haftalara göre gruplardan alınan ayak izi örnekleri Şekil 26-30'da karşılaştırmalı şekilde gösterilmektedir



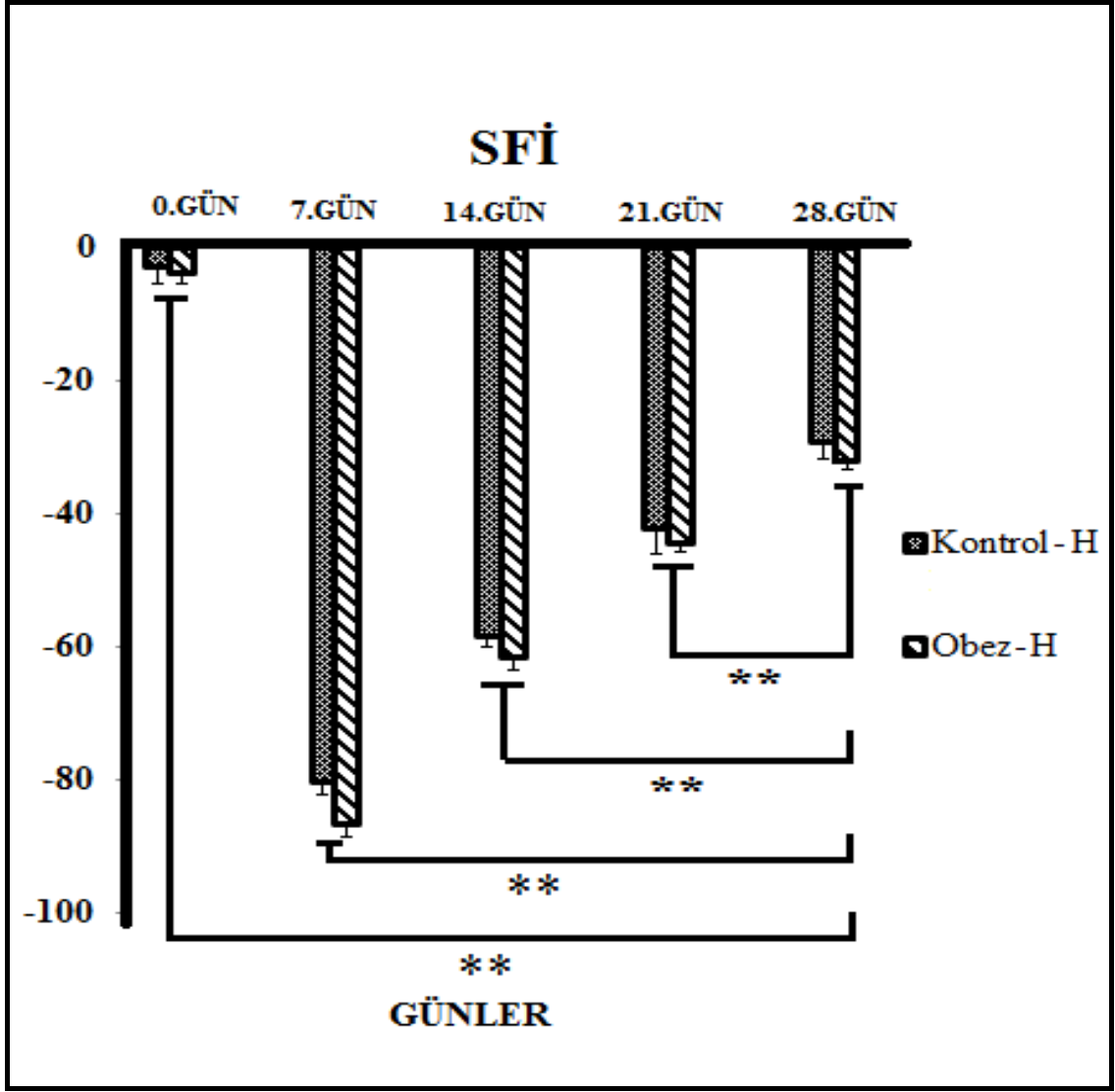
Şekil 28: SFİ-14 ölçümlerinde kullanılan hasar sonrası 14.gün ayak izlerinden örnekler. A: Kontrol-hasarlı grubu, B: Obez-hasarlı grubu



Şekil 29: SFİ-21 ölçümlerinde kullanılan hasar sonrası 21.gün ayak izlerinden örnekler. A: Kontrol-hasarlı grubu, B: Obez-hasarlı grubu



Şekil 30: SFİ-28 ölçümlerinde kullanılan hasar sonrası 28.gün ayak izlerinden örnekler. A: Kontrol-hasarlı grubu, B: Obez-hasarlı grubu



Şekil 31: SFİ değerlerinin gruplar arası günlere göre karşılaştırılmasını gösteren grafik

SFİ bulguları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde (Şekil 31), hasar öncesi yani 0.gün, hasar sonrası 7, 14, 21, 28. günler kontrol ve obez grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Bağımsız Örnekler T Testi; $p > 0,05$).

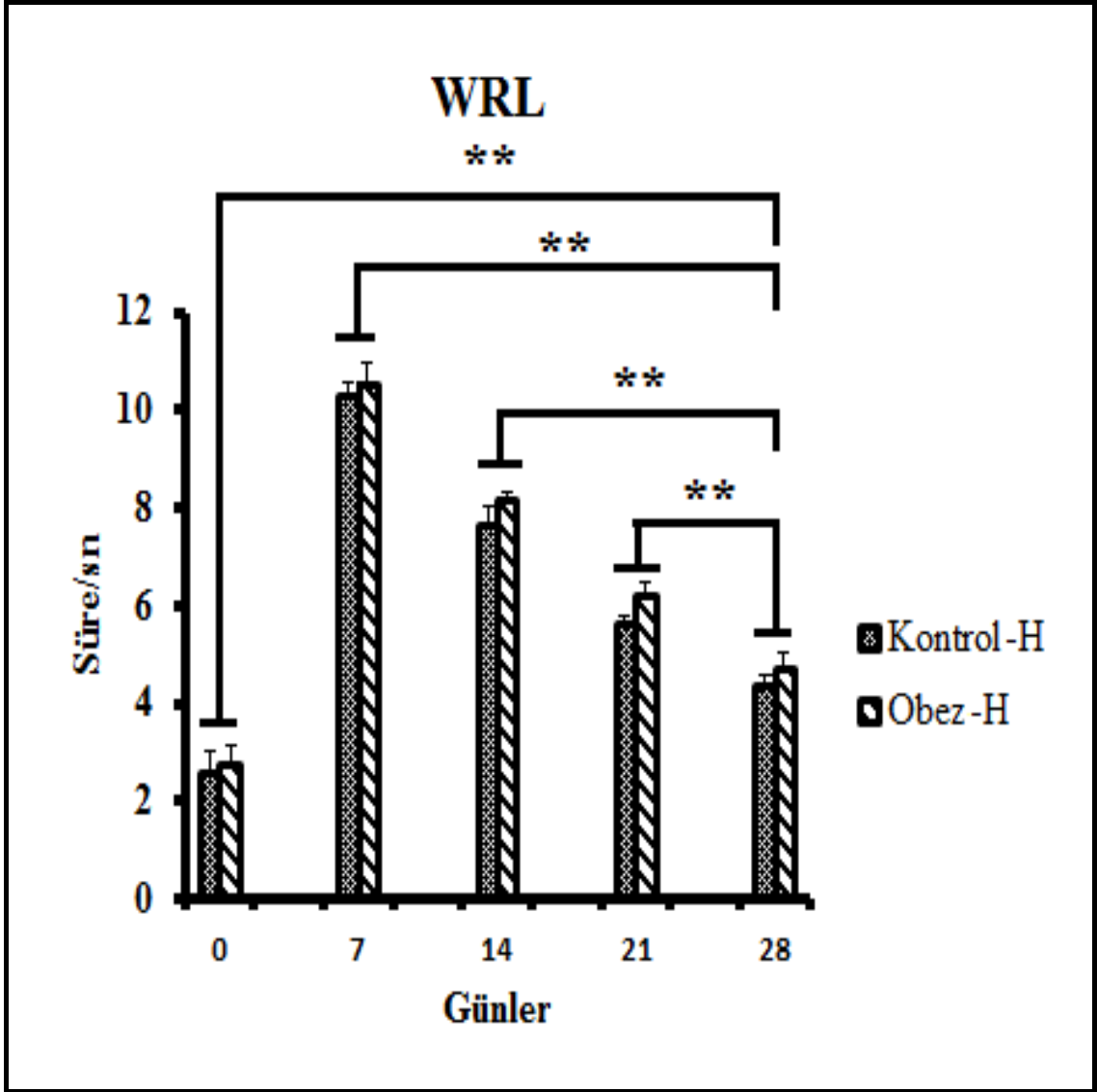
Kontrol-hasarlı grubunda 0, 7, 14, 21. günler 28. gün ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$). Obez-hasarlı grubunda 0, 7, 14, 21. günler 28. gün ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$). Çünkü rejenerasyon sürecinde sinir iyileşmesine bağlı olarak ayak izleri hasar anından 28. güne kadar giderek düzeldi, fakat tam normale dönmedi.

4.3.2. WRL (Ayak Geri Çekme Refleksi) Bulguları

Deney öncesi tüm deneklerin sağ bacaklarından 0. Gün WRL değerleri ölçülerek kaydedildi. Ortalama WRL süresi 2,6 saniye olarak saptandı. Daha sonra 7 gün ara ile hem Kontrol-hasarlı hem de Obez-hasarlı grupların sağ ayaklarından alınan WRL ölçümleri gruplar arasında birbirleri ile karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 8 ve Şekil 32’de gösterilmektedir.

Tablo 8: Kontrol-hasarlı grubun günlere göre ortalama WRL değerleri

Günler	Kontrol-hasarlı WRL Değeri (sn)	Obez-hasarlı WRL Değeri (sn)
0	2,58	2,75
7	10,33	10,55
14	7,66	8,16
21	5,66	6,21
28	4,38	4,72



Şekil 32: WRL değerlerinin günlere göre gruplar arasında karşılaştırmasını gösteren grafik. İlgili gruplar arasındaki **; $p < 0,01$ istatistiksel anlamlılık seviyesini göstermektedir.

WRL bulguları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, hasar öncesi 0. ve hasar sonrası 7, 14, 21, 28. günlerde, kontrol ve obez grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Bağımsız Örnekler T Testi; $p > 0,05$). Kontrol-hasarlı grubunda 0,7, 14, 21. günler 28. gün ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Obez-hasarlı grubunda 0, 7, 14, 21. günler 28. gün ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Rejenerasyon sürecinde sinir iyileşmesine bağlı olarak ayak geri çekme refleksi hasar anından 28. güne kadar giderek düzeldi sonunda normale yakın süreler kaydedildi.

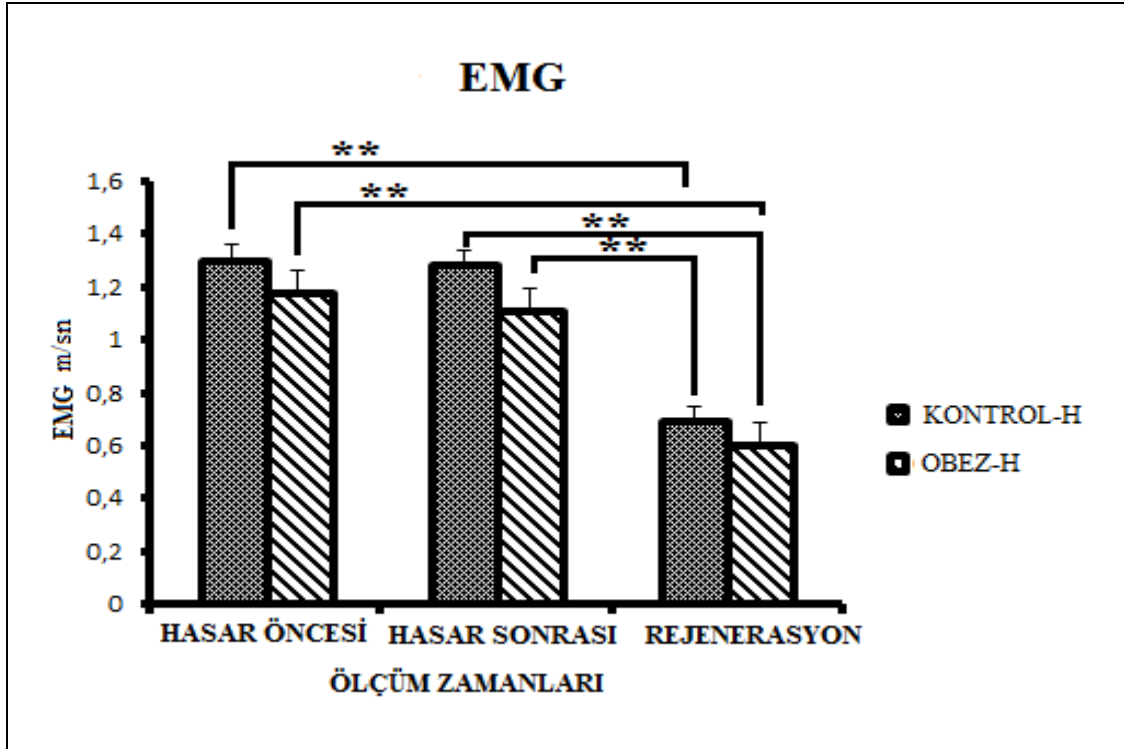
4.4. ELEKTROFİZYOLOJİK DEĞERLENDİRME BULGULARI

4.4.1. EMG

Ortalama EMG değerlerine göre grupların hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonucu elde edilen bulguları Tablo 9, Şekil 33’de gösterilmiştir.

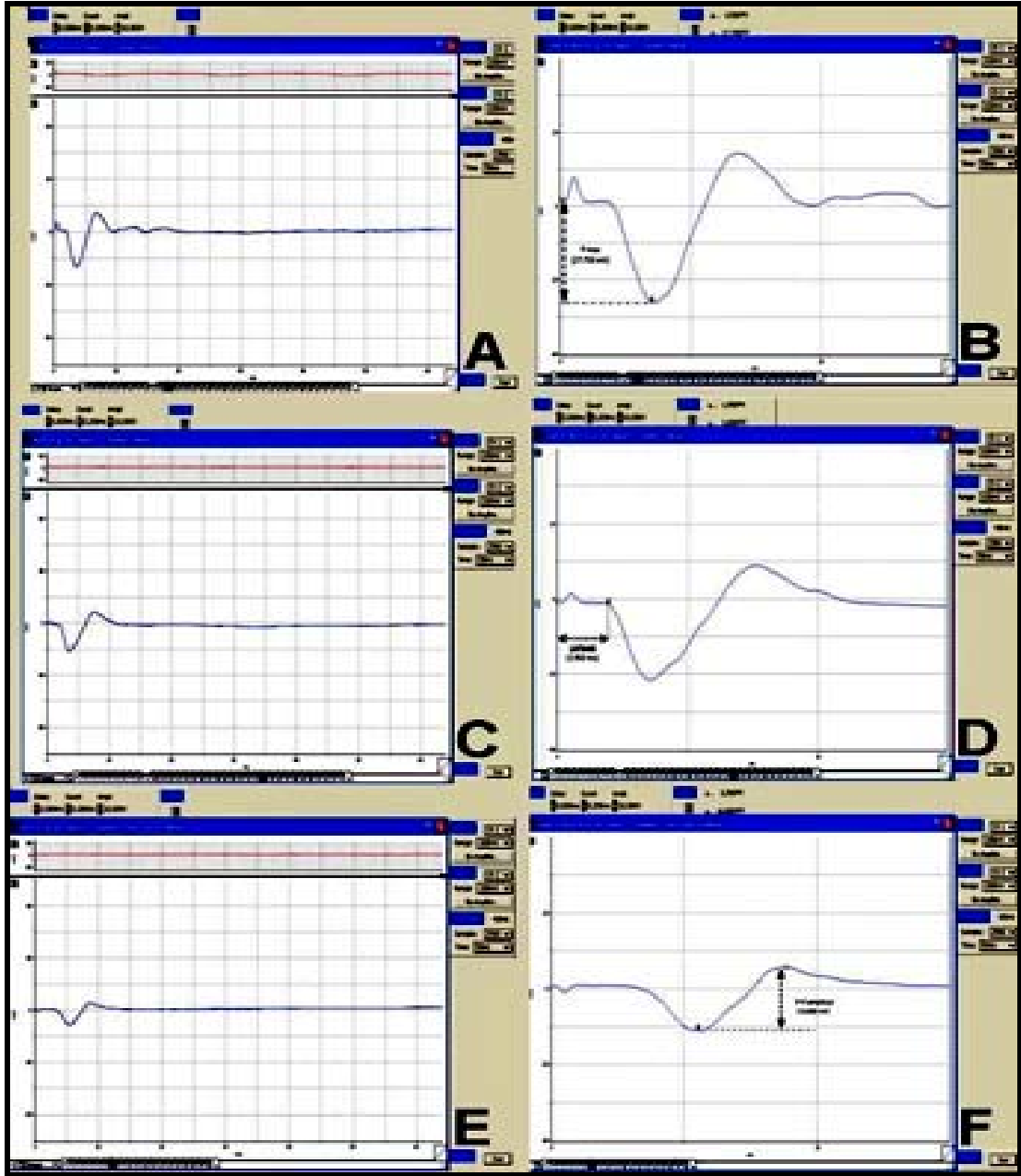
Tablo 9: Ortalama EMG hızlarına göre grupların hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonucu elde edilen bulguları

Değerlendirme Zamanı	Kontrol EMG (m/sn)	Obez EMG (m/sn)
Hasar Öncesi	1,30	1,18
Hasar Sonrası	1,28	1,11
Rejenerasyon	0,69	0,6

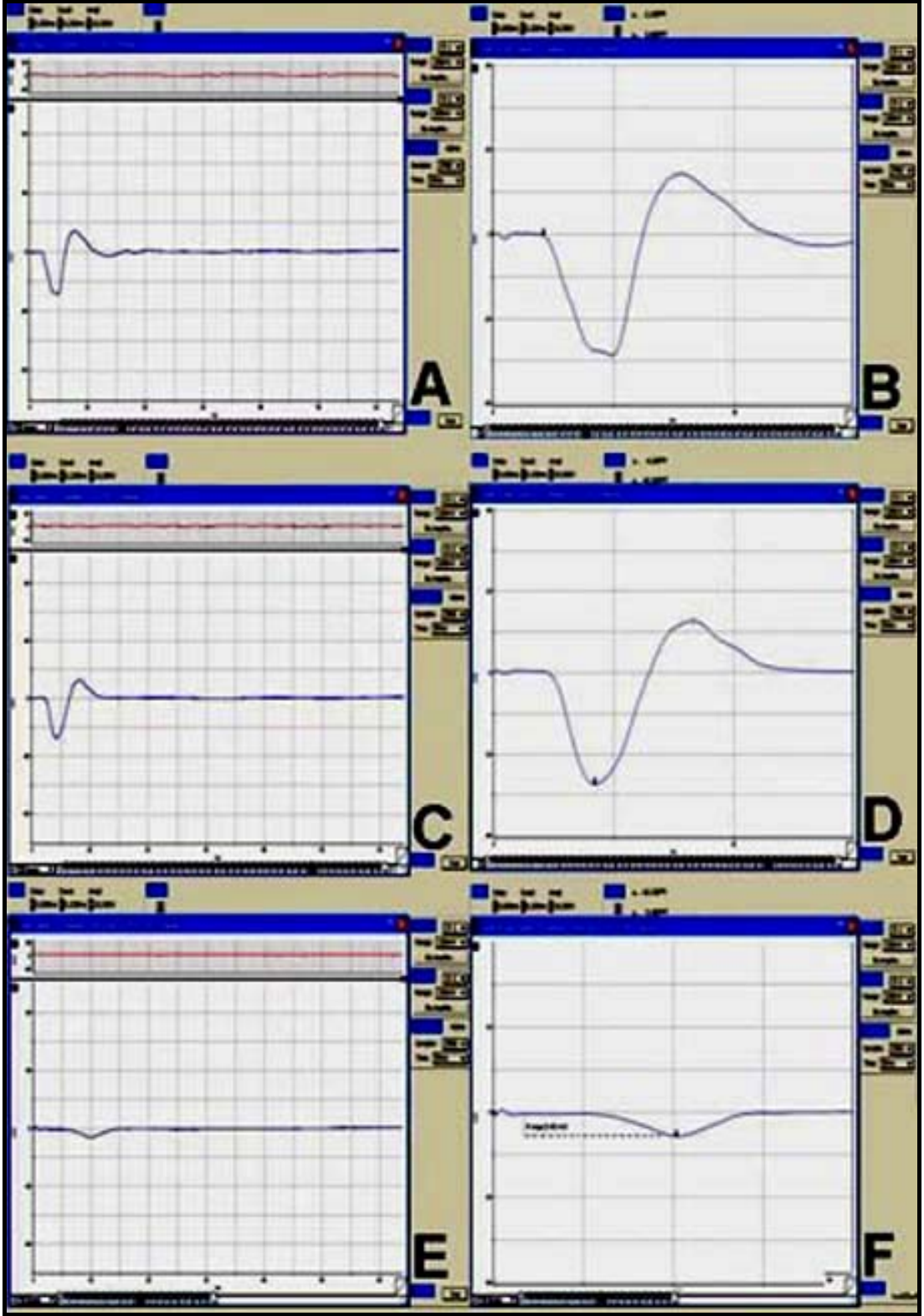


Şekil 33: EMG ölçümlerine göre grupların hasar öncesi, hasar sonrası, rejenerasyon sonucu bulgularını karşılaştıran grafik. İlgili gruplar arasındaki **; $p < 0,01$ istatistiksel anlamlılık seviyelerini göstermektedir.

Scope bilgisayar programında, EMG değerlerine göre grupların hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonucu elde edilen bulguları Şekil 34-35’de gösterilmiştir.



Şekil 34: Kontrol EMG ölçümleri. A, Kontrol grubu hasar öncesi EMG . B, Kontrol grubu hasar öncesi EMG büyütülmüş görüntüsü. C, Kontrol grubu hasar sonrası EMG . D, Kontrol grubu hasar sonrası EMG'nin büyütülmüş görüntüsü. E, Kontrol grubu rejenerasyon sonrası EMG . F, Kontrol grubu rejenerasyon sonrası EMG'nin büyütülmüş görüntüsü



Şekil 35: Obez EMG ölçümleri. A, Obez grubu hasar öncesi EMG. B, Obez grubu hasar öncesi EMG'nin büyütülmüş görüntüsü. C, Obez grubu hasar sonrası EMG. D, Obez grubu hasar sonrası EMG'nin büyütülmüş görüntüsü. E, Obez grubu rejenerasyon sonrası EMG. F, Obez grubu rejenerasyon sonrası EMG'nin büyütülmüş görüntüsü

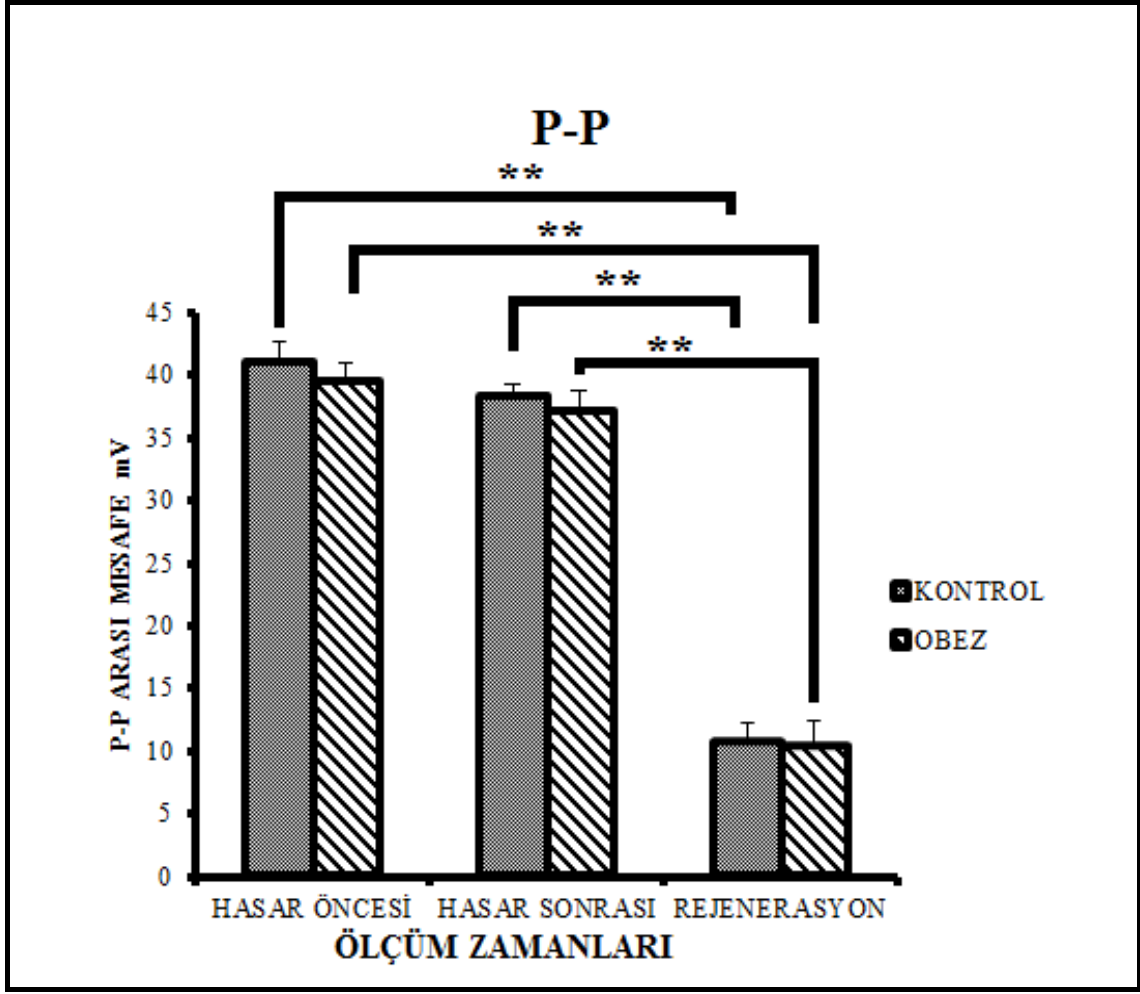
Hasarlı gruplara hasar öncesi, hasarın hemen sonrasında ve rejenerasyonu takiben uygulanan EMG bulgularında; Kontrol hasar öncesi ölçümleri ile, kontrol hasar sonrası ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Bağımsız Örnekler T Testi; $p > 0,05$). Obez hasar öncesi ve obez hasar sonrası ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol hasar öncesi ve sonrası ile rejenerasyon arasında görülen azalma istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$). Obez hasar öncesi ve sonrası ile rejenerasyon arasındaki azalma da istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$). Bu da rejenerasyon sonucu kasların atrofiye uğrağını gösterir. Kontrol ve obez gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

4.4.2. Pozitif ve Negatif Pikler Arası Mesafe (P-P Arası Mesafe) Değerleri

Pozitif ve negatif pikler arası mesafe (p-p arası mesafe) ve maksimum pozitif pik (p-max) değerleri gruplar arasında karşılaştırıldı (Tablo 10; Şekil 36).

Tablo 10: Ortalama p-p arası mesafelerine göre grupların hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonucu elde edilen bulguları

Değerlendirme Zamanı	Kontrol P-P Arası Mesafe (mV)	Obez P-P Arası Mesafe (mV)
Hasar Öncesi	41,05	39,48
Hasar Sonrası	38,45	37,10
Rejenerasyon	10,68	10,38



Şekil 36: P-P arası mesafelerine göre grupların hasar öncesi, hasar sonrası, rejenerasyon sonucu bulgularını karşılaştıran grafik. İlgili gruplar arasındaki **; $p < 0,01$ istatistiksel anlamlılık seviyelerini göstermektedir.

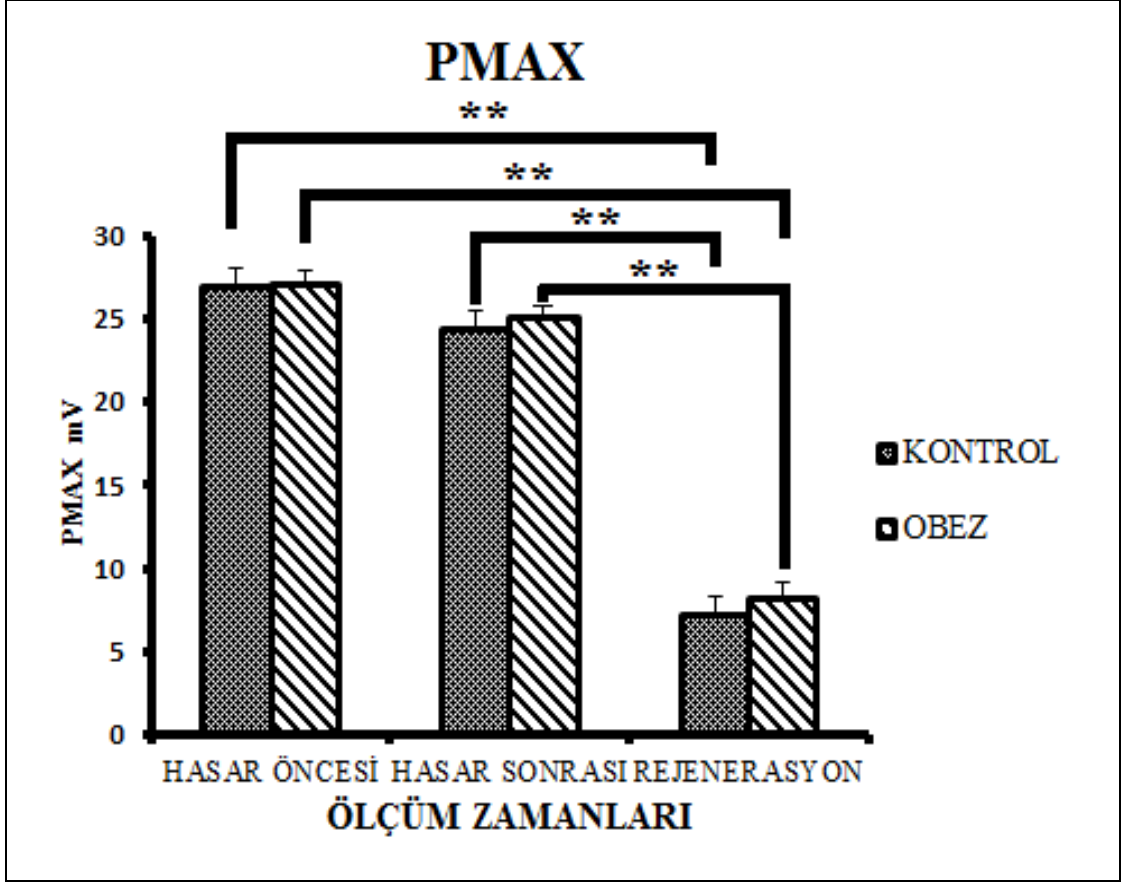
İstatistiksel olarak P-P arası mesafe bulgularında; Kontrol ve Obez gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (Bağımsız Örnekler T Testi; $p > 0,05$). Kontrol hasar öncesi ve sonrası ile rejenerasyon sonucu ölçümleri arasında azalma istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$). Obez hasar öncesi ve sonrası ile rejenerasyon sonrası arasındaki azalma istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$).

4.4.3. Maksimum Pozitif Pik (P-Max) Değerleri

Maksimum pozitif pik (p-max) değerleri gruplar arasında karşılaştırıldı. Elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde sunulmuştur (Tablo 11; Şekil 37).

Tablo 11: Ortalama p-max değerlerine göre grupların hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonucu elde edilen bulguları

	Kontrol P-Max (mV)	Obez P-Max (mV)
Hasar Öncesi	26,91	27,08
Hasar Sonrası	24,35	25,14
Rejenerasyon	7,14	8,24



Şekil 37: P-max değerlerine göre grupların hasar öncesi, hasar sonrası, rejenerasyon sonucu bulgularını karşılaştıran grafik. İlgili gruplar arasındaki *; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$ istatistiksel anlamlılık seviyelerini göstermektedir.

İstatistiksel olarak P-max bulgularında; Kontrol ve obez gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (Bağımsız Örnekler T Testi; $p > 0,05$). Kontrol hasar öncesi ve sonrası ile rejenerasyon sonrası azalma istatistiksel olarak çok anlamlıdır ($p < 0,01$). Obez hasar öncesi ve sonrası ile rejenerasyon sonrası azalma istatistiksel olarak çok anlamlıdır ($p < 0,01$). Obez hasar öncesi ve Obez hasar sonrası ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol hasar öncesi ve Kontrol hasar sonrası ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

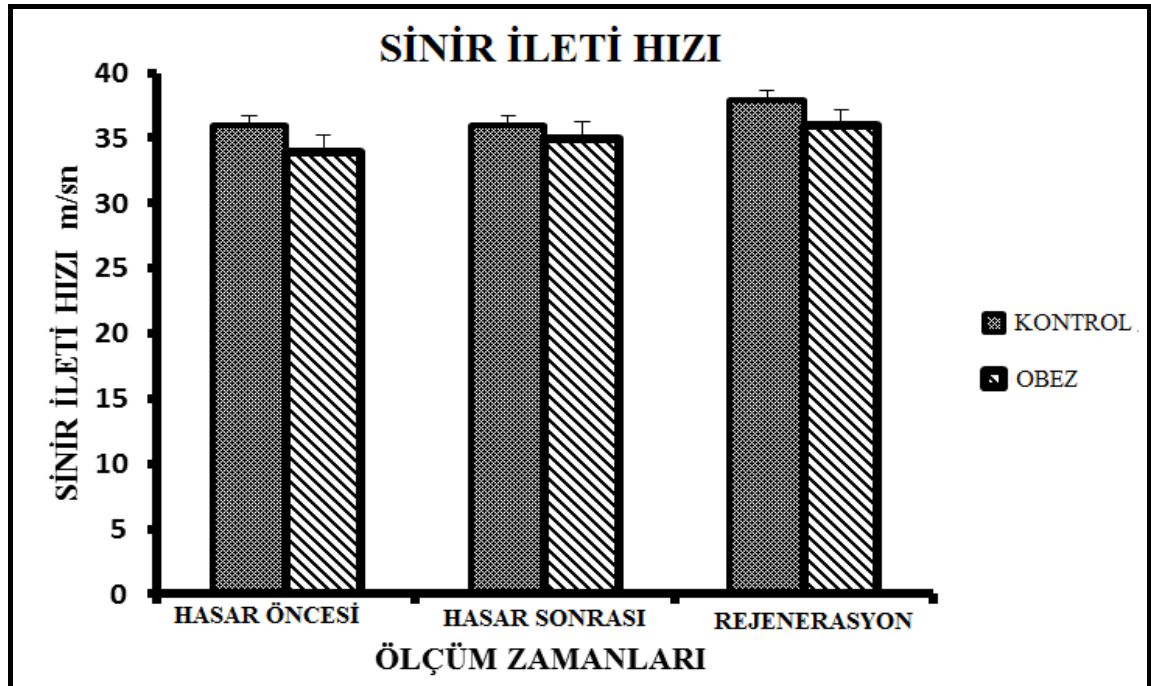
4.4.4. Sinir İleti Hızı Bulguları

Aksiyon potansiyeli amplitüdü ve latans değerleri ölçüldü. İleti hızı, uyarı ve kayıt elektrotları arasındaki mesafenin, başlangıç latansına bölünmesi ile hesaplandı (metre/saniye). İstatistiksel olarak, hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonucu

kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı grupları arasında sinir ileti hızı bulgularında anlamlı bir fark bulunmamıştır($p > 0,05$.Tablo 12, Şekil 38).

Tablo 12: Sinir ileti hızlarının gruplara göre hasar öncesi, hasar sonrası, rejenerasyon sonucu ortalama değerleri

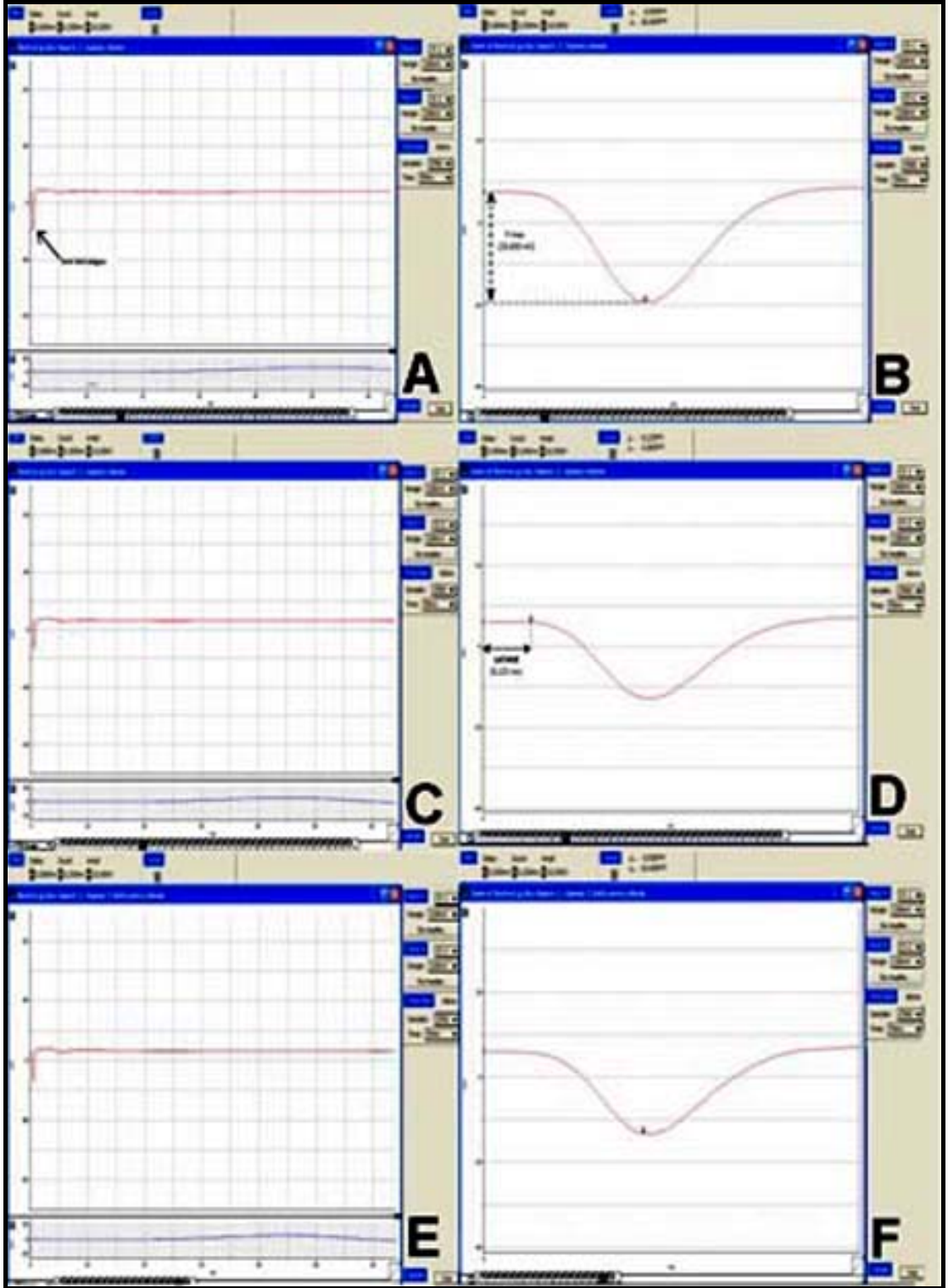
Ölçüm Zamanı	Kontrol Grubu Ortalama Sinir İleti Hızı (m/sn)	Obez Grubu Ortalama Sinir İleti Hızı (m/sn)
Hasar Öncesi	36	34
Hasar Sonrası	36	35
Rejenerasyon	38	36



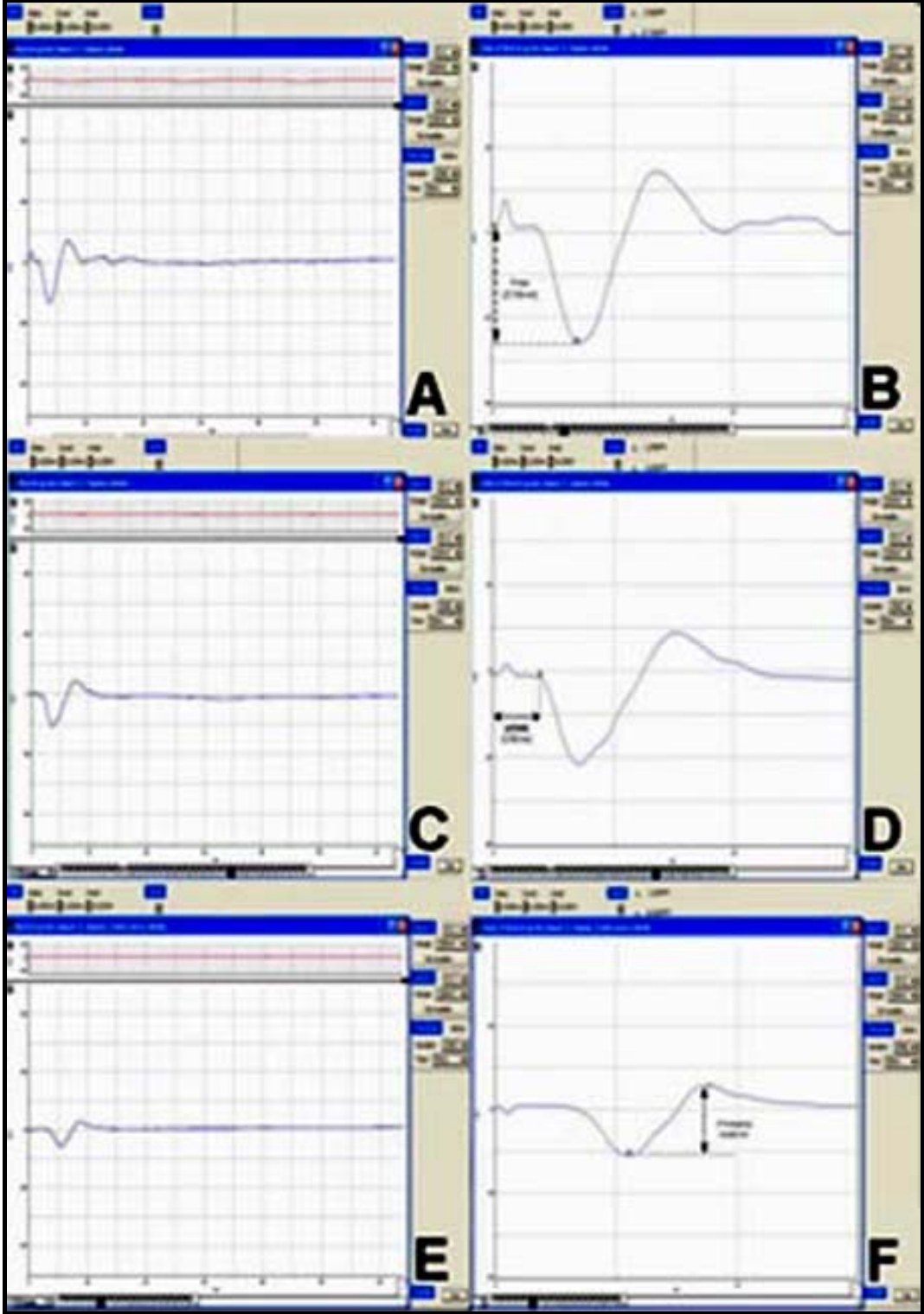
Şekil 38: Sinir ileti hızının gruplar arası, hasar öncesi, hasar sonrası, rejenerasyon sonuçlarının karşılaştırılması

Hasar öncesi, sonrası ve rejenerasyon süreci sonunda Kontrol ve Obez gruplarının sinir ileti hızları arasında anlamlı bir fark yoktu.

Scope bilgisayar programında, Sinir ileti hızı ölçümlerine göre grupların hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonucu elde edilen bulguları Şekil 39-40'da gösterilmiştir.



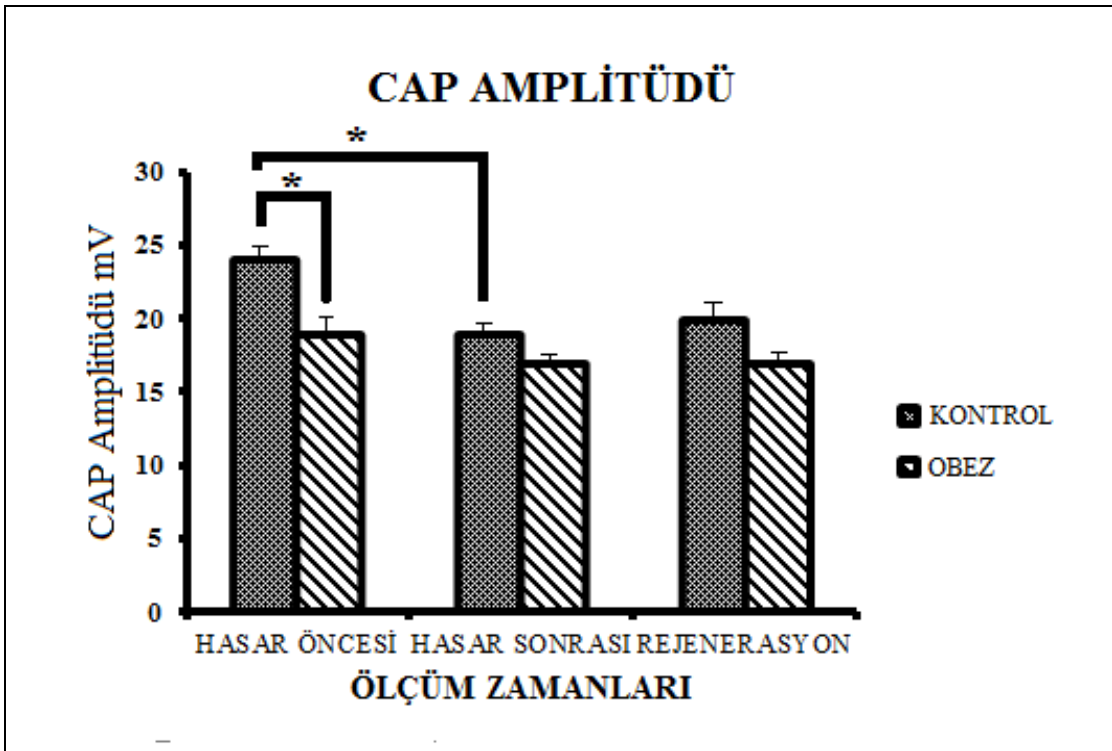
Şekil 39: Kontrol grubu sinir ileti hızı ölçümleri. A, Kontrol grubu hasar öncesi sinir ileti hızı. B, Kontrol grubu hasar öncesi sinir ileti hızının büyütülmüş görüntüsü. C, Kontrol grubu hasar sonrası sinir ileti hızı. D, Kontrol grubu hasar sonrası sinir ileti hızının büyütülmüş görüntüsü. E, Kontrol grubu rejenerasyon sonrası sinir ileti hızı. F, Kontrol grubu rejenerasyon sonrası sinir ileti hızının büyütülmüş görüntüsünü göstermektedir.



Şekil 40: Obez grubu sinir ileti hızı ölçümleri. A, Obez grubu hasar öncesi sinir ileti hızı. B, Obez grubu hasar öncesi sinir ileti hızının büyütülmüş görüntüsü. C, Obez grubu hasar sonrası sinir ileti hızı. D, Obez grubu hasar sonrası sinir ileti hızının büyütülmüş görüntüsü. E, Obez grubu rejenerasyon sonrası sinir ileti hızı. F, Obez grubu rejenerasyon sonrası sinir ileti hızının büyütülmüş görüntüsünü göstermektedir.

Tablo 13: Bileşik aksiyon potansiyel (CAP) amplitüdünün gruplara göre hasar öncesi, hasar sonrası, rejenerasyon sonucu ortalama değerleri

	Kontrol Grubu Ortalama CAP Amplitüdü(mV)	Obez Grubu Ortalama CAP Amplitüdü(Amplitüdü (mV)
Hasar Öncesi	24	19
Hasar Sonrası	19	17
Rejenerasyon	20	17



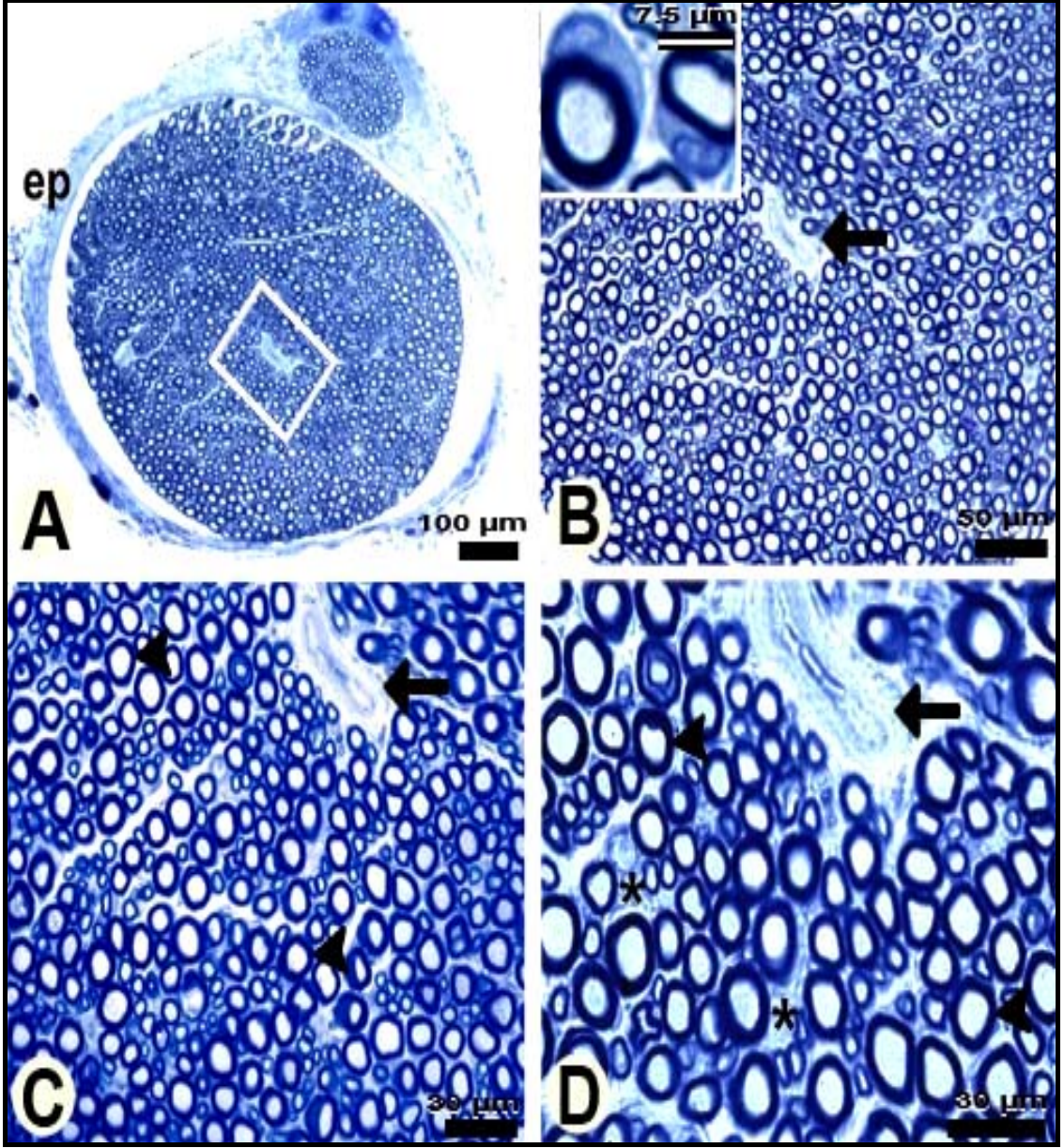
Şekil 41: CAP amplitüdünün gruplar arası, hasar öncesi, hasar sonrası, rejenerasyon sonucu karşılaştırılması

İstatistiksel olarak; hasar öncesi, kontrol grubunda obez grubundan daha büyük CAP amplitüdü ile bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Bağımsız Örnekler T Testi; $p < 0,05$). Kontrol hasar öncesi grubuna göre kontrol hasar sonrası grubun ölçümlerinde azalan CAP amplitüdü değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Post Hoc Test, Anova; $p < 0,05$). Hem hasar hem de rejenerasyon sonrasında kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı grupları arasında CAP amplitüdü bulguları açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 13, Şekil 41; Bağımsız Örnekler T Testi; $p > 0,05$).

4.5. HİSTOLOJİK BULGULAR

Toluidin Mavisi Boyası İle Elde Edilen Bulgular

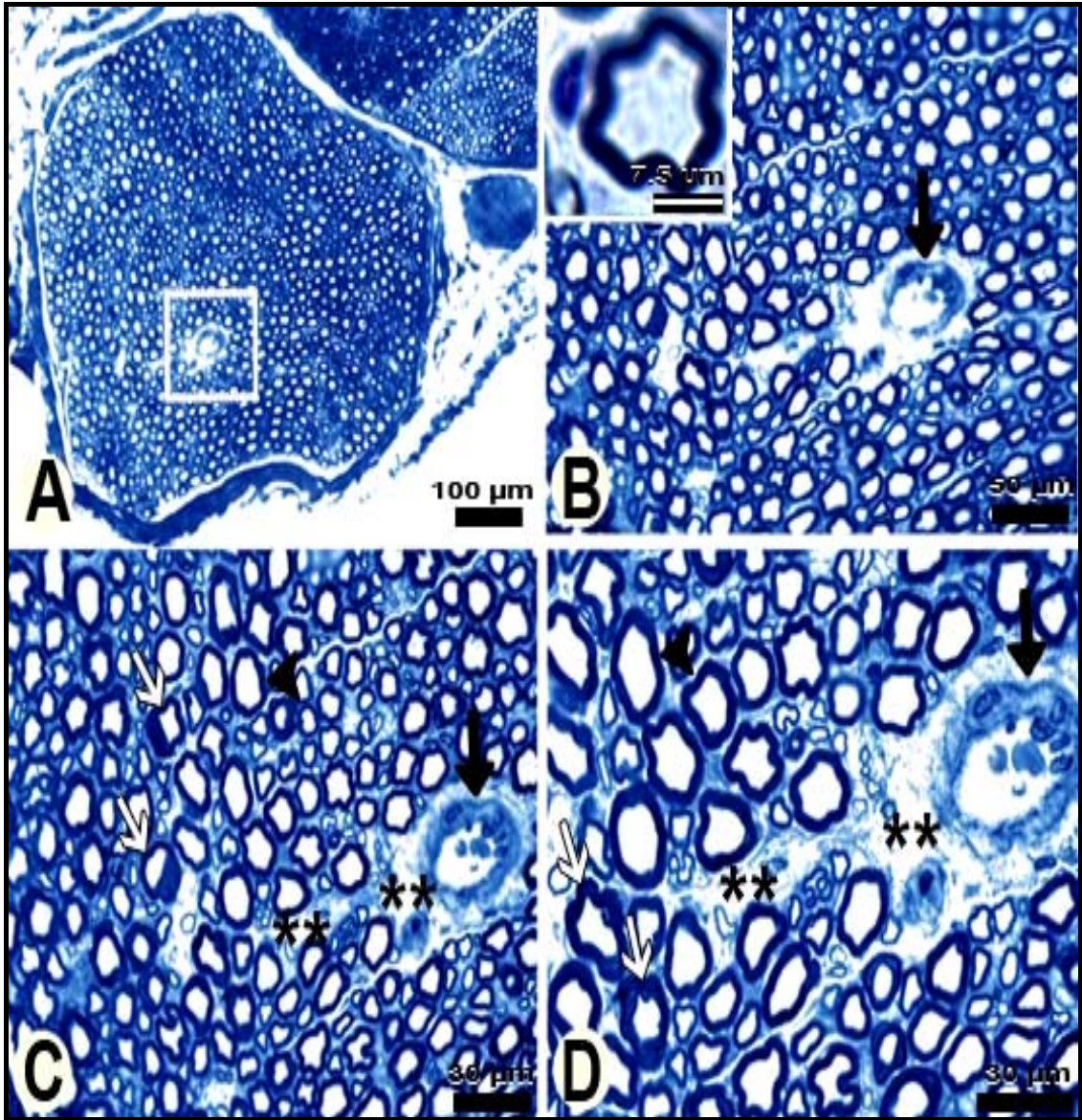
Kontrol grubuna ait siyatik sinir örneklerinin plastik bloklarından elde edilen ışık mikroskopik kesitlerine bakıldığında ilk dikkati çeken sinir lifi kesitlerinin büyük çaplı olmasıydı. Unifasiküler yapıdaki sinir dıştan fibrilli yapıdaki epinöryum ile çevriliydi. Bu tabakanın hemen altında perinöryum adlı bağ dokusu doldurmaktaydı. Aksonların etrafında gözlenen endonöryum sağlıklı görünümde idi. Aksonların çoğu miyelinli olup miyelin kılıfların sınırları düzenliydi. Miyelin kılıfları oluşturan Schwann hücreleri aksonların etrafında soluk mavi renkli sitoplâzmaları, ökromatik çekirdekleri ve belirgin çekirdekçikleri ile göze çarpıyordu. Sinir kesiti içerisinde damarlara da rastlanmaktaydı (Şekil 42).



Şekil 42: Kontrol grubuna ait ışık mikroskopik görüntüler izlenmektedir. Siyah ok; kan damarını, ok başı; sağlıklı görünümlü aksonları, *; endonöryumu, A daki beyaz çerçevesi alanın farklı büyütmelelerdeki görüntüsü B,C,D . B'deki küçük resim sağlıklı görünümlü Schwann hücrelerini göstermektedir. Boya: Toluidin mavisi.

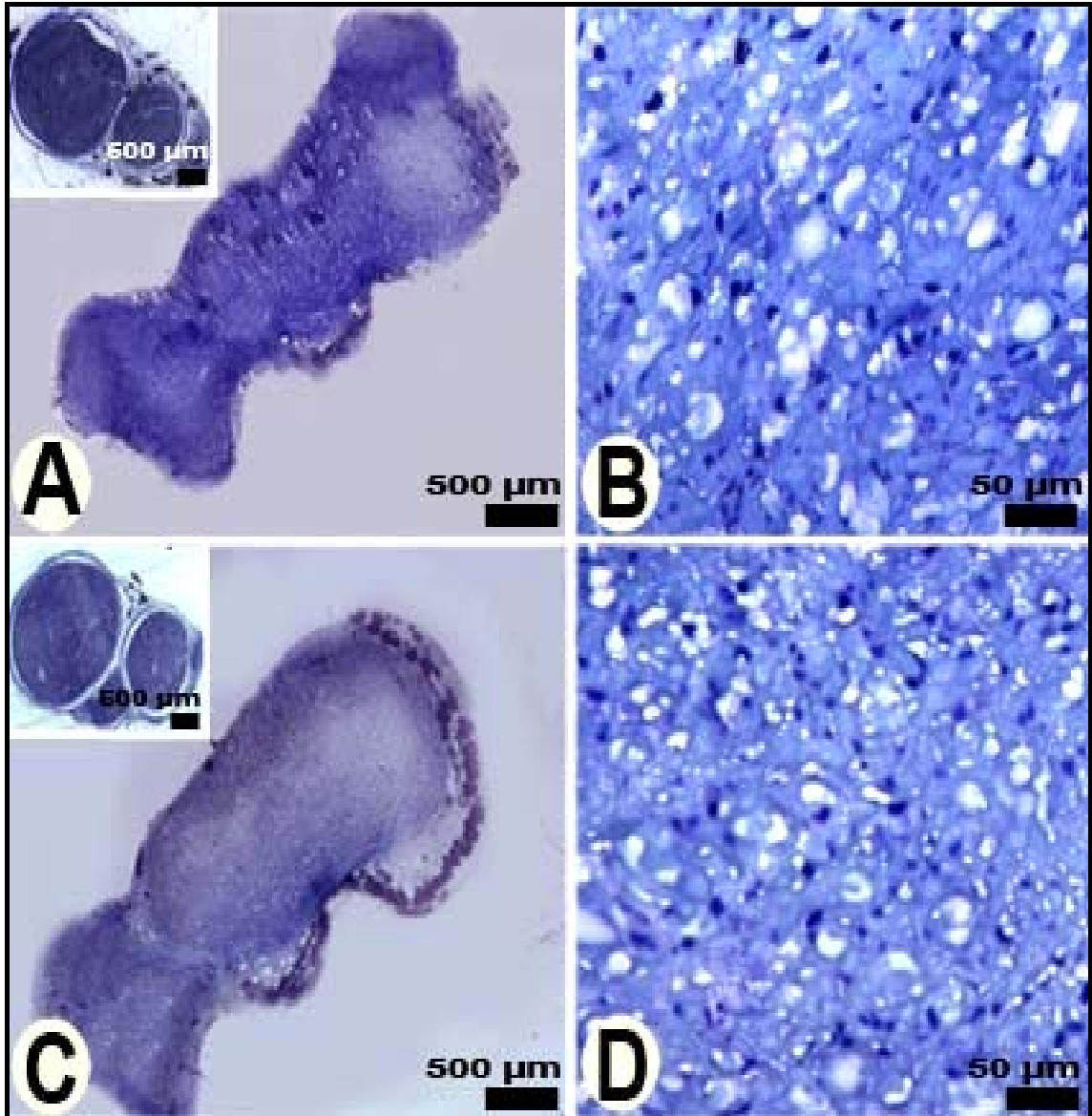
Obez grubundan elde edilen siyatik sinir örneklerinin ışık mikroskopik kesitlerine bakıldığında sinir kesitlerinin kontrol gruplarına benzer şekilde büyük çapta olduğu görüldü. Unifasiküler tipte olan sinirin etrafını dıştan ince, fibrilli yapıda olan epinöryum onun altında ise perinöryum tabakası bulunmaktadır. Perinöryum tabakası kontrol grubundakine kıyasla ve özellikle de perivasküler alanlarda genişlemiş gözüküyordu.

Benzer şekilde her bir sinir lifini tek tek çevreleyen endonöryum da kontrol grubundakinden daha belirgindi. Endonöryum içerisinde küçük çaplı damarlar da bulunuyordu. Aksonlar genellikle miyelinli olup; normal, sağlıklı görünümlü sinir lifleri arasında miyelin kılıfları düzenli yapısını kaybetmiş aksonlar da bulunmaktaydı. Ek olarak miyelin kılıfları oluşturan Schwann hücreleri de koyu boyanmış çekirdekleri ve kontrole kıyasla az miktarda olduğu gözlenen sitoplazmik içeriği ile hasarlı görünümdeydi (Şekil 43).



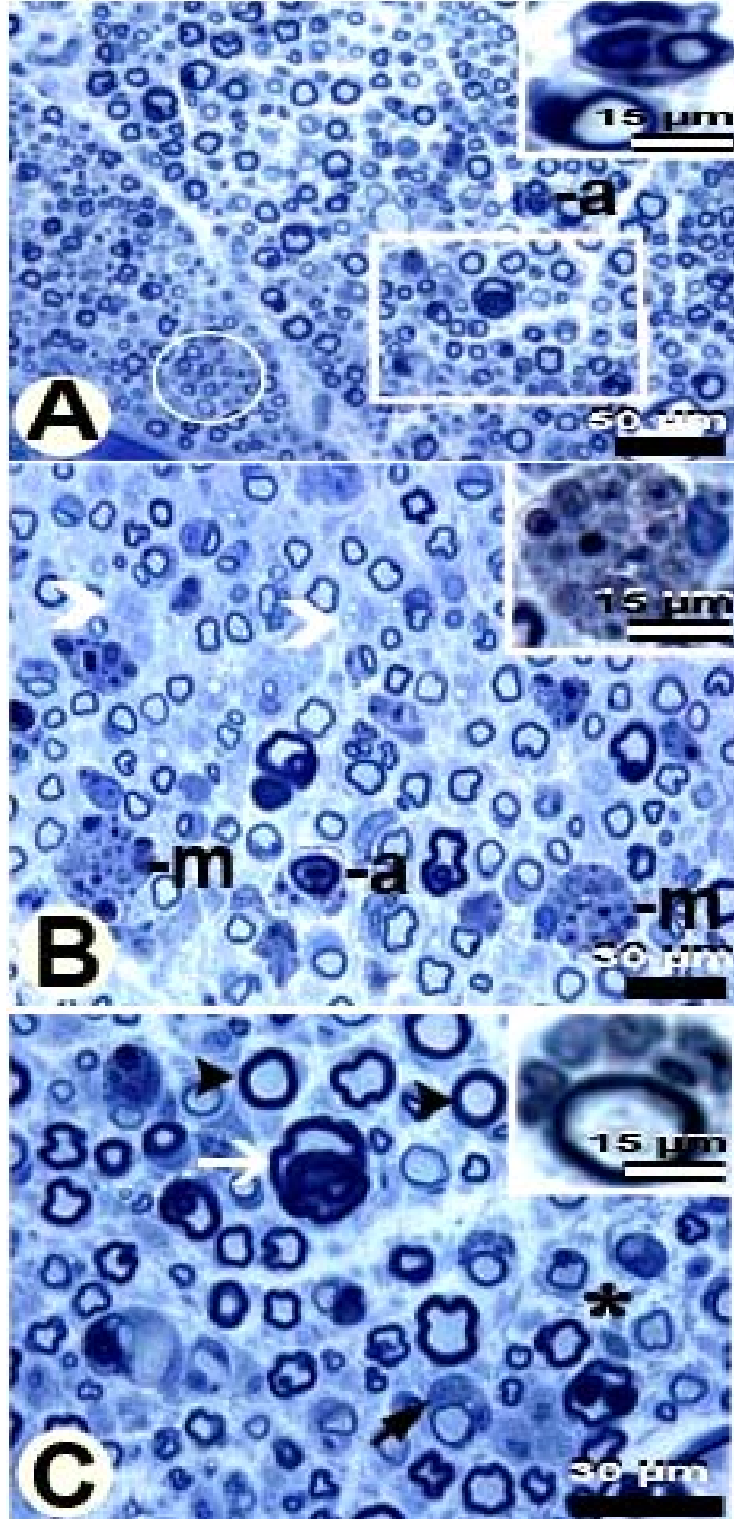
Şekil 43: Obez grubuna ait ışık mikroskobik görüntüler izlenmektedir. Siyah ok; kan damarını, ok başı; sağlıklı görünümlü aksonları, beyaz ok, hasarlanmış görünümlü aksonları**; genişlemiş perivasküler bağ dokusu alanları, A daki beyaz çerçeveli alanın farklı büyütmeledeki görüntüsü B,C,D. B'deki küçük resim koyu boyanmış çekirdekli ve sitoplazmadan yoksun Schwann hücrelerini göstermektedir. Boya: Toluidin mavisi.

Hem kontrol, hem de obez grubundaki deneklerin bir kısmı siyatik sinir hasarı oluşturulduktan hemen sonra sakrifiye edildi ve siyatik sinirleri çıkarıldı. Bu örneklerden elde edilen plastik dokuların toluidin mavisi ile boyanan kesitlerinde siyatik sinirlerin portekünün uç biçimi ile paralel şekilde ezilmişti ve olağan görünümünü kaybetmişti. Bu kesitlere yüksek büyütmede bakıldığında ise aksonların ve miyelin kılıfların seçilemediği görüldü. Endonöryum içeriği yoğun gözükmekteydi ve bu bölgede bulunan hücrelerin çekirdekleri de koyu boyanmıştı (Şekil 44).



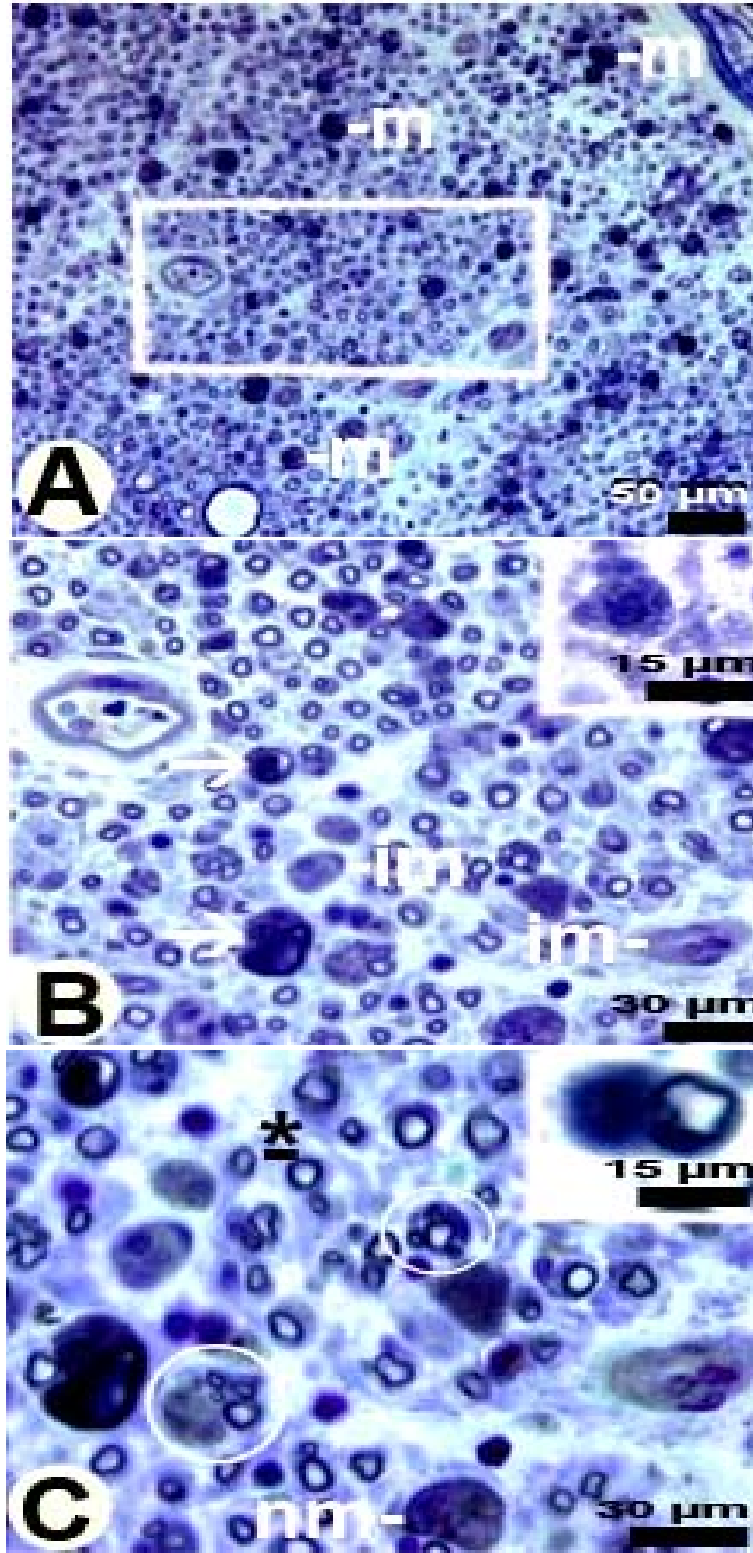
Şekil 44: Hem kontrol (A-B) hem de obez (C-D) grubundan siyatik sinir hasarı oluşturulmasını takiben elde edilen ışık mikroskopik görüntüler izlenmektedir. B ve D; A ve C deki örneklerin büyük büyütmelerde elde edilmiş ışık mikrograflarını göstermektedir. A ve C'deki küçük resimler; sırasıyla kontrol ve obez grubundaki hasarlandırılmamış siyatik sinir örneklerinden elde edilmiş ışık mikrografları göstermektedir. Boya: Toluidin mavisi.

Rejenerasyon sürecinin ardından kontrol grubundan elde edilen siyatik sinir örneklerinin ışık mikroskopik kesitlerinde çok sayıda küçük çaplı aksonun varlığı dikkat çekiciydi. Bu küçük çaplı aksonlar bazı alanlarda rejenerasyonu gösterir tarzda geniş çaplı ve sağlıklı görünümlü aksonların etrafında hilal şeklinde yerleşmekteydi. Söz konusu küçük çaplı aksonlar arasında daha geniş çaplı aksonlar da bulunmaktaydı. Bunun yanında kimi geniş çaplı aksonlar, içlerinde miyelin yığınlarını içermekteydi. Miyelinli aksonların arasında sıklıkla miyelinsiz aksonlar da bulunmaktaydı. Ayrıca endonöryum içerisinde dejenere aksonları çevrelemiş halde görülen aktif makrofajlar belirlendi(Şekil 45-B). Yine farklı alanlarda içerdiği lipofussin granülleri ve kenara itilmiş çekirdeği ile içeriğini sindirmiş makrofaj olası iri hücreler de tespit edildi. Schwann hücreleri ise sağlıklı görünümdeydi (Şekil 45).



Şekil 45: Kontrol hasarlı grubuna ait ışık mikroskopik görüntüler izlenmektedir. Siyah ok başı; sağlıklı görünümlü aksonları, beyaz ok; hasarlı aksonu, *; endonöryumu, C; A'daki beyaz çerçeveli alanın daha yüksek büyütmedeki görüntüsünü, a ve A'daki küçük resim; aktif makrofajları, m ve B'deki küçük resim; lipofussin granülleri içeren olgun makrofajları, C'deki küçük resim; rejenerasyonu işaret eden akson dizilimini, siyah ok Schwann hücrelerini göstermektedir. Boya: Toluidin mavisi.

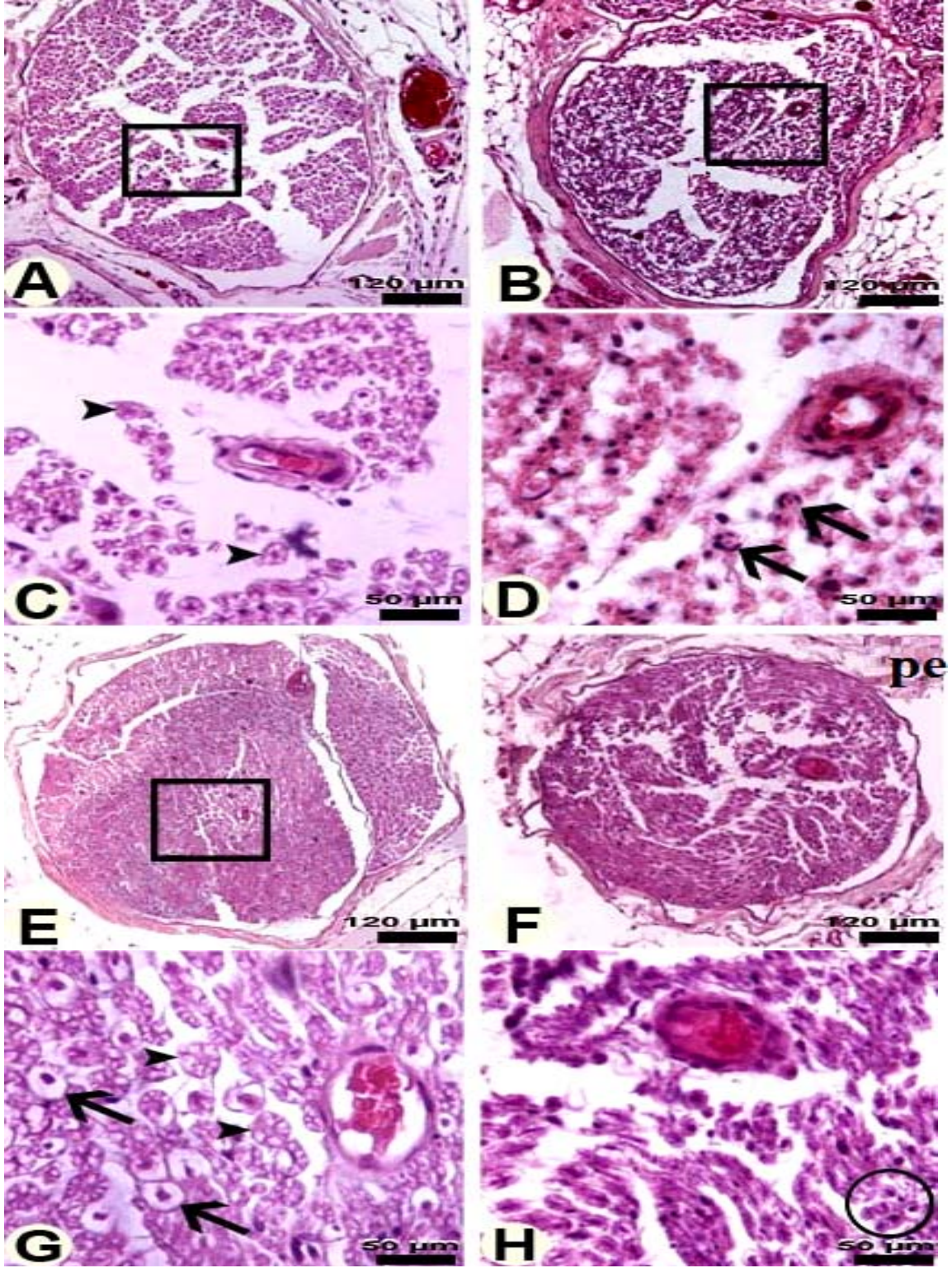
Rejenerasyon sürecinin ardından obez grubundan elde edilen siyatik sinir örneklerinin ışık mikroskopik kesitlerini oluşturan aksonlar kontrol grubundakine kıyasla küçük boyutluydu. Bu küçük çaplı aksonlar bazı alanlarda rejenerasyonu gösterir tarzda geniş çaplı ve sağlıklı görünümlü aksonların etrafında hilal şeklinde yerleşmekteydi. Söz konusu küçük çaplı aksonlar arasında kontrol grubundakine kıyasla daha az sayıda geniş çaplı fakat miyelin kılıfı dejenere olarak miyelin yığını haline gelmiş aksonlar da bulunmaktaydı. Bu kesitlere küçük büyütmede bakıldığında endonöryum içerisinde bulunan makrofajların sayıca çokluğu dikkat çekmekteydi. Kontrol grubundaki aktif ve lipofussin granülleri içeren olgun makrofajlara obez grubuna ait kesitlerde rastlanmadı. Buna karşın bu gruba (obez) ait kesitlerde gözlenen makrofajlar ya iri kesitleri ve primer lizozomal içerikleriyle henüz fagositoz gerçekleştirmemiş inaktif makrofajlardı ya da çok loblu çekirdekleri ile henüz olgunlaşmaktalardı. Endonöryuma bakıldığında kontrol grubundakine kıyasla daha yoğun içerikli olduğu gözlemlendi. Schwann hücreleri ise koyu boyanmış sitoplazmaları ve düzensiz sınırları ile hasarlı görünümdeydi (Şekil 46).



Şekil 46: Obez hasarlı grubuna ait ışık mikroskobik görüntüler izlenmektedir. Beyaz ok; hasarlı aksonları, *; yoğun görünümlü endonöryumu, B; A daki beyaz çerçevesi alanın daha yüksek büyütmedeki görüntüsünü, nm ve B'deki küçük resim; sırasıyla iri çekirdekli ve primer lizozomal içerikli inaktif makrofajı, im; immatür makrofajları, C'deki halkalı alanlar; rejenerasyonu işaret eden akson dizilimini, C'deki küçük resim; koyu sitoplazması ve düzensiz sınırları ile hasarlı görünümlü Schwann hücrelerini göstermektedir. Boya: Toluidin mavisi.

Hematoksilen Eozin Boyası İle Elde Edilen Bulgular

Kontrol grubuna ait siyatik sinir örneklerinin parafin bloklarından elde edilen ve rutin hematoksilen-eozin ile boyanan ışık mikroskopik kesitlerini oluşturan fasiküller dıştan ince, fibrilli yapıdaki epinöryum altında ise perinöryum bulunmaktadır. Sinir kesitinin içinde çok sayıda küçük çaplı sinir lifi gözlenmekteydi. Aksonlar arasında gözlenen endonöryum sağlıklı görünümdeydi. Aksonların çoğu miyelinli olup miyelin kılıfların sınırları düzenliydi. Sinir kesiti içerisinde damarlara da rastlanmaktaydı. Obez grubundan elde edilen siyatik sinirlerin hematoksilen-eozin ile boyanan ışık mikroskopik kesitlerinde kontrol grubundan farklı olarak sağlıklı olanlara göre oldukça ince bir miyelin kılıfla kuşatılmış aksonlara rastlandı. Rejenerasyondan sonraki dönemde gerek kontrol gerekse obez grubundan elde edilen hematoksilen-eozin ile boyalı kesitlerde perinöryum genişlemişti. Fakat bu kesitlerde aksonlar çoğunlukla net olarak gözlenemedi. Gözlenenler ise küçük boyutluydu ve çok ince bir miyelin kılıf içermekteydi(Şekil47).



Şekil 47: Kontrol (A-C), kontrol hasarlı (B-D), obez (E-G) ve obez hasarlı (F-H) gruplarından elde edilen ışık mikroskopik görüntüler izlenmektedir. C, D, G ve H'de A, B, E ve F'deki siyah çerçeveli alanın daha yüksek büyütmedeki görüntüsü izlenmektedir. Siyah ok başı; sağlıklı görünümlü aksonları, pe; perinöryumu, siyah ok; incelmış miyelin kılıfları ile hasarlı görünümlü aksonları göstermektedir. H'deki halkalı alanda kontrole kıyasla daha küçük boyutlu aksonlar görülmektedir. Boya: Hematoksilen-Eozin.

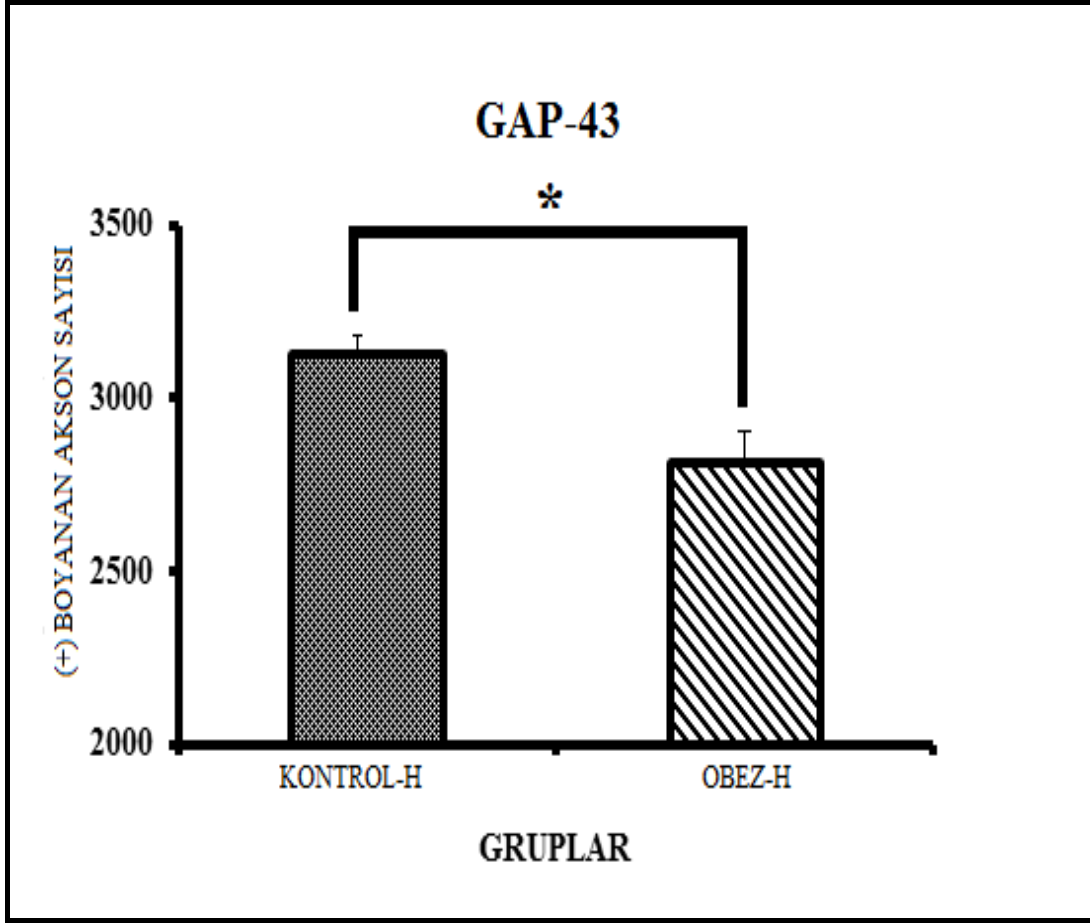
4.6. İMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

4.6.1. GAP-43 (Growth Associated Protein) Antikoru ile Elde Edilen Stereolojik ve Histolojik Bulgular

İmmünohistokimyasal incelemelerde kontrol ve obez gruplarının siyatik sinir örneklerine ait akson sitoplâzmasında boyanma negatif iken, kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarındaki kırmızı boyanma pozitif olarak gözlendi (Şekil 49). Kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarındaki sitoplazmaları pozitif boyanan aksonlar stereolojik olarak değerlendirildi. İstatistiksel olarak aralarında anlamlı bir fark bulundu (Bağımsız Örnekler T Testi; $p < 0,05$; Tablo 14, Şekil 48-49). Histopatolojik olarak da her iki gruptan elde edilen ışık mikrograflar değerlendirildiğinde kontrol hasarlı grubundaki pozitif boyalı akson sayısının obez hasarlı grubundan daha fazla olduğu belirlendi (Şekil 49).

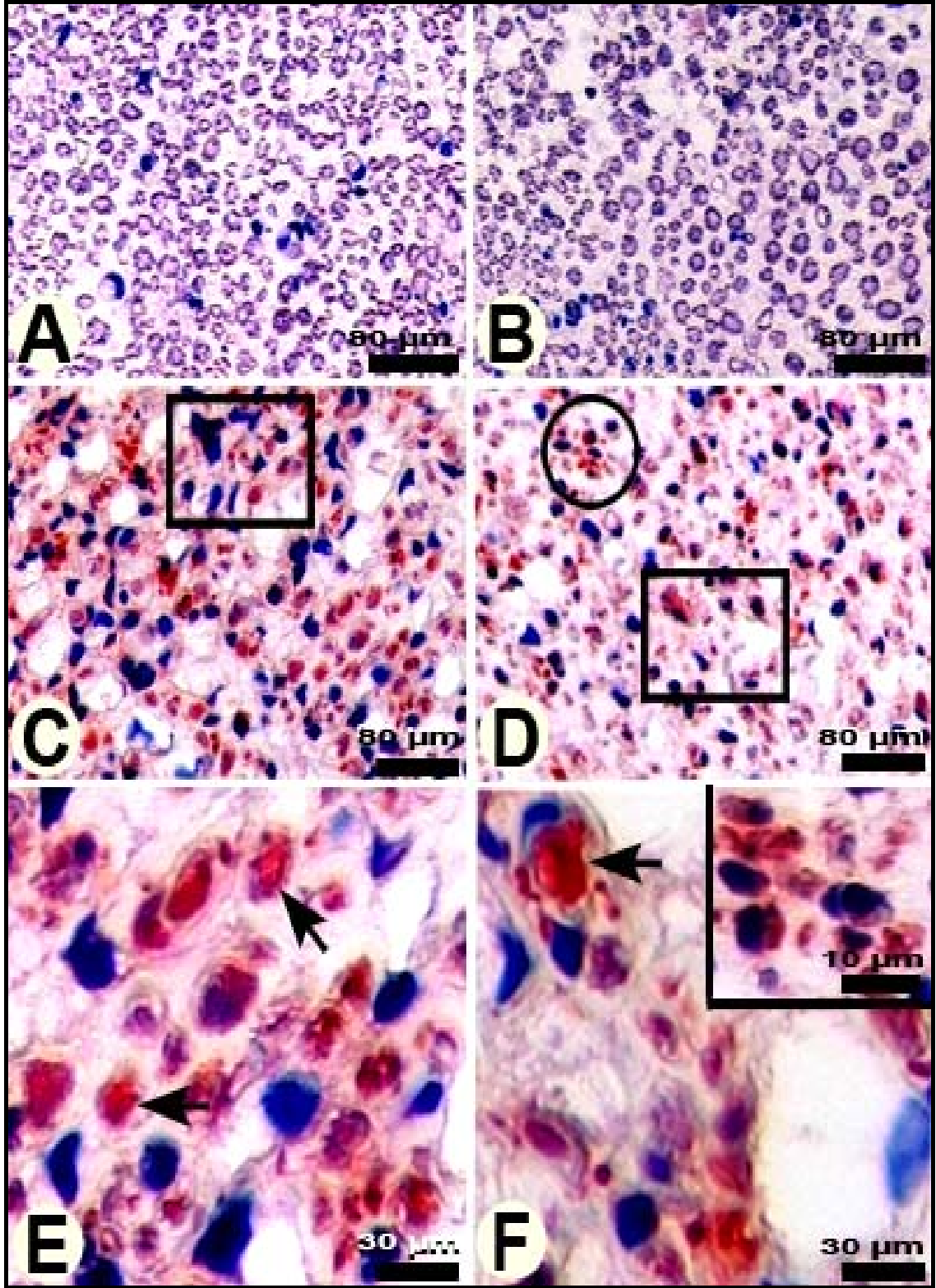
Tablo 14: Kontrol-hasarlı grubuna ait GAP-43 pozitif boyanan akson sayısı

Gruplar	Pozitif Boyanan Ortalama Akson Sayısı
Kontrol-H	3132
Obez-H	2613



Şekil 48: GAP-43 ile pozitif boyanan aksonların gruplara göre karşılaştırılmasını gösteren grafik

İstatistiksel olarak kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı grupları arasında anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,05$).



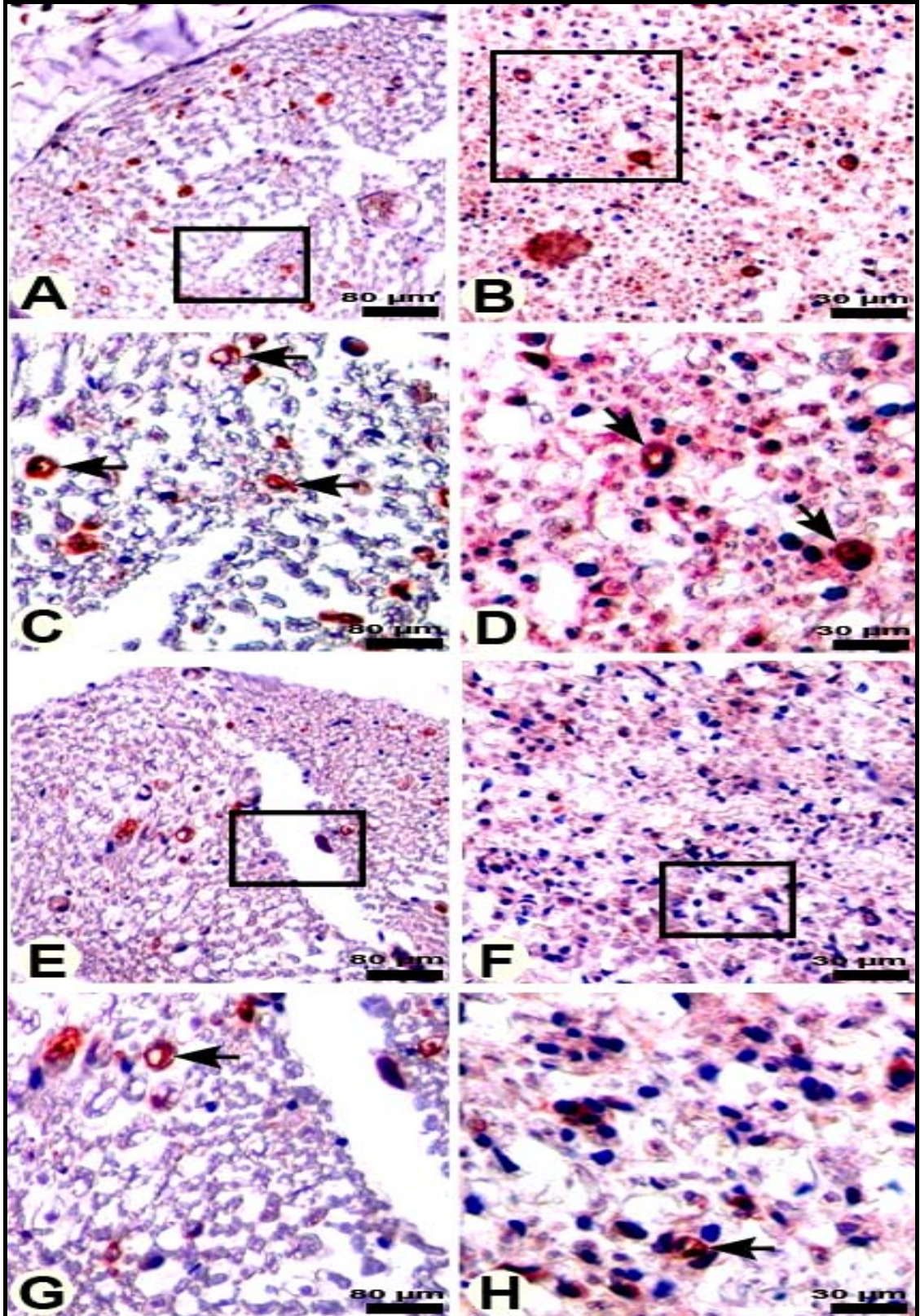
Şekil 49: Kontrol (A), kontrol hasarlı (C-D), obez (B) ve obez hasarlı (E-F) gruplarından elde edilen GAP-43 antikoruna boyanmış ışık mikroskopik görüntüler izlenmektedir. A ve B de'ki ışık mikrokraflarda pozitif boyanma olmadığı dikkat çekmektedir. E ve F'de C ve D' deki siyah çerçeveli alanların daha yüksek büyütmedeki görüntüsü izlenmektedir. Siyah oklar; sitoplazmaları GAP-43 pozitif boyanmış aksonları göstermektedir. F'deki küçük resim D'deki halkalı alanı daha yüksek büyütmede göstermektedir.

4.6.2. TGF- β 3 (Transforming growth Factor) Antikoru ile Elde Edilen Stereolojik ve Histolojik Bulgular

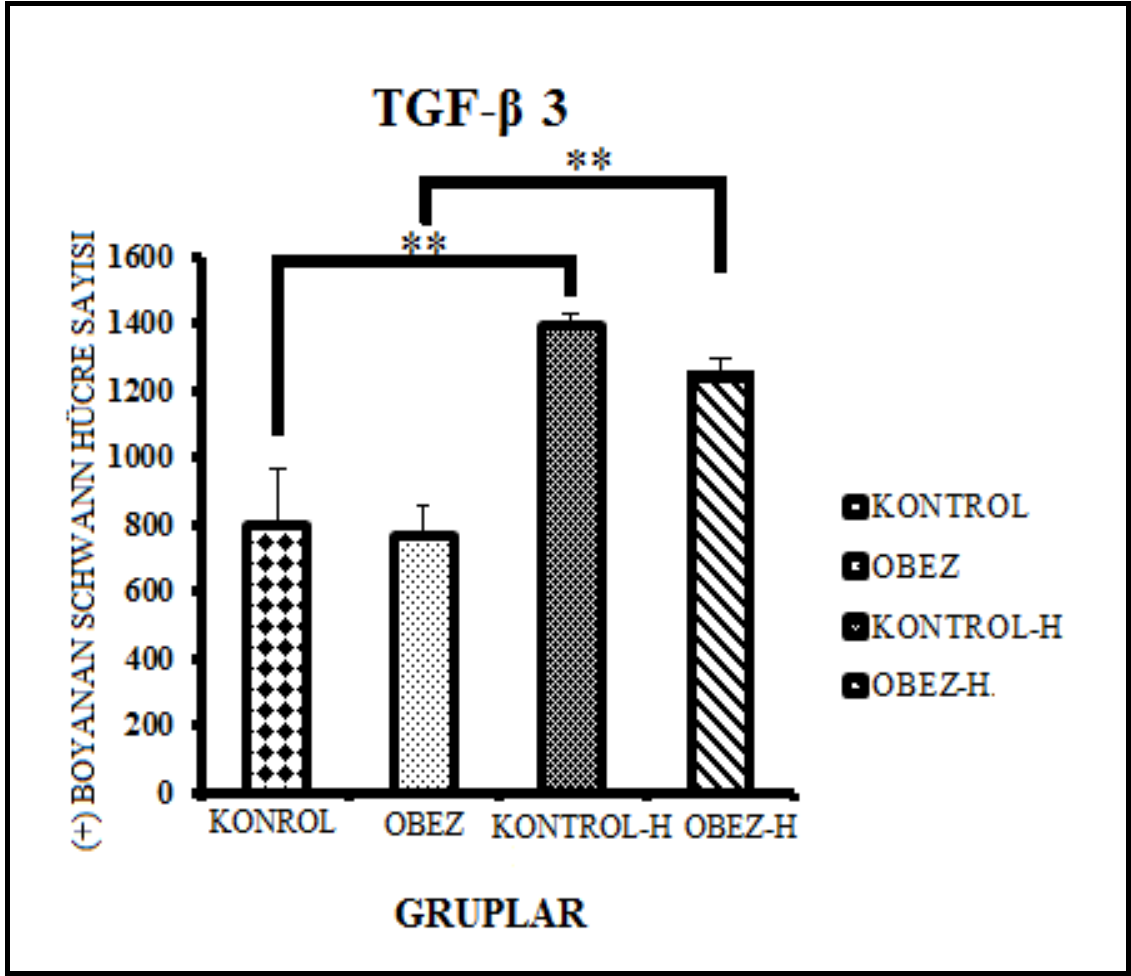
Tüm gruplarda yapılan immünohistokimyasal incelemelerde Schwann hücre sitoplazmasında TGF- β 3 antikoru ile kırmızı renkte pozitif boyanma görüldü. Pozitif boyanan schwann hücrelerine sahip aksonlar stereolojik olarak sayıldı (Tablo 15).

Tablo 15: Gruplara ait TGF- β 3 pozitif boyanan ortalama Schwann hücre sayısı

Gruplar	Pozitif Boyanan Ortalama Schwann Hücre Sayısı
Kontrol	794,96
Obez	761,80
Kontrol-H	1391,85
Obez-H	1234,63



Şekil 50: Kontrol (A-C), kontrol hasarlı (B-D), obez (E-G) ve obez hasarlı (F-H) gruplarından elde edilen TGF- β 3 antikoruna boyanmış ışık mikroskopik görüntüler izlenmektedir. C, D, G ve H; A, B, E ve F'deki çerçevesiz alanları daha yüksek büyütmede göstermektedir. Siyah oklar; sitoplazmaları TGF- β 3 pozitif boyanmış Schwann hücreleri ile çevrelenmiş aksonları göstermektedir.



Şekil 51: TGF- β 3 ile pozitif boyanan Schwann hücrelerinin gruplara göre karşılaştırılmasını gösteren grafik

Pozitif boyalı Schwann hücresi içeren aksonların (şekil 50) sayısı açısından istatistiksel olarak kontrol ve obez grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Bağımsız Örnekler T Testi; $p > 0,05$). Aynı parametre açısından kontrol-kontrol hasarlı grupları arasında ve obez-obez hasarlı grupları arasında çok anlamlı fark bulundu ($p < 0,01$). Kontrol hasarlı ve obez hasarlı grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$, Şekil 51).

TARTIŞMA

Obezitenin giderek artış gösterdiği ve hayati önem taşıyan birçok sağlık sorununa yol açtığı yapılan çalışmalarda açıkça görülmektedir (Tubitak, 2007; Annagür, 2010). Tüm dünyayı ciddi derecede tehdit eden bu durumun organlar, sistemler ve metabolizma üzerine ne gibi etkilerinin olduğunu bilmek gerekir. Obezitenin sinir sistemine etkileri hakkında literatürde pek fazla çalışma bulunmamaktadır. Dolayısıyla periferik sinir sistemi üzerine ne gibi etkileri olduğu da henüz aydınlanmamıştır.

Günümüzde trafik ve iş kazalarının artması, sporun hayatımızda daha fazla yer alamaya başlaması, toplumsal şiddet olaylarının artması sonucu ateşli silah ve kesici-delici aletle oluşan yaralanmalara daha sık rastlanması periferik sinir yaralanması ve önemini arttırmaktadır. Neden ne olursa olsun, periferik sinir yaralanması sonucu oluşan klinik tablo kişilerin günlük yaşamını etkilemekte ve önemli ölçüde iş-gücü kaybına neden olmaktadır (Ertaş, 2004; Akbay, 2005; Benli, 2005; Aydoğ, 2005; Okutan, 2008).

Bu yüzden, çalışmamızda literatürde rastlayamadığımız bir konu olan obezitenin periferik sinir rejenerasyonuna etkileri araştırıldı ve sıçan siyatik sinirinde ezilme tarzı oluşturulan hasarın kontrol ve obez gruplarda rejenerasyonu ne derecede etkilediği araştırıldı.

Periferik sinir rejenerasyonunu ile ilgili çalışmalarda, sıçan sıkça kullanılan bir hayvandır. Kolay elde edilebilirliği, ucuz olması ve sinir trunkuslarının insanlardakine benzerliği, bu hayvanların tercih edilme sebepleri arasında sayılabilir. Özellikle sıçan siyatik siniri, uzun seyri, orta uyluk bölgesinde kolay disseksiyona izin vermesi ve maniplasyon için uygun bir alana sahip olması önemli bir seçim sebebidir. İnsanlarda siyatik sinir yaralanmaları nadir olmasına karşın, deneysel modellerde bu sinirin tercih edilmesindeki bir diğer neden de, unifasiküler mikst tip bir sinir olması ve farklı boyut ve tiplerde aksonları içermesi nedeniyle kapsamlı bir araştırma olanağı sağlamasıdır. Böylelikle hem duyu, hem de motor fonksiyonlar aynı anda değerlendirilebilir (Luis ve ark., 2007; Varejao ve ark., 2004; Martins ve ark., 2006).

Periferik sinir araştırmalarında sıklıkla aksonotmezis hasar modeli için, sıçan siyatik siniri ezilme tarzı yaralanma modeli kullanılır (Özbayoğlu, 2008). Ezilme tarzı sinir yaralanma modeli, periferik sinir rejenerasyonunun hücresel ve moleküler mekanizmalarını ve rejenerasyon süreci üzerine farklı faktörlerin etkilerini incelemek

için oldukça uygun bir modeldir (Özbayoğlu, 2008). Deneysel olarak periferik sinirlerde ezilme tarzı yaralanması oluşturmak için tanımlanmış pek çok teknik vardır (Özbayoğlu, 2008). Bu tip deneysel çalışmalarda temel sorun hasar miktarının standardize edilememesidir (Özbayoğlu, 2008). Sabit bir basınç uygulanmış olsa bile, bazı sinir lifleri etkilenmeden devamlılıklarını koruyabilecekleri için, özellikle elektrofizyolojik ölçümlerde yanılmalara neden olabilir. Bu problemi en aza indirmek için 58 Newtonluk basınç uygulayan portekü özel olarak hazırlatılarak kullanıldı (Özbayoğlu, 2008).

Çeşitli çalışmalarda saptanan farklı fonksiyonel rejenerasyon zamanları, muhtemelen farklı basınçların sinir üzerinde oluşturdukları farklı ezilme hasarı derecelerine bağlıdır (Dijkstra ve ark., 2000; Varejao ve ark., 2004; Wolthers ve ark., 2005; Hadlock ve ark., 2005; Luis ve ark., 2007). Bu çalışmada kullanılan özel hazırlanan portekü yardımı ile siyatik sinirlerin hemen hepsinde, benzer şekilde ve benzer derecede sinir hasarı oluşturulmaya çalışıldı. Tüm deneklerde portakü ile yapılan ezilme hasarı sonrasında tam fonksiyonel ve duyu kaybı gözlemlendi. Ayrıca histopatolojik olarak da ezilen sinirlerin bütünlüğünün ve içerdiği bileşenlerin (akson, bağ dokusu kılıflar ve hücreler) kontrol grubundaki gibi sağlıklı görünümünde olmadığı tespit edilerek rejenerasyon sürecine geçildi.

Aksonotmezis sonrası siyatik sinir rejenerasyonunu inceleyen pek çok çalışmada, operasyon sonrası takip süreleri 4 ila 8 hafta arasında değişmektedir. Bu sürenin sonunda sıklıkla fonksiyonel geri dönüş tam olmaktadır. Bu durum, yürüyüş yolu analizleri ile sıklıkla desteklenmiştir (Luis ve ark., 2007; Özbayoğlu, 2008). Vogelaar ve ark. forseps ile oluşturdukları ezilme tarzı sinir hasarı sonrasında, duyu ve motor fonksiyonların yaklaşık 24. günden itibaren ileri derecede geri döndüğünü ve 30. günde hem siyatik fonksiyonel indeksin, hem de geri çekme refleksinin normale yakın değerlere geldiğini gözlemlemişlerdir (Vogelaar ve ark., 2004). Hadlock ve ark. (Hadlock ve ark., 2005) ise, siyatik sinir ortalama onarım hızının 2.26 mm/gün olduğunu saptayarak, ezilme hasarının şiddetine göre siyatik sinir fonksiyonunun 14 ila 34. günlerde geri döndüğünü öne sürmüşlerdir. Bir diğer çalışmada da Wolthers ve ark. (Wolthers ve ark., 2005), ezilme tarzı yaralanma sonrasında yaklaşık 30. günde siyatik fonksiyonel indeks değerlerinde tama yakın düzelme elde etmişlerdir.

Çalışmamızda operasyon sonrası rejenerasyon için takip süresi 4 haftadır. Hasar sonrası 28.günde motor ve duyu fonksiyonlarının ileri derecede geri döndüğü görülmüştür.

Periferik sinir rejenerasyonunu değerlendirmede elektrofizyolojik testler oldukça sık kullanılmaktadır. Sinir liflerinin kas liflerini uyarmaları ile oluşan aksiyon potansiyellerinin, bir amplifikatör aracılığı ile büyütülerek incelenmesi esasına dayanır. Elde edilen aksiyon potansiyelleri bileşik kas aksiyon potansiyelleri olup, bunların üzerinden çeşitli parametreler ölçülerek değerlendirmede kullanılabilir. Periferik sinir rejenerasyonunu inceleyen çalışmalarda fonksiyonel ve morfolojik incelemelerin her ikisinin de yapılması gerektiği vurgulanmıştır (Luis ve ark., 2007; Pu ve ark., 1999). SFİ, WRL, elektrofizyolojik testlerin ve histomorfometrik incelemelerin hiçbiri total sinir fonksiyonunu tam olarak gösterememektedir. Herbir parametre sinir rejenerasyonunun farklı bir aşaması hakkında bilgi verir. Bu parametreler arasında sıklıkla uyumsuzluklar gözlenmekte ve hangi parametrenin sinir rejenerasyonunu daha iyi değerlendirdiği bilinmemektedir (Kanaya ve ark., 1996). Bu nedenle bu çalışmada fonksiyonel, elektrofizyolojik, stereolojik, immünohistokimyasal ve histopatolojik incelemeler hep birlikte kullanılmıştır. Aşağıda kontrol ve obez gruplarında hasar öncesi ve sonrasında elde edilen sonuçlar mevcut literatür eşliğinde tartışılmaya çalışıldı:

Çalışmamızda siyatik sinir örnekleri üzerinde yapılan stereolojik değerlendirmede ortalama akson sayısı kontrol, obez, kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarında sırasıyla 5354, 4834, 4336, 3779 olarak belirlendi. Gruplardan elde edilen veriler istatistiksel açıdan birbirleriyle kıyaslandığında, kontrol-hasarlı ile obez-hasarlı grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$). Kontrol ile kontrol-hasarlı grubu arasındaki fark ve obez ile obez-hasarlı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$). Hasarlanan gruplarda rejenerasyon sonrası akson sayısındaki azalma normaldir. Fakat hasarlanan kontrol ve obez grupların rejenerasyon sürecine cevabının farklı olduğu görüldü.

Akson sayısı sadece kesit alanındaki total sayı hakkında bilgi verirken, total sinir fonksiyonunu göstermede yetersiz kalır. Çok sayıda ama hedef organa ulaşamamış aksonların olabileceği hatırdta tutulmalıdır. Bu nedenle akson sayısı ölçümleri sinir ileti hızı değerlendirmeleri ile birlikte değerlendirildi.

Sunulan çalışmada hasarlı gruplara hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonrası uygulanan sinir ileti hızı ölçümleri ortalama değerleri kontrol-hasarlı ile obez-hasarlı gruplarında sırasıyla; hasar öncesi, 36 m/sn, 34 m/sn, hasar sonrası, 36 m/sn, 35 m/sn, rejenerasyon sonrası, 38 m/sn, 36 m/sn olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak, hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonucu kontrol-hasarlı ile obez-hasarlı gruplarda sinir ileti hızı bulgularında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Bu durum rejenerasyon öncesi, anı ya da sonrasında siyatik sinirlerin aktivitesinde fark oluşmadığını göstermektedir.

Akson sayısı ile bağlantılı olarak siyatik sinir alanı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol ile kontrol hasarlı ($p < 0,05$), obez-obez hasarlı ($p < 0,05$), ve kontrol-hasarlı ile obez-hasarlı ($p < 0,01$) grupları arasında fark bulundu. Son bahsedilen kontrol-hasarlı ile obez-hasarlı grupları arasındaki farkın daha açık olması obezlerde siyatik sinirin hasar sonrası yeni gelişen yada iyileşen aksonların kontroldeki kadar fazla sayıda olmadığını göstermektedir. Bu durum obezite sonucu gözlemlediğimiz, büyüme faktörlerindeki azalma ya da büyüme faktörlerine karşı gelişen direnç neticesinde meydana gelmiş olabilir.

Akson alanı, sinir liflerinin olgunlaşma düzeyi hakkında bilgi verir. Bu noktada, sinir ezilme modelinde tüm liflerde yapısal olarak hasarlanma olmayabileceği, bazı liflerin sadece Sunderland tip 1 sinir hasarı ile yapısal bozulma olmadan, geçici bir fonksiyonel kayıp yaşayabileceği akılda tutulmalıdır. Standartize klemp modellerinin kullanımı ile bu sorun bir miktar giderilebilmektedir (Varejao ve ark., 2004). Çalışmamızda siyatik sinir örnekleri üzerinde yapılan stereolojik değerlendirmede ortalama akson alanı kontrol, obez, kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarında sırasıyla $41.12\mu\text{m}^2$, $39.79\mu\text{m}^2$, $15.82\mu\text{m}^2$, $12.07\mu\text{m}^2$ olarak belirlendi. Akson alanı bakımından kontrol ve obez grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$).

Akson alanı bakımından kontrol ile kontrol-hasarlı ve obez ile obez-hasarlı grupları arasındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Ayrıca kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı grup arasındaki fark ta istatistiksel olarak anlamlıydı. ($p < 0,05$). Hasarlanan gruplarda rejenerasyon sonrası bu azalma normaldir. Obez deneklerin rejenerasyon sonucu akson alanı sağlıklı deneklerkinden daha küçük bulundu. Bu da obezitenin akson alanına olumsuz bir etkisi olduğunu gösterdi.

Rejenerasyon sürecine cevabın obezlerde düşük olması yine obez deneklerde GAP-43 gibi büyüme faktörlerindeki bir azalmadan ya da bu büyüme faktörlerine karşı gelişen reseptörel dirençten kaynaklanabilir.

Siyatik sinir örnekleri üzerinde yapılan stereolojik değerlendirmede ortalama miyelin kılıf kalınlığı kontrol, obez, kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarında sırasıyla 1.719 μm , 1.697 μm , 0.936 μm , 0.813 μm olarak belirlendi. Ne hasar öncesi ne de sonrasında kontrol ve obez grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Myelinizasyon derecesi ise yine aksonun olgunluğu ile ilişkilidir. Aksonlar uç organlara ulaşmadan da myelinize olabilecekleri için bu parametre de fonksiyonu değerlendirmede yetersiz kalmaktadır.

Sonuçta rejenere olan aksonların sayısı ve kalitesi hakkında bilgi sahibi olurken, fonksiyonel geri dönüş hakkındaki bilgi yetersiz kalmaktadır (Kanaya ve ark., 1996). Bu bağlamda çalışmamızda hasarlı gruplara hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonrası uygulanan birleşik kas aksiyon potansiyel amplitüt ölçümleriyle bu bulgumuzu değerlendirmeye çalıştık. Hasarlı gruplara hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonrası uygulanan aksiyon potansiyel amplitüdü ölçümlerinin ortalama değerleri kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarında sırasıyla; hasar öncesi, 24mV, 19mV, hasar sonrası, 19mV, 17mV, rejenerasyon sonrası, 20m/sn, 17m/sn olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak; hasar öncesi, kontrol ve obez gruplarda aksiyon potansiyel amplitütü bulgularında anlamlı bir fark bulunmuştur (Post Hoc Test, Anova; $p < 0,05$). Bu da kontrol grubundaki sınıf liflerinin obez grubuna göre daha hızlı ve güçlü miyelinize olduğunu gösterir. Hasar öncesi ve sonrası arasında kontrol grubunda anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,05$). Bu da Cragg ve Thomas'ın çalışmasında olduğu gibi ezilme hasarı sonrası uzun dönem takipli çalışmalarda, rejenere olan liflerin elektrofizyolojik ölçümlerinin hiçbir zaman tam olarak normale dönemediğini göstermektedir. Stereolojik bulgularımızda miyelin kılıf kalınlığı açısından her ne kadar gruplar arasında bir fark gözlenmese de histopatolojik olarak gruplara bakıldığında obez grubundaki aksonların miyelin kılıf sınırlarının düzensiz olduğu ve kontrol grubundaki sağlıklı içeriğini kaybettiği gözlemlendi. Ayrıca bu gruptaki Schwann hücrelerinin de koyu boyanmış içeriği ile hasarlı görünümde olduğu belirlendi.

Bu bulgular da amplitüt değerleri açısından kontrol ve obez grubu arasındaki farkı açıklayabilir. Hasardan sonra kontrol grubunda amplitüt değerinin düşmesi ise normaldir. Obez grubunda amplitüt değeri zaten düşük olduğundan bu değer ezilme hasarından pek etkilenmemişti.

Elektromiyografi ise periferik sinir rejenerasyonun değerlendirilmesinde çok daha önemli yeri olan bir inceleme yöntemidir. Kas liflerinden geçen aksiyon potansiyelinin oluşturduğu elektrik sinyallerinin bir amplikatör aracılığı ile büyütülerek incelenmesi esasına dayanan bu yöntem, klinikte birçok sinir ve kas hastalığının teşhis edilmesinde kullanılmaktadır. İnceleme sonucunda elde edilen temel değerler oluşturulan bileşik kas aksiyon potansiyelinin latans, amplitüt ve alan değerleridir. Bunlardan amplitüt, aktif kas liflerinin elektroda ulaşabilen depolarizasyon değeridir ve uyarılan olan en geniş motor ünite ile ilgili bilgi verir (Bronzino, 2000). Bu nedenle amplitüt değeri doğrudan aktif nöron sayısı ile ilişkilidir. Latans değeri ise uyarım ile kasılma potansiyelinin başlaması arasında geçen zamandır ve miyelinizasyon için önemli bir gösterge olarak kabul edilmektedir (Baykal, 2002). Hasarlı gruplara hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonrası uygulanan EMG bulgularında; Kontrol hasar öncesi ölçümlerle, kontrol hasar sonrası ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol hasar öncesi ve kontrol rejenerasyon arasındaki fark çok anlamlıydı ($p < 0,01$). Kontrol hasar öncesi ve obez hasar öncesi ölçümler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol hasar sonrası ve kontrol rejenerasyon arasındaki fark çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Obez hasar öncesi ve Obez hasar sonrası ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Obez hasar öncesi ve obez rejenerasyon arasındaki fark çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Kontrol hasar sonrası ve kontrol rejenerasyon arasındaki fark çok anlamlıydı ($p < 0,01$).

Siyatik fonksiyonel indeksi (SFİ) De Medinacelli tarafından 1982 yılında tanımlanmış ve sonrasında çeşitli araştırmacılar tarafından modifiye edilmiştir. Burada elde edilen ayak izleri üzerinden çeşitli ölçümler yapılarak sinir fonksiyonel geri dönüşü hakkında bilgi edinilmeye çalışılır. Bu basit ve girişimsel olmayan teknik aynı hayvan üzerinde farklı zamanlarda tekrar edilebilirliği ve hem duyu hem de motor geri dönüşe bağlı oluşan koordine bir hareketi değerlendirdiği için, sık kullanılan bir değerlendirme yöntemidir (Luis ve ark., 2007).

SFİ ile elde edilen değerler tek başına motor, duyu ya da proprioseptif fonksiyonlardan ziyade, karmaşık bütünleşmiş fonksiyonun bir göstergesidir (Koka ve Hadlock, 2001).

Yürüyüş patternlerinde spesifik sinir hasarına bağlı bazı değişiklikler meydana gelir. Kanaya ve ark. (Kanaya ve ark., 1996), teorik nedenlerle sinir rejenerasyonunun en son basamağının adımlama olması ve yürümenin kortikal duysal geri dönüşlerle koordine edilen karmaşık bir motor ünite reinnervasyonu ile gerçekleşmesinden ötürü, sinir rejenerasyonunu değerlendirmede en iyi yöntemin SFİ olduğunu öne sürmektedirler. Bu çalışmada Bain ve ark.'nın) modifiye ettikleri SFİ formülü kullanılarak ölçümler yapılmıştır (Bain ve ark., 1989). SFİ ölçümlerinin en büyük dezavantajı, ölçüm tekniği ve araştırmacının hassasiyetine göre değişkenlik gösterip, yanılma ya da yanlış ölçüm yapılma ihtimalinin yüksek olmasıdır (Luis ve ark., 2007). Hayvanların yürüyüş yolunda ayak izleri alınmadan önce belli bir süre eğitimden geçmeleri gerekir. Yine yanlış verilere neden olabilecek bir diğer sorun da, etkilenen ekstremitede gelişen istenmeyen kontraktürlerdir. Bu durumda kaslarda reinnervasyon gerçekleşse bile, eklemlerdeki hareket kaybı ve kontraktürler nedeniyle düzgün bir adımlama görülemeyebilir (Kanaya ve ark., 1996). Ayrıca eklem kontraktürlerinin yanı sıra otokanibalizasyon, sürtünme artefaktları, kuyruk ile izin kontaminasyonu da sağlıklı ayak izlerinin elde edilmesini güçleştirebilmektedir (Martins ve ark., 2006; Tetik ve ark., 2000; Varejao ve ark., 2001). Çalışmamızda hem kontrol hem de obez grubunda 0. gün ve 28. gün SFİ değerleri karşılaştırıldığında, aralarındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$). Yine hem kontrol-hasarlı hem de obez-hasarlı gruplarında 7. 14. 21. günler, 28. gün ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Sonuçta obez ve sağlıklı bireylerde SFİ değerleri arasında fark bulunmadı. Hasar sonrası her iki grupta da geri dönüş tam olmadı.

Ayak geri çekme refleksi (WRL), gerçek bir refleks olup spinal seviyede santral sinir sistemini içerir. Ağrılı bir uyarana karşı hayvanın arka ayağını geri çekerek yanıt vermesidir (Rupp ve ark., 2007). Bu fleksiyon refleksinin oluşabilmesi için kalça, diz ve ayak bilek fleksör kaslarının kasılmaları gerekir. Yaralanma sonrası yaklaşık üçüncü haftada termal ağrılı uyarana karşı geri çekme refleksi görülmeye başlar ve dördüncü haftanın sonunda sıklıkla normale döner (Varejao ve ark., 2004). Geri çekme refleksleri değerlendirilirken dikkat edilmesi gereken önemli bir nokta, ısı kaynağına ayağın bastırılmamasına dikkat etmektir. Aksi takdirde, basıya bağlı mekanoreseptörlerin

uyarımı ile duyuşal geri dönüş tam olmadan da geri çekme refleksi görülebilir. Bu da test sonuçlarında yanlış değerlendirmelere neden olabilir (Luis ve ark., 2007; Varejao ve ark., 2004).

Hu ve ark. safen sinir afferentlerinin stimölasyonunu engellemek için ayak lateral plantar tarafının stimölasyonunun tercih edilmesi gerektiğini öne sürmüşlerdir (Hu ve ark., 1997). Genel kabul edilmiş bir kural olarak, femoral sinirin bir dalı olan safen sinir ayak medial kısımlarının innervasyonunu sağlar. Bu nedenle siyatik sinir innervasyon alanını değerlendirmek için topuk, lateral plantar bölge ve ayak parmakların dorsal yüzleri test için önerilen bölgelerdir (Rupp ve ark., 2007, Thalhammer ve ark., 1995; Puigdelivol- Sanchez ve ark., 2005). Bu çalışmada uygulanan sıcak plaka testinde, bu bilgiler ışığında sıcak yüzey deneklerin arka ayak lateral kısımlarına temas ettirilerek uygulanmış ve ayağın sıcak plaka üzerine bastırılarak istenmeyen mekanoreseptör uyarımından kaçınılmıştır.

Çalışmamızda WRL bulguları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, hasar öncesi yani 0.gün, kontrol ve obez gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol grubunda 0. gün ve 28. gün WRL değerleri karşılaştırıldığında, aralarındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Yine kontrol-hasarlı grubunda 7, 14, 21. günler 28. gün ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Obez grubunda da 0. gün ve 28. gün WRL değerleri karşılaştırıldığında, aralarındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Yine obez-hasarlı grubunda 7, 14, 21. günler 28. gün ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Sonuçta obez ve sağlıklı bireylerde WRL değerleri arasında fark bulunmadı. Hasar sonrası her iki grupta geri dönüş tam olmadı.

Aksotomi sonrası nükleusun yeni mRNA ve bu sayede aktin, tubulin gibi hücre iskeleti proteinlerini üretmesi gerekir. Bu durumda üretimi artan GAPs grubudur (Shen ve ark., 2002). Rejenerasyonda akson gelişirken büyüme konisi yakınında, membranda GAP 43 fosfoproteini bulunur. Bu proteinin üretimi aksotomi sonrasında yaklaşık 100 katına çıkar. Büyüyen ve rejenere olan nöral membranın iç yüzeyinde bulunan ve aksonal transportu sağlayan bu fosfoproteinler, protein kinaz C'nin substratını oluştururlar ve büyüme bölgesinin ilerlemesinde rol alırlar (Fawcett ve Keynes, 1990).

Çalışmamızın immünohistokimya basamağında yapılan incelemelerde siyatik sinir örnekleri üzerinde GAP-43 antikoru ile yapılan boyama ile akson sitoplazması içerisindeki boyanma derecelerini inceledik. Hasarsız gruplarda negatif boyanma gözlemledik. Yapılan stereolojik değerlendirmede kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarında GAP 43 pozitif boyanan akson sayısı sırasıyla, 3132, 2613 olarak belirlendi. İstatistiksel olarak bu iki grup arasında anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,05$). Bu durumda hasar sonrası özellikle kontrol grubunda GAP-43 ekspresyonunun çok fazla miktarda arttığını söyleyebiliriz. Hasarlanan obez ve kontrol gruplarındaki bu fark obezlerde nörotrofik faktörlerin az üretildiği anlamına gelir ki bu durum zaten azalmış akson sayısından da kaynaklanabilir. Diğer bir açıdan nörotrofik faktörlerin ya da diğer büyüme faktörlerinin neden olduğu bir mekanizma da obez bireylerde rejenerasyondan sonra GAP-43 proteinin artmasını engellemiş olabilir. Bu daha sonraki çalışmalarımızda aydınlatılması düşünülen bir konudur. Yine histopatolojik değerlendirmemiz esnasında obez rejenerasyon grubunda kontrol grubundakine kıyasla daha fazla sayıda olgunlaşmamış ve inaktif makrofaj gözlemlemiştik. Ayrıca obez ve obez rejenerasyon gruplarında endonöryum da kontrol gruplarındakine kıyasla yoğun içerikli olarak gözlenmekteydi. Bu bulgular da periferik sinir örneklerinin hem hasar öncesi hem de hasar sonrasında kontrol gruplarındaki kadar sağlıklı olmadığını göstermekteydi. Özellikle makrofajlar ile ilişkili olan bulgumuz rejenerasyon esnasındaki yeniden şekillenme sürecinin obez deneklerde kontroldekinden daha yavaş bir şekilde ilerlediği şeklinde yorumlanabilir.

TGF- β türü sitokinler hücre proliferasyonu ve farklılaşması, matriks oluşumu ve immünoreaktivite üzerine önemli etkileri olan çok fonksiyonlu düzenleyici proteinlerdir (Wang ve ark., 2000; Sulaiman ve Gordon, 2002; Davison ve ark., 1999). İnsanlarda, üç tip TGF- β mevcuttur: TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3 (Wang ve ark., 2000; Sulaiman ve Gordon, 2002; Davison ve ark., 1999). Her biri farklı bazı biyolojik roller üstlenen bu ajanların etkileri hedef hücre tipine ve hücre çoğalmasının mevcudiyetine göre farklılıklar göstermektedir (Stark; 2001; Moroco ve ark., 1987). Normal siyatik sinir yapısında bulunan Schwann hücrelerinin sitoplazmalarında TGF- β 1 ile TGF- β 3 ve az miktarda TGF- β 2 mevcuttur (Scherer ve ark., 1993; Shah ve ark., 1995; Moroco ve ark., 1987). Sıçanlarda, travmatik siyatik sinir hasarı sonrası gelişen rejenerasyon esnasında sütür hattının proksimal ve distalinde mevcut olan Schwann hücreleri

tarafından TGF- β oluşumunun indüklendiği düşünülmektedir (Einheber ve ark., 1995). Çalışmalarda, TGF- β 'nin Schwann hücre proliferasyonunda rol oynadığı ileri sürülmüştür (Stark ve ark., 2001; Guenard ve ark., 1995). Çalışmamızda immünohistokimyasal incelemelerde TGF- β 3 antikoru ile Schwann hücre sitoplâzmasında tüm gruplarda pozitif boyanma görüldü. İstatistiksel olarak kontrol ve obez gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$). Kontrol ile kontrol hasarlı grupları arasında çok anlamlı fark bulundu ($p < 0,01$). Obez ile obez hasarlı grupları arasında çok anlamlı fark bulundu ($p < 0,01$). Kontrol hasarlı ile obez hasarlı grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$).

Obezite de sinir sistemi ile yapılan çalışmalarda, Miscio ve arkadaşları obezitenin periferik nöropatiye neden olabileceğini göstermişlerdir. Obezitede cAMP değerlerinde tibial ve peroneal sinirlerde yapılan ölçümlerde ciddi bir azalma gözlemlenmiştir, ayrıca aksiyon potansiyel amplitüdünde de tüm sinir boyunca azalma gözlemlenmiştir (Miscio ve ark., 2005). Sempatik sinir sistemi enerji tüketiminin üç majör komponenti olan istirahat metabolizma hızı, gıdaların termik etkisi ve fizik aktivite düzeyleri ile ilişkilidir. Çalışmalarda obez kişilerde merkezi sinir sistemi aktivitesi düşük bulunmuştur (Okutan, 2001). Çolak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada obez bireylerde sempatik otonomik sinir sistemi fonksiyonunda azalma gözlemlenmiştir (Çolak ve ark., 1997). Yüksek yağlı diyetle beslenerek obez ve prediyabet oluşturulan farelerde nöropati gözlemlenmiş ve antioksidan ve anti-inflamatuar özellikleri olan *Artemisia dracunculoides* L. ekstresi ile nöropati üzerine olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Watcho, 2010). Bununla birlikte literatürde obezitenin periferik sinir sistemi üzerine olan etkileriyle ilişkili histokimyasal ya da morfolojik bir çalışma henüz yoktur. Bu çalışma ile literatürde eksik olduğu görülen bu konu aydınlatılmaya çalışıldı.

Sonuç olarak bu çalışmada yağlı diyet ile oluşturulan obezitenin sempatik sinir üzerinde olumsuz bazı etkileri olduğu saptanmıştır. Ayrıca çalışma sonucunda elde edilen histolojik ve morfolojik bulguların birbirini desteklediği gözlemlenmiştir. obezitenin periferik sinir yapısı ve rejenerasyonu üzerine etkisi ilk kez bu çalışmada stereolojik, histokimyasal ve fizyolojik yöntemlerle ortaya konarak literatüre katkı sağlamak üzere sunulmuştur.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1- Araştırmamızda kontrol ve obez deneklere ait doku örnekleri akson sayısı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı, güvenilir ve kullanımı son yıllarda gittikçe artan stereolojik yöntemle değerlendirildi. Ayrıca hasarlı gruplara fonksiyon ve elektrofizyolojik testler uygulandı. İmmünohistokimyasal boyamalarla ilgili bulgular da elde edildi.

2- Tüm gruplara ait siyatik sinir örnekleri üzerinde yapılan stereolojik değerlendirmede ortalama akson sayısı kontrol, obez, kontrol-hasarlı ile obez-hasarlı gruplarında sırasıyla 5354, 4834, 4336, 3779 olarak belirlendi. Gruplardan elde edilen veriler istatistiksel açıdan birbirleriyle kıyaslandığında, kontrol ve obez grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Kontrol-hasarlı ile Obez-hasarlı grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. ($p <0,05$). Kontrol ile Kontrol-hasarlı grubu arasındaki fark ve obez ile obez -hasarlı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p <0,01$).

3- Tüm gruplara ait siyatik sinir örnekleri üzerinde yapılan stereolojik değerlendirmede ortalama akson alanı, kontrol, obez, Kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarında sırasıyla $41,12\mu\text{m}^2$, $39,79\mu\text{m}^2$, $15,82\mu\text{m}^2$, $12,07\mu\text{m}^2$ olarak belirlendi. Gruplardan elde edilen veriler istatistiksel açıdan birbirleriyle kıyaslandığında, akson alanı bakımından Kontrol ve obez grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p> 0,05$). Akson alanı bakımından kontrol ve kontrol-hasarlı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p <0,01$). Obez ve obez -hasarlı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p <0,01$). Kontrol-hasarlı ve obez -hasarlı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p <0,05$).

4- Tüm gruplara ait siyatik sinir örnekleri üzerinde yapılan stereolojik değerlendirmede ortalama miyelin kılıf kalınlığı kontrol, obez, kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarında sırasıyla $1,719\ \mu\text{m}$, $1,697\ \mu\text{m}$, $0,936\ \mu\text{m}$, $0,813\ \mu\text{m}$ olarak belirlendi. Gruplardan elde edilen veriler istatistiksel açıdan birbirleriyle kıyaslandığında, kontrol ve obez grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Post Hoc Test, Anova; $p>0,05$).

5- Kontrol-hasarlı ile obez-hasarlı grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol ile kontrol-hasarlı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Obez ile obez -hasarlı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$).

6- Hasarlı gruplara 0, 7, 14, 21, 28. günlerde uygulanan yürüyüş testlerinde ortalama SFİ değerleri, kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarında sırasıyla, 0.gün; -3,10 ile -3,99, 7.gün; -80,27 ile -86,71, 14.gün; -58,50 ile -61,56, 21.gün; -42,25 ile -44,45, 28.gün; -29,43 ile -32,04 olarak bulunmuştur. Hasar öncesi yani 0. gün, kontrol ve obez gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Hasar sonrası 7. gün, obez-hasarlı ve kontrol-hasarlı gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Hasar sonrası 14. gün, obez-hasarlı ve kontrol-hasarlı gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Hasar sonrası 21. gün, obez-hasarlı ve kontrol-hasarlı gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Hasar sonrası 28. gün, obez-hasarlı ve kontrol-hasarlı gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol grubunda 0. gün ve 28. gün SFİ değerleri karşılaştırıldığında, aralarındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Yine kontrol-hasarlı grubunda 7, 14, 21. günler 28. gün ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Obez grubunda 0. gün ve 28. gün SFİ değerleri karşılaştırıldığında, aralarındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Yine obez-hasarlı grubunda 7, 14, 21. günler 28. gün ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$).

7- Hasarlı gruplara 0, 7, 14, 21, 28. günlerde uygulanan ortalama WRL değerleri, kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarında sırasıyla, 0.gün; 2,58 sn, 2,75sn, 7.gün; 10,33sn, 10,55sn, 14.gün; 7,66sn, 8,16sn, 21.gün; 5,66sn, 6,21sn, 28.gün; 4,38sn, 4,72sn olarak bulunmuştur. WRL bulguları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, hasar öncesi yani 0.gün, kontrol ve obez gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Hasar sonrası 7.gün, obez-hasarlı ve kontrol-hasarlı gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Hasar sonrası 14.gün, obez-hasarlı ve kontrol-hasarlı gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Hasar sonrası 21.gün, obez-hasarlı ve kontrol-hasarlı gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Hasar sonrası 28.gün, obez-hasarlı ve kontrol-hasarlı gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol grubunda 0.gün ve 28.gün WRL değerleri karşılaştırıldığında, aralarındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Yine kontrol-hasarlı grubunda 7, 14, 21. günler 28. gün ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$). Obez grubunda 0.gün ve 28.gün WRL değerleri karşılaştırıldığında, aralarındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Yine obez-hasarlı grubunda 7, 14, 21. günler 28. gün ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0,01$).

8- Hasarlı gruplara hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonrası uygulanan sinir ileti hızı ölçümleri ortalama değerleri kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarında sırasıyla; hasar öncesi, 36m/sn, 34m/sn, hasar sonrası, 36m/sn, 35m/sn, rejenerasyon sonrası, 38m/sn, 36m/sn olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak, hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonucu kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarda sinir ileti hızı bulgularında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

9- Hasarlı gruplara hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonrası uygulanan birleşik aksiyon potansiyel amplitüdü ölçümleri ortalama değerleri kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarında sırasıyla; hasar öncesi, 24mV, 19mV, hasar sonrası, 19mV, 17mV, rejenerasyon sonrası, 20m/sn, 17m/sn olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak, hasar öncesi, kontrol ve obez gruplarda bileşik aksiyon potansiyel amplitüdü bulgularında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Kontrol hasar öncesi ve kontrol hasar sonrası ölçümlerde anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Hasar sonrası ve rejenerasyon sonucu kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarda bileşik aksiyon potansiyel amplitüdü bulgularında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

10- Hasarlı gruplara hasar öncesi, hasar sonrası ve rejenerasyon sonrası uygulanan EMG bulgularında; Kontrol hasar öncesi ölçümlerle, kontrol hasar sonrası ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol hasar öncesi ve kontrol rejenerasyon arasındaki fark çok anlamlıydı ($p < 0,01$).

Kontrol hasar öncesi ve obez hasar öncesi ölçümler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol hasar sonrası ve kontrol rejenere arasındaki fark çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Obez hasar öncesi ve Obez hasar sonrası ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Obez hasar öncesi ve obez rejenere arasındaki fark çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Kontrol hasar sonrası ve kontrol rejenere arasındaki fark çok anlamlıydı ($p < 0,01$).

11- İstatistiksel olarak P-P arası mesafe bulgularında; Kontrol hasar öncesi ölçümlerle, kontrol hasar sonrası ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol hasar öncesi ve kontrol rejenere arasındaki fark çok anlamlıydı ($p < 0,01$). Kontrol hasar öncesi ve obez hasar öncesi ölçümler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol hasar sonrası ve kontrol rejenere arasındaki fark çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Obez hasar öncesi ve Obez hasar sonrası ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Obez hasar öncesi ve obez rejenere arasındaki fark çok anlamlıydı. ($p < 0,01$). Kontrol hasar sonrası ve kontrol rejenere arasındaki fark çok anlamlıydı ($p < 0,01$).

12- İstatistiksel olarak P-max bulgularında; Kontrol hasar öncesi ölçümlerle, kontrol hasar sonrası ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol hasar öncesi ve kontrol rejenere arasındaki fark çok anlamlıydı ($p < 0,01$). Kontrol hasar öncesi ve obez hasar öncesi ölçümler arasındaki fark anlamlıydı ($p < 0,05$). Kontrol hasar sonrası ve kontrol rejenere arasındaki fark çok anlamlıydı ($p < 0,01$). Obez hasar öncesi ve Obez hasar sonrası ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Obez hasar öncesi ve obez rejenere arasındaki fark çok anlamlıydı ($p < 0,01$). Kontrol hasar sonrası ve kontrol rejenere arasındaki fark çok anlamlıydı ($p < 0,01$).

13- İmmünohistokimyasal incelemelerde siyatik sinir örnekleri üzerinde yapılan stereolojik değerlendirmede kontrol-hasarlı ve obez-hasarlı gruplarında Gap 43 pozitif boyanan akson sayısı sırasıyla, 3132, 2613 olarak belirlendi. İstatistiksel olarak bu iki grup arasında anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,05$).

14- İmmünohistokimyasal incelemelerde TGF- β 3 antikoruna ile Schwann hücre sitoplazmasında tüm gruplarda pozitif boyanma görüldü. İstatistiksel olarak kontrol ve obez gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$). Kontrol ve kontrol hasarlı grupları arasında çok anlamlı fark bulundu ($p < 0,01$). Obez ve obez hasarlı grupları arasında çok anlamlı fark bulundu ($p < 0,01$). Kontrol hasarlı ve obez hasarlı grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$).

15- Çalışmamızda, obezitenin rejenerasyon sonucu akson sayısına, akson alanına, Gap-43 protein miktarına olumsuz etkileri olduğu kanaatine vardık. Sonuç olarak obezitenin periferik sinir sistemi ve rejenerasyonu üzerine olumsuz etkilerini gözlemledik.

16- Kullandığımız yöntem ve bulduğumuz veriler dikkate alındığında yapmış olduğumuz çalışmamızın bilimsel literatüre katkısının olduğunu söylemek mümkündür.

KAYNAKLAR

- Aarts LH, Schotman P, Verhaagen J, Schrama LH, Gispen WH. The Role Of The Neural Growth Associated Protein B-50/GAP -43 in Morphogenesis. *ADV. Exp. Med. Biol.* 1998; 446: 85-106.
- Ağralı G. Maternal Obezitenin Perinatal ve Neonatal Sonuçlar Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Bakırköy Doğumevi Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim Hastanesi İstanbul. 2005; 21; 32.
- Akbay A. Periferik Sinirin Mikroanatomi ve Sinir Kesitlerinde Uygulanan Cerrahi Teknikler. *Türk Nöroşirurji Dergisi.* 2005; 15: 198-201.
- Altunkaynak BZ, Özbek E. Obezite: Nedenleri ve Tedavi Seçenekleri. *Van Tıp Dergisi* 2006; 13 (4):138-142.
- Altunkaynak ME, Özbek E, Altunkaynak BZ, Can İ, Ünal D, Ünal B. The effects of high-fat diet on the renal structure and morphometric parametric of kidneys in rats. *J. Anat.* 2008; 212: 845-852.
- Annagür BB. Obezitede Çeşitli Risk Faktörleri ve Dürtüsellik. *Current Approaches In Psychiatry.* 2010; 2(4): 572-582.
- Anselin AD, Fink T, Davey DF. An alternative to nerve grafts in peripheral nerve repair: Nerve guides seeded with adult Schwann cells. *Acta Chirurgicalia Austriaca.* 1998; 147:19-24.
- Armitage JA, Postonc L, Taylorc PD. Developmental Origins of Obesity and the Metabolic Syndrome: The Role of Maternal Obesity. In Korbonits M. editor. *O besity and Metabolism.* 1st Ed., Basel; Karger Front Horm Res.. 2008; 36: 73-84.
- Atalay FÖ, Üstün H. Periferik sinir sisteminde nöronal dejenerasyon, rejenerasyon ve nörodejeneratif hastalıklarda yeni tedavi modaliteleri. *Fiziksel Tıp.* 2004; 7(3): 157-162.
- Aydoğ ST, Tetik O, Demirel AH, Doral MD. Sporda Periferik Sinir Yaralanmaları. *Türk Nöroşirurji Dergisi.* 2005; 15: 250-56.
- Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast. Reconstr. Surg.* 1989; 83: 129-136.
- Barde YA, Lindsay RM, Monard D, Thoene H. New factor released by cultured glioma cells supporting survival and growth of sensory neurons. *Nature.* 1978; 274: 818.
- Bayramiçli M. Deneysel mikrocerrahi. Temel araştırma, doku ve organ nakil modelleri. 1.baskı, İstanbul, Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret AŞ. 2005; 342-43.

- Benli K. Periferik sinir cerrahisinin önemi. *Türk Nöroşirurji Dergisi*. 2005; 15:196-7
- Benowitz LI, Routtenberg A. GAP-43: An Intrinsic Determinant of Neuronal Development of Plasticity. *Trends Neurosci*. 1997; 20(2): 84-91.
- Berkemeier LR, Winslow JW, Kaplan DR, Nicolics K, Goeddel DV, Rosenthal A. Neurotrophin-5: a novel neurotrophic factor that activates trkB. *Neuron*. 1991; 7: 857-866.
- Berthold CH, Fabricius C, Rydmark M, Andersen B. Nov axoplasmic organelles at nodes of ranvier I. Occurence and distrubition in large myelinated spinal root axons of the adult cat. *J. Neurocytol*. 1993; 22: 925-40.
- Bullock J, Boyle J, Wang MB. *Circulatory system physiology* Baltimore. William&Wilkins . 1994; 57.
- Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg. Focus*. 2004; 16 (5): 1-7.
- Brushart TM. Nivre repair and grafting. In Green DP, Hotchkiss RN, Pederson WC, editors. *Green's operative hand surgery*. 4th ed., Philadelphia; Churchill Livingstone. 1999; 2: 1381- 403.
- Boyd JG and Gordon T. Glial cell line-derived neurotrophic factor and brain-derived neurotrophic factor sustain the axonal regeneration of chronically axotomized motoneurons in vivo. *Experimental Neurology*. 2003; 183: 610-619.
- Cabaud HE, Rodkey WG, and Nemeth TJ. Progressive ultrastructural changes after peripheral nerve transection and repair. *J. Hand. Surg*. 1982; 7: 353.
- Canan S, Aktaş A, Ulkay MB, Colakoglu S, Ragbetli MÇ, Ayyildiz M, Geuna S, Kaplan S. Prenatal exposure to a non-steroidal anti-inflammatory drug or saline solution impairs sciatic nerve morphology: a stereological and histological study. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2008; 26: 733-738.
- Cragg BG and Thomas PK. The conduction velocity of regenerated peripheral nerve fibers. *J. Physiology*. 1964; 171: 164.
- Çolak R, Dönder E, Karaoglu A, Ayhan O, Yalnız M. Obesity and the Activity of the Autonomic Nervous System. *Türk J Med Sci*. 1997; 30.
- Dahlin LB. The biology of nerve injury and repair. *J Am Soc Surg Hand*. 2004; 4(3): 143-55.

- Daneyemez MK, Seçer Hİ. Periferik sinir yaralanmaları ve fizyopatolojisi. Demircan N, Zileli M. Editör, Periferik Sinir Cerrahisinin'de, 1.Baskı, İstanbul; Buluş Tasarım ve Matbaacılık. 2008; 99-108.
- Davison S.P., McCaffrey T.V., Porter M.N., Mandres E. Improved Nerve Regeneration with Neutralization of Transforming Growth Factor-beta 1. *Laryngoscope*. 1999; 109: 631-635.
- Dijkstra JR, Meek MF, Robinson PH, Gramsbergen A. Methods to evaluate functional nerve recovery in adult rats: Walking track analysis, video analysis and the withdrawal reflex. *J. Neurosci Methods*. 2000; 96(2): 89-96.
- Duerenberg P, Weststrate JA, Seidell JC. Body mass index as a measure of body fatness: Age-and sex-specific prediction formulas. *British J Nutr*. 1991; 65: 105-114.
- Dvali L, Mackinnon S. Peripheral nerve repair and transfers. In McCarthy JG, Galiano RD, Boutros SG, (ed). *Current therapy in plastic surgery*. Philadelphia: Saunders Elsevier. 2006 ; 568-73.
- Donato R, Cheema S, Finkelstein D, Bartlett P, Morrison W. Role of leukaemia inhibitory factor in rat peripheral nerve regeneration. *Annals of the Academy of Medicine* 1995; 24: 94-100.
- Einheber S, Hannocks MJ, Metz C.N, Rifkin D.B, Salzer J.L. Transforming Growth Factor-beta 1 Regulates Axon/Schwann Cell Interactions. *Journal of Cell Biology*. 1995; 129: 443-458.
- Eraslan D. Öztür Ö. Kayahan B. Zorlu N. Veznedaroğlu B. Şizofreni, atipik antipsikotikler ve obezite. *Anadolu Psikiyatri Dergisi*. 2006; 7:167-172.
- Ernfors P, Ibanez CF, Ebendal T, Olson L, Persson H.. Molecular cloning and neurotrophic activities of a protein with structural similarities to nerve growth factor: developmental and topographical expression in brain. *Proceedings of the national academy of sciences of the USA* 87. 1990; 5454-5458.
- Ersoy R, Çakır B, Obezite, *Turkish Medical Journal*. 2007; 1: 107-116.
- Ertaş M. Periferik sinirlerin anatomi , fizyoloji ve patolojik süreçleri. ÖGE A.E. Editör, İstanbul Tıp Nöroloji Kitabı. 1.baskı, İstanbul; Nobel Matbaacılık. 2004; 555- 62.
- Ertekin C. Sentral ve periferik EMG anatomi- fizyoloji- klinik. 2.Baskı, İzmir, Meta Basım. 2006; 73-154.
- Fa Fernandez E, Pallini R, Lauretti L, Scogna A. Neurosurgery of the peripheral nervous system: injuries, degeneration and regeneration of the peripheral nerves. *Surg Neurol*. 1997; 48: 446-447.

- Friedman B, Scherer SS, Rudge JS, Helgren M, Morrisey D, McLain J. Regulation of ciliary neurotrophic factor expression in myelin-related Schwann cells in vivo. *Neuron*. 1992; 9: 295-305.
- Frostick SP, Yin Q and Kemp GJ. Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. *Microsurgery*, 1998; 18: 397-405.
- Forman, D.S., and Berenberg, R.A.; Regeneration of motor axons in the rat sciatic nerve studied by labeling with axonally transported radioactive proteins, *Brain Res*. 1978; 156: 213.
- Funakoshi H, Risling M, Carlstedt T, Lendahl U, Timmusk T, Metsis M, Yamamoto Y and Ibanez CF. Targeted expression of a multifunctional chimeric neurotrophin in the lesioned sciatic nerve accelerates regeneration of sensory and motor axons. *Proc Natl Acad Sci*. 1998; 95: 5269-5274.
- Garbay B., Heape AM., Sargueil F. Myelin synthesis in peripheral nervous system *Prog. Neurobiol*. 2000; 61: 267-304.
- Gartner LP, Hiatt JL. *Color textbook histology*. 2nd baskı. Philadelphia: Saunders Elsvier. 2001; 216.
- Gravvanis AI, Tsoutsos DA, Tagaris GA, Papalois AE, Patralexis CG, Iconomou TG, Panayotou PN, and Ioannovich JD. Beneficial effect of nerve growth factor-7S on Peripheral nerve regeneration through inside-out vein grafts: an experimental study. *Microsurgery*. 2004; 24(5): 408-15.
- Gordon T, Sulaiman O, Boyd GJ. Experimental strategies to promote functional recovery after peripheral nerve injuries. *J Peripheral Nervous System*. 2003; 8: 236-250.
- Guenard V., Rosenbaum T., Gwynn L.A., Doetschman T., Ratner N., Wood P.M., Effect of Transforming Growth Factor-beta 1 and -beta 2 on Schwann Cell Proliferation on Neurites, *Glia*. 1995; 13: 309-318.
- Gutman E, Sanders FK. Recovery of Fibre Numbers and Diameters in the Regeneration of Peripheral nerves. *J. Physiology*. 1943; 489-518.
- Gülcan E, Özkan A. Obesity. *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*. 2006; 10: 21-30.
- Gülle K, Çeşitli Sıçan Dokularında Ob- Protein (Leptin)'in İmmünohistokimyasal Olarak Tanımlanması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Isparta, Yüksek Lisans Tezi, 2002: 1-68.
- Hadlock TA, Heaton J, Cheney M, Mackinnon SE. Functional recovery after facial and sciatic nerve crush injury in the rat. *Arch Facial Plast Surg*. 2005; 7(1): 17-20.

- Hallbrook F, Ibanez CF, Persson H. Evolutionary studies of the nerve growth factor family reveal a novel member abundantly expressed in xenopus ovary. *Neuron*. 1991; 6 (5): 845-858.
- He C, Chen Z. Enhancement of motor nerve regeneration by nerve growth factor. *Microsurgery*. 1992; 13(3): 151-4.
- Hirakawa H, Okajima S, Nagaoka T, Takamatsu T, Oyamada M. Loss and recovery of the blood- nerve barrier in the rat sciatic nerve after crush injury are associated with expression of intercellular junctional proteins. *Exp Cell Res*. 2003; 284(2): 196-210.
- Hirata Kazuho and Kawabuchi Masaru. Myelin phagocytosis by macrophages and nonmacrophages during wallerian degeneration. *Microscopy Research and Technique*. 2002; 57: 541-547.
- Hu D, Hu R, Berde CB. Neurologic evaluation of infant and adult rats before and after sciatic nerve blockade. *Anesthesiology*. 1997; 86(4): 957-65.
- Jebb SA. Vücut Bilesiminin Ölçülmesi: Laboratuardan Kliniğe. Kopelman PG, Stock MJ, editörler. *Klinik Obezite*. 1. Baskı. İstanbul; AND Yayıncılık. 2000; 18-49.
- Jessen KR, Mirsky R. Origin and Early Development of Schwann Cells. *Microscopy Research and Technique*. 1998; 41: 393-402.
- Jones LL, Oidega M, Bunge MB and Tuszynski MH. Neurotrophic factors, cellular bridges and gene therapy for spinal cord injury. *J Physiology*. 2001; 533(1): 83-89.
- Kalan I, Yeşil Y. Obezite ile İlişkili Kronik Hastalıklar. MİSED Türk Eczacıları Birliği Yayını/Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi. 2010; 23: 78-81.
- Kanaya F, Firrell JC, Breidenbach WC. Sciatic function index, nerve conduction tests, muscle contraction, and axon morphometry as indicators of regeneration. *Plast Reconstr Surg*. 1996; 98(7): 1264-71.
- Kaplan S, Odacı E, Ünal B, Şahin B, Fornaro M. Development of the peripheral nerve. *International Review of Neurobiology*. 2009; 87:9-26.
- Kaplan S, Pişkin A, Ayyıldız M, Aktaş A, Köksal B, Ulkay MB, Türkmen AP, Bakan F, Geuna S. The effect of melatonin and platelet gel on sciatic nerve repair: an electrophysiological and stereological study. *Wiley*. 2011; DOI 10. 1002 / micr. 20876.
- Kaptanoğlu E. Omurilik rejenerasyonu ve kök hücre uygulamaları. *Türk Fiz. Tıp Rehab. Derg*. 2008; 54 (2); 38-45.
- Keski Oja J., Lyons R.M., Moses H.L. Inactive Secreted Form of TGF- β : Activation by Proteolysis. *Journal of Cellular Biochemistry*. 1987; 11: 60-65.

- Klein S, Allison DB, Heymsfield SB, Kelley DE, Leibel RL, Nonas C, Kahn R. Waist circumference and cardiometabolic risk. *Diabetes Care*. 2007; 30: 1647-1651.
- Koka R, Hadlock TA. Quantification of functional recovery following rat sciatic nerve transection. *Exp Neurol*. 2001; 168(1): 192–5.
- Krystosek A. and Seeds NW. Plasminogen activator release at the neural growth cone. *Science*. 1982; 213: 1532.
- Lawrence HB: *Cells and Tissue: Gray's Anatomy*. Williams PL , Ed. 38th edition, Edinburgh; Churchill Livingstone. 1995; 17-90.
- Lee AC, Yu VM, Lowe YB, Brenner MJ, Hunter DA, Mackinnon SE, Elbert-Sakiyama SE. Controlled release of nerve growth factor enhances sciatic nerve regeneration. *Experimental Neurology*. 2003; 184 (1): 295-303.
- Letourneau, P.C.: Immunocytochemical evidence for colocalization in neurite growth cones, of actin and myosin and their relationship to cell-substratum adhesions. *Dev. Biol.*1981; 85: 113.
- Lundborg G. Nerve regeneration and repair. A review. *Acta Orthop Scand*. 1987; 58(2): 145- 69.
- Lundborg G. *The nerve trunk, Nerve injury and repair*. New York, Churchill Livingstone.1988: 32-63.
- Luis AL, Amado S, Geuna S, Rodrigues JM, Simões MJ, Santos JD, Fregnan F, Raimondo S, Veloso AP, Ferreira AJ, Armada-da-Silva PA, Varejão AS, Maurício AC. Long-term functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. *J Neurosci Methods*. 2007; 163(1): 92–104.
- Mackinnon SE, New directions in peripheral nerve surgery. *Ann Plast Surg*. 1989; 22-257.
- Makwana M, Raivich G. Molecular mechanisms in successful peripheral regeneration. *FEBS Journal*. 2005; 272(11): 2628-2638.
- Martins RS, Siqueira MG, da Silva CF, Plese JP. Correlation between parameters of electrophysiological, histomorphometric and sciatic functional index evaluations after rat sciatic nerve repair. *Arq Neuropsiquiatr*. 2006; 64(3B): 750–6.
- Matson, D.D.; Early neurolysis in the treatment of peripheral nerves due to faulty injection of antibiotics. *N. Eng. J. Med*. 1950; 242: 973.

- Midha R, Munro CA., Dalton PD, Tator CH and Shoiched MS. Growth factor enhancement of peripheral nerve regeneration through a novel synthetic hydrogel tube. *J Neurosurg.* 2003; 99: 555-565.
- Mirajullah M, Xinya S. Schwann cells: Leader of nervenkitt. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2002; 14(1): 30-33.
- Miscio G, Guastamacchia G, Brunani A, PrianoL, Baudo S, and Mauro A. Obesity and peripheral neuropathy risk: a dangerous liaison. *Journal of the Peripheral Nervous System.* 2005; 10:354–358.
- Molarius A, Seidel JC, Sans S, Toumilehto J, Kuulasmaa K. Varying sensitivity of waist action levels to identify subjects with overweight or obesity in 19 populations of the WHO MONICA Project. *J Clin Epidemiol.* 1999; 52: 1213-1224.
- Moroco J.R., Hinton R., Buschang P., Milam S.B. Iacopino A.M., Type II Collagen and TGF- β s in Developing and Aging Porcine Mandibular Condylar Cartilage: Immunohistochemical Studies. *Cell and Tissue Research,* 1997; 289: 119-124.
- Newman JP. Ciliary neurotrophic factors enhances periferal nerve regeneration. *Achives of otolaryngology-Head and Neck Surgery* 1996; 122 (4): 399-403.
- Okutan Ö. Periferik sinir sisteminin anatomisi. Demircan N, Zileli M., Editörler. *Periferik Sinir Cerrahisi. 2.baskı, İstanbul; Buluş Tasarım ve Matbaacılık.* 2008:7-26.
- Orhan Y. Şismanlık. Sencer E, Editör. *Endokrinoloji, Metabolizma ve Beslenme Hastalıkları. 1. Baskı. İstanbul; Nobel Tıp Kitap evleri.* 2001; 716-33.
- Oudega M, Hagg T. Nerve growth factor promotes regeneration of sensory axons into rat spinal cord. *Experimental Neurology.* 1996; 140 (2): 218-29.
- Özbayoğlu A.C. Deneysel sıçan siyatik sinir ezilme tarzı yaralanma modelinde sinir rejenerasyonunda trombosit zengin plazmanın etkileri. *Uzmanlık Tezi. Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi. Eskişehir.* 2008;84-100.
- Özmen S, Uç-yan sinir anastomozunda alıcı sinir distal ucunda epinörium rezeksiyonunun rejenerasyona etkisi. *Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, Uzmanlık Tezi,* 2002; 2-65.
- Pagnotta A, Tos P, Fornaro M, Gigante A, Geuna S, Battiston B. Neurotrophins and their receptors in early axonal regeneration along muscle-vein-combined grafts. *Microsurgery.* 2002; 22: 300-303.
- Pi-Sunyer FX. NHLBI Obesity Education Initiative Expert Panel of the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults-the evidence report. *Obes Res.* 1998; 6: 51-209.

- Puigdemívol-Sanchez A, Prats-Galino A, Molander C. On regenerative and collateral sprouting to hind limb digits after sciatic nerve injury in the rat. *Restor Neurol Neurosci.* 2005; 23(2): 97–107.
- Pu LL, Syed SA, Reid M, Patwa H, Goldstein JM, Forman DL, Thomson JG. Effects of nerve growth factor on nerve regeneration through a vein graft across a gap. *Plast Reconstr Surg.* 1999;104(5):1379–85.
- Quan D, Bird S. Nerve conduction studies and electromyography in the evaluation of peripheral nerve injuries. *Orthopaedic Journal.* 1999; 12: 45-51. Robinson LR. Traumatic injury to peripheral nerves. *Muscle & Nerve.* 2000; 23: 863-873.
- Rende M, Muir D, Ruoslahti E, Hagg T, Varon S, Manthorpe M. Immunolocalisation of ciliary neurotrophic factor in adult rat sciatic nerve. *Glia.* 1992; 5(1): 25-32.
- Ross MH, Pawlina W. *Histology: A text and atlas.* Baltimore, Philadelphia, 5th ed, Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
- Rufer M, Flanders K, Unsicker K. Presence and Regulation of Transforming Growth Factor beta mRNA and Protein in the Normal and Lesioned Rat Sciatic Nerve. *Journal of Neuroscience Research.* 1994; 39: 412-423.
- Rupp A, Dornseifer U, Rodenacker K, Fichter A, Jütting U, Gais P, Papadopoulos N, Matiasek K. Temporal progression and extent of the return of sensation in the foot provided by the saphenous nerve after sciatic nerve transection and repair in the rat - implications for nociceptive assessments. *Somatosens Mot Res.* 2007;24(1–2):1–13.
- Samorajski T. A relation between the number of myelin lamellae and axon circumference in fibers of vagus and sciatic nerves of mice. *F. Comp. Neurol.* 1967; 130:223
- Sansoy V. Obesity, abdominal obesity and their relation with other risk factors in Turkish adults. In: Onat A, editor. 1st Ed., Istanbul; TEKHARF. MAS. 2003; 64–69.
- Santos X, Rodrigo J, Hontanilla B and Bilboa G. Evaluation of peripheral nerve regeneration by nerve growth factor locally administered with a novel system. *J Neuroscience Methods.* 1998; 85 (1): 119-127.
- Satinsky D, Pepe FA and Liu CN. The neurolemma cell in peripheral nerve degeneration and regeneration. *Exp. Neurol.* 1964; 9: 441-451.
- Satman İ, Sengül AM, Uygur S, Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, Bastar I, Tütüncü Y, Sargin M, Dinççag N, Karsidag K, Kalaça S, Özcan C, King H, and The TURDEP Group Population based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care.* 2002; 25: 1551-1556.

- Scherer S.S., Kamholz J., Jakowlew S.B. Axons Modulate the Expression of Transforming Growth Factor-betas in Schwann Cells. *Glia*. 1993; 8: 265-276.
- Seckel BR. Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve*. 1990; 13(9): 785–800.
- Selzer ME, Regeneration of peripheral nerve; In Sumner A.J,(Ed), *The physiology of Peripheral Nerve Disease*. 3rd Ed., Philadelphia; W.B Saunders Company. 1980; 358-431.
- Shah M., Foreman D.M., Ferguson M.W.J. Neutralisation of TGF- β 1 and TGF- β 2 or Exogenous Addition of TGF- β 3 to Cutaneous Wounds Reduces Scarring. *Journal of Cell Science*. 1995; 108: 983-1002.
- Shenaq SM, Kim JYS. Repair and grafting of peripheral nerve. Mathes SJ, editor. *Plastic surgery*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier. 2006; 1: 719–43.
- Shen Y, Mani S, Donovan SL, Schwob JE, and Meiri KF. Growth-Associated Protein-43 Is Required for Commissural Axon Guidance in the Developing Vertebrate Nervous System. *The Journal of Neuroscience*. 2002; 22(1): 239-247.
- Shir Y, Zeltser R, Vatine JJ, Carmi G, Belfer I, Zangen A, Overstreet D, P, Seltzer Z. Correlation of intact sensibility and neuropathic pain-related behaviors in eight inbred and outbred rat strains and selection lines. *Pain*. 2001; 90(1–2): 75–82.
- Snell RS. *Clinical Neuroanatomy for Medical Students*. Second edition. Little Brown and Company, Boston. 1990: 47-75.
- Spencer, P.S. Morphology of the injured peripheral nerve. In Daniel, R.K. and Terzis, J.K. editors. *Reconstructive Microsurgery*. 2nd Ed., Boston; Little Brown and Company. 1977; 342: 349.
- Stark B., Carlstedt T., Risling M. Distribution of TGF-beta, the TGF-beta Type I Receptor and the R-II Receptor in Peripheral Nerves and Mechanoreceptors; Observations on Changes after Traumatic Injury. *Brain Research*. 2001; 913: 47-56.
- Stoll G, Müller HW. Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. *Brain Pathology*. 1999; 9: 313-325.
- Stoll G, Jander S and Myers RR. Degeneration and regeneration of the peripheral nervous system: From Augustus Waller's observations to neuroinflammation. *J Peripheral Nervous System*. 2002; 7: 13-27.
- Styne DM. Childhood and adolescent obesity. Prevalence and significance. *Pediatr Clin North Am* 2001; 48: 823-54.
- Sulaiman O.A., Gordon T. Transforming Growth Factor-beta and Forskolin Attenuate

- the Adverse Effects of Long-term Schwann Cell Denervation on Peripheral Nerve Regeneration in vivo. *Glia*. 2002; 37: 206-218.
- Sunderland S. The anatomy and physiology of nerve injury. *Muscle Nerve*.1990;13(9):771-84.
- Tennyson VM. The fine structure of the axon the growth cone of the dorsal root neuroblast of the rabbit embryo. *J.Cell Biol*. 1970; 44(1): 62-79.
- Terzis JK, Smith KL. Repair and grafting of the peripheral nevre. In McCarthy JG,May JW, Litter WJ, editors. *Plastic surgery*. Philadelphia; WB Saunders. 1990; 1: 630-97.
- Terenghi G. Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors. *J Anat*. 1999; 194: 1-14.
- Tetik C, Erol B, Çabukoğlu C, Ünsal M. Comparison of the functional evaluation methods in rat sciatic nevre model by a new system. *Acta OrthopTraumatol Turc*. 2000; 34: 523-7.
- Thalhammer JG, Vladimirova M, Bershadsky B, Strichartz GR. Neurologic evaluation of the rat during sciatic nerve block with lidocaine. *Anesthesiology*. 1995; 82(4): 1013-25.
- Thomas PK. The Deposition of collagen in relation to schwann cell basement membrane during peripheral nerve regeneration. *J.Cell Biol*. 1964; 23: 375-82.
- Thomas, P.K, Landon D.N, and King, R.H.N. Normal structural of the peripheral nevre. Adams, J.H, and Corcellis, J., and Duchen, L.W. Editors. *Greenfield's Neuropathology*. 3st Ed., Newyork; John Wiley and Sons. 1984; 41- 93.
- Thomas PK., Berthold CH., Ochoa J., *Microscopic anatomy of the peripheral nervous system*. In Dyck P., Saunders WB., editors. *Peripheral Neuropathy*. 3st Ed., Philadelphia. 1993: 28-80.
- Tubitak. *Bilim ve Teknik*. Obezite. Mart. 2007; 1-15.
- Tüzün M. obezite tanım, sıklık, tanı, sınıflandırma, tipleri, dereceleri ve Komplikasyonları. İn. Yılmaz C. Ed. *Obezite ve tedavisi*. 1.baskı, İstanbul; Mart matbaacılık sanatları Ltd. 1999:1-18.
- Uzun A. Maternal obezitenin prenatal ve postnatal gelişim üzerine etkileri. Yüksek lisans tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı. Isparta. 2011;1-3.
- Varejao AS, Cabrita AM, Patricio JA, Bulas-Cruz J, Gabriel RC, Melo-Pinto P, Couto PA, Meek MF. Functional assessment of peripheral nerve recovery in the rat: Gait kinematics. *Microsurgery*. 2001;21(8): 383-8.

- Varejao AS, Cabrita AM, Geuna S, Melo-Pinto P, Filipe VM, Gramsbergen A, Meek MF. Toe out angle: a functional index for the evaluation of sciatic nerve recovery in the rat model. *Exp Neurol.* 2003; 183(2): 695–9.
- Varejao AS, Cabrita AM, Meek MF, Bulas-Cruz J, Melo-Pinto P, Raimondo S, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG. Functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. *J Neurotrauma.* 2004; 21(11): 1652–70.
- Vogelaar CF, Vrinten DH, Hoekman MF, Brakkee JH, Burbach JP, Hamers FP. Sciatic nerve regeneration in mice and rats: Recovery of sensory innervation is followed by a slowly retreating neuropathic pain-like syndrome. *Brain Res.* 2004; 1027(1–2): 67–72.
- Wakefield L.M., Smith D.M., Masui T., Harris C.C. Sporn M.B., Distribution and Modulation of the Cellular Receptor for Transforming Growth Factor-beta. *Journal of Cell Biology.* 1987; 105: 965-975.
- Wang R., Ghahary A., Shen Q., Scott P., Roy K., Tredget E.E. Hypertrophic Scar Tissues and Fibroblasts Produce more Transforming Growth Factor- β 1 mRNA and Protein than Normal Skin and Cells, *Wound Repair and Regeneration.* 2000; 8: 128-137.
- Watcho P., Stavniichuk R., Ribnický DM, Raskin I, and Obrosova IG. High-Fat Diet-Induced Neuropathy of Prediabetes and Obesity: Effect of PMI-5011, an Ethanolic Extract of *Artemisia dracunculoides* L. *Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation.* 2010; 10:1155-1165.
- Watkins ML, Rasmussen AS, Honein M.A, Botto L.D ve Moore C.A. Maternal Obesity and Risk for Birth Defects. *Pediatrics.* 2003;111:1152- 1158.
- Weiss P. The technology of nerve regeneration; a review. Sutureless tubulation and related methods of nerve repair. *J. Neurosurg.* 1944; 1: 400.
- Williams AC, Brophy PJ. 2002. The function of the Periaxin gene during nerve repair in a model of CMT4F. *J. Anat.* 2002; (4): 323–30.
- World Health Organization Expert Committee: Physical Status: The Use and Interpretation of Anthropometry. WHO Technical Report Series no. 854. Geneva, World Health Organization, 1995.
- Yamamori T, Fukada K, Aebersold R, Korsching S, Fann MJ, Patterson PH. The cholinergic neuronal differentiation factor from heart cells is identical to leukaemia inhibitory factor. *Science.* 1989; 246 (4936): 1412-1416.
- Zochodne DW. The microenvironment of injured and regenerating peripheral nerves. *Muscle Nerve.* 2000; 9: 33-38.

EKLER



T.C.
**ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ HAYVAN
DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU SAMSUN**

Sayı : HADYEK/96

17/08/2010

Konu : Araştırma projeniz hk.

Yrd. Doç. Dr. Berrin Zuhul ALTUNKAYNAK
OMÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

2010/42 numaralı "Sıçanlarda Yüksek Yağlı Diyetle Oluşturulan Obezitenin Periferik Sinir Rejenerasyonu Üzerine Etkisinin Araştırılması" konu başlıklı Projeniz; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 16.08.2010 tarihli toplantısında görüşülmüş, Hayvan Hakları ve Deney Etiği açılarından uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Araştırmanın yürütüldüğü süreç içinde etik kurallar ve hayvan haklarına uygunluk yönünden sorumluluk araştırmacılara ait olmak kaydıyla ve 6 aylık dönemler halinde Çalışma Raporu verilmesi şartıyla çalışmanıza başlamanız uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Feriŕat KOLBAKIR
HAD YEK Baŕkan

ÖZGEÇMİŞ

24.01.1982 Ordu-Fatsa doğumluyum. İlköğrenimimi 1993 yılında Samsun Seyfi Demirsoy İlkokulunda, Orta öğrenimimi 1996 yılında Samsun Atatürk Ortaokulunda, Lise öğrenimimi 2000 yılında Samsun Atatürk Anadolu Lisesinde tamamladım. 2001 yılında Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandım 2006 yılında mezun oldum. 2008 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimime başladım.