

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

**PRENATAL DÖNEMDE UYGULANAN DİKLOFENAK  
SODYUMUN 4 HAFTALIK SIÇANLARIN NERVUS  
MEDIANUSUNA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Ebru AYRANCI

Samsun  
Ocak-2010

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

**PRENATAL DÖNEMDE UYGULANAN DİKLOFENAK  
SODYUMUN 4 HAFTALIK SIÇANLARIN NERVUS  
MEDIANUSUNA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

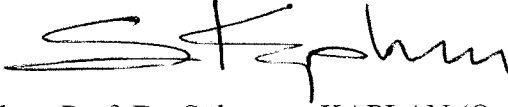
Ebru AYRANCI

Danışman: Prof. Dr. Süleyman KAPLAN

Samsun  
Ocak-2010

TC.  
ONDOKUZMAYIS 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: Doç. Dr. Bünyamin ŞAHİN (Ondokuz Mayıs Üniversitesi)



Üye: Yrd. Doç. Dr. B. Zuhâl ALTUNKAYNAK (Ondokuz Mayıs Üniversitesi)

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurul'unca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun Görülmüştür.

**Prof.Dr.Süleyman KAPLAN**  
**Enstitü Müdürü**

**TEŞEKKÜR**

Bu tezin hazırlanmasında yol gösteren ve büyük emeği geçen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım olan hocam Prof. Dr. Süleyman KAPLAN' a, sabrı ve desteğiyle yardımını esirgemeyen sevgili hocam Yrd. Doç Dr. Berrin Zuhale ALTUNKAYNAK' a, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalındaki hocam Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ' a, istatistik hesaplamalarındaki yardımlarından dolayı Başkent Üniversitesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Yrd. Doç. Dr. Ayşe Canan YAZICI' ya, manevi desteği için doktora öğrencisi arkadaşım Mehmet Emin ÖNGER'e, bölümde her zaman yanımda olan arkadaşlarım Vicdan AYDOĞAN'a ve Buket Korkmaz'a , Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinin sayın idarecileri ve personeline, tez çalışmamı PYO.TIP.1904.09.046 no'lu proje olarak destekleyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Fonu'na ve desteğini hep yanımda hissettiğim anneme, babama, eşim ve oğluma teşekkür ederim.

**Ebru AYRANCI**

**ÖZET****PRENATAL DÖNEMDE UYGULANAN DİKLOFENAK SODYUMUN 4 HAFTALIK SIÇANLARIN NERVUS MEDIANUSUNA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Nonsteroidal antiinflatuar ilaçların, farklı yollarla organizmaya etki ettikleri bilinmektedir. İntrauterin hayatta bu ilaçların kullanılması plasenta ve fetüse ait bazı damarları genişletirken bazı damarların da daralmasına ve kapanmasına neden olabilmektedir. Bu tür etkileri olan ilaçların sinir sistemi üzerinde de etkilerinin olabileceği beklenebilir. Median sinir ön kolda, bilek ve parmakların içe bükülmesini sağlayan kasları innerve eden; elde, avuç içi ve parmak uçlarına dallar veren bir sinirdir. Bu önemi nedeniyle araştırma bölgesi olarak postnatal dört haftalık sıçanların median siniri seçildi ve prenatal dönemde kullanılan diklofenak sodyumun postnatal 4. haftada median sinir üzerinde oluşturabileceği olası etkilerin araştırılması amaçlandı.

Bu amaçla çalışmada kullanılan *Wistar albino* cinsi, erişkin dişi sıçanlar ile erkek sıçanlar çiftleşmeye bırakıldı (150–200 gr; n= 6). Çiftleşme sonrası vajinal plak gözlenen ve gebe kaldığı kabul edilen sıçanlar üç gruba ayrıldı. Bunlar hiçbir işlemin yapılmadığı kontrol (Kont), serum fizyolojik uygulanan (SF) grup ve diklofenak sodyum (DS) uygulanan gruptur. SF ve DS gruplarının her ikisi gebeliklerinin 5. gününden 19. gününe kadar, SF grubuna günlük 1 ml/kg serum fizyolojik; DS grubuna ise aynı sürede günlük 1mg/kg diklofenak sodyum enjekte edildi. Doğumdan sonra 4. haftada sakrifiye edilen erkek ve dişi sıçanların sağ nervus medianusları disseke edildi. Elektron mikroskopik takibi yapılan median sinir örneklerinden elde edilen 1µm kalınlığındaki kesitler toluidine mavisi ile boyandı. Kesitlerde bilgisayar destekli stereolojik analiz sistemi (CAST-GRID) kullanılarak akson sayısı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı analizleri yapıldı.

Analizlerden elde edilen bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucunda erkek sıçan grupları arasında akson sayısı bakımından anlamlı bir fark olmadığı; buna rağmen akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümlerinde gruplar arasında anlamlı fark olduğu gözlemlendi. Dört haftalık dişi sıçanlardan oluşan kontrol, serum fizyolojik ve diklofenak sodyum gruplarına ait örnekler üzerinde yapılan eş ölçümler sonucunda; gruplar arasında akson sayısı, akson alanı ve miyelin kalınlığı bakımından anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Serum fizyolojik ve diklofenak sodyum uygulanan gruplarda hiçbir parametre açısından cinsiyete bağlı bir fark bulunmadı. Buna karşın, kontrol grubunda erkek ve dişi sıçanlardan elde edilen sinir örnekleri üzerinde yapılan akson sayısı, akson kesit alanı ve miyelin kılıf kalınlığı değerlendirmesinden elde edilen sonuçlara göre; sözü edilen grupların tüm parametreler açısından aralarında anlamlı ölçüde fark olduğu gözlemlendi.

Diklofenak sodyum grubundan elde edilen median sinir örneklerinde uygulanan diklofenak sodyuma bağlı olarak herhangi bir makroskopik anormallik gözlenmedi. Fakat yer yer miyelin kılıflarda büzüşme ve dejenerasyonun olduğu mikroskopik incelemede tespit edildi. Dişilerde kontrol ve deney grupları arasında hiçbir parametre bakımından anlamlı bir fark yokken, erkek sıçanlarda gruplar arasında bir farkın olması; dişilerde periferik sinir gelişiminin erkeklere göre daha iyi korunduğunu düşündürmektedir. Gebelerde diklofenak sodyum gibi ilaçların kullanımının kaçınılmaz olduğu durumlarda, daha düşük dozda uygulanmasının gerekli olduğu unutulmamalıdır.

Ebru AYRANCI,  
Yüksek Lisans Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, Ocak 2010

**ABSTRACT****ANALYSIS OF THE MEDIAN NERVE ON FOUR WEEKS RATS EXPOSED TO  
DICLOFENAC SODIUM IN PRENATAL PERIOD**

It is well known that non-steroidal anti-inflammatory drugs affect organism with different ways. Although using these drugs during intra-uterine life causes enlargement of fetal and placental vessels whereas they do constrict some of vessels. Such drugs that have dilator or constrictor effects on the vessels may also be expected some effects on the nervous system. Median nerve is one of the motor nerves that is found in the ante brachium, innerves muscles providing to fold inside of wrist and fingers and also it gives branches to palms and fingertips. Because of this importance, median nerve of four-week old rats was chosen as research object. So it was aimed to investigate the possible effects of diclofenac sodium on median nerve that was exposed during prenatal life at 4-week old rats.

For this purpose, adult female rats (*Wistar; Albino*) were left with adult male rats for one night. Female rats that have a vaginal plaque were taken into the experiment. They were divided equally into three groups (n=6; 150-200 gr weight). They are control, saline and diclofenac sodium groups. The pregnant control group rats were not exposed any substance; they were intact and not touched. The pregnant saline and diclofenac sodium groups were exposed to saline (1ml/kg) or diclofenac sodium (1ml/kg) from 5<sup>th</sup> day of their gestation to 19 day of the gestation period, respectively. After postpartum, all male and female rat litters at 4-week age were sacrificed, and their right median nerves were dissected. After electron microscopic processes they were embedded in resin, 1 $\mu$ m thickness sections were taken from the tissue blocks. After these sections were stained by toluidine blue, numbers of axon, area of axon and myelin thickness were estimated using stereology software (CAST-GRID).

According to our results; there is no significant difference between groups of males with regard to number of axons; but axon area and myelin sheath thickness measurements revealed significant differences in males. The same analysis was carried out at the nerve of female rats, there were not found a significant difference among groups in respect of any parameters. It was not seen sex-related difference in terms of all parameters between the saline and the diclofenac groups, on the other hand, the male and female experimental subjects of the control groups significantly different from each other in terms of axon number, axon cross section area and myelin sheath thickness.

There was not observed any drug-dependent macroscopic abnormality in median nerve samples of this study. But some myelin degeneration and shrinkage were detected microscopically. While the control and experimental groups i.e. saline and DS of females were not different from each other with regard to any parameter; there are some differences found among the male groups may be considered that peripheral nerves of females are well protected than the peripheral nerves of males. During the pregnancy in which using of diclofenac sodium like drugs is inevitable; it should be considered using of a lower dose of this drug.

**İÇİNDEKİLER**

<b>GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b>	<b>2</b>
2.1. Nonsteroidal Anti-enflamatuar İlaçlar	2
2.2. Prostaglandinler	8
2.3. Eikozanoidlerin Etki Mekanizması	9
2.4. Sinir Sisteminin Gelişimi	12
2.5. Periferik Sinir Sisteminin Organizasyonu	16
2.7. Periferik Sinir Sistemi Anatomisi	23
2.8. Periferik Sinir Zedelenmesi	26
2.9. Stereoloji Kavramına Genel Bakış	29
2.10. Konu ile İlgili Literatür Özeti	32
<b>MATERYAL ve YÖNTEM</b>	<b>37</b>
3.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer	37
3.2. Deneklerin Seçimi	37
3.3. Deneysel Prosedür	38
3.4. Histolojik İşlemler	39
3.5. Stereolojik İşlemler	40
3.6. Bilgisayar Destekli Stereolojik Analiz Sistemi	44
3.7. İstatistiksel Değerlendirme	45
<b>BULGULAR</b>	<b>46</b>
4.1. Stereolojik Bulgular	46
4.2. Stereolojik Analizlerin İstatistiksel Açıdan Değerlendirilmesi	69
4.3. Histopatolojik Bulgular	71
<b>TARTIŞMA</b>	<b>74</b>
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>81</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>83</b>
<b>EKLER</b>	<b>91</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>93</b>

## GİRİŞ

Özellikle 20. yüzyılın sonlarına doğru gelişen teknoloji ve serbest ticaret anlayışı ile birlikte sağlık alanında da tüketici bir toplum ortaya çıkmış ve kontrolsüz ilaç tüketimi hızla artmıştır. Ülkemizde en çok tüketilen ilaç grupları; antibiyotikler, antiromatizmal ilaçlar ve ağrı kesicilerdir. Non steroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) bağımlılık yapmadıkları için birçok romatizmal hastalığın tedavisinde tercih edilmektedir. Ayrıca bu ilaçların antipiretik ve analjezik etkilerinin var olduğu bilinmektedir.

Ağrı yapan kimyasal ya da mekanik etkiler prostaglandin (PG) sentezinin periferde artmasına neden olur. İşte NSAİİ'ler de analjezik etkilerini, prostaglandin oluşumunu sağlayan siklooksijenaz enzimini inhibe ederek ortaya koymaktadır. Bu ilaçlar sayesinde ağrıya neden olan PG sentezi engellenir ve ağrı yok olur. NSAİİ'lerin antipiretik özellikleri ise ilaçların merkezi sinir sistemi üzerindeki etkileri ile ilgilidir.

PG sentezini inhibe etmedeki en güçlü NSAİİ'lerin aspirin, diklofenak sodyum, indomethasin, naproksen, flurbiprofen, fenilbutazon, piroksikam ve tolmetin olduğu belirtilmiştir.

Fötal gelişme esnasında prostaglandinlerin çok önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir (Walsh, 1989). Bu metabolitler göbek bağı kan akımının düzenlenmesi ve duktus arteriozusun açık kalmasını sağlamaktadır (Parer ve Espinoza, 1991).

Yapılan literatür taramalarından NSAİİ'lerin fötüs ve plesantada çeşitli değişikliklere neden olduğu anlaşılmıştır. Ancak diklofenak sodyumun prenatal dönemde uygulanmasını takiben postnatal dönemde nervus medianus da neden olduğu olası patolojik etkiler hakkında herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı prenatal dönemde uygulanan diklofenak sodyumun postnatal dönemdeki yavru sıçanlardan elde edilen nervus medianus örnekleri üzerindeki olası etkisinin histopatolojik ve stereolojik yöntemlerle araştırılmasıdır.



## GENEL BİLGİLER

### 2.1. Nonsteroidal Antienflamatuar İlaçlar

NSAİİ'ler bağımlılık yapmadığı ve uyuşukluk, bilinç bulanıklığı şeklinde nitelenen narkoz hali oluşturmamalarından dolayı çoğu romatizmal ağrıların tedavisinde tercih edilmektedir. Özellikle artrit, osteoartrit ve benzeri romatizmal hastalıklar gibi genellikle enflamasyona bağlı ve uzun süre analjezik ilaç verilmesini gerektiren durumlarda yararlıdır. Bağımlılık yapmamaları, antiinflamatuvar etkilerinin bulunması ve teropatik etkilerine karşı tolerans oluşmaması bu grup ilaçların teropatik değerini artırır. Araştırmalar, bu ilaç grubunun ilklerinden olan aspirinin oldukça yaygın bir şekilde kullanımı olduğunu ortaya çıkarmaktadır (Brooks ve Day, 1991; Weissmann, 1991). Non steroidal antiinflamatuvar ilaçlar gebelikte görülen fetal gelişme geriliği, premature doğum ve preeklampsi gibi rahatsızlıkların tedavisi amacıyla da kullanılmaktadır (Hickok ve ark., 1989; Walsh, 1989; Uzan ve ark., 1991).

NSAİİ'ler grubunda yer alan diklofenak sodyum, naproksen ve indomethasin gibi ilaçların PG sentezini inhibe etmedeki rolleri çok önemlidir. Ayrıca, romatoid artrit gibi rahatsızlıkların tedavisinde bu tür ilaçlar pozitif sonuçlar vermektedir (Walsh ,1989; Uzan ve ark., 1991).

NSAİİ'lerin çoğu analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etki olmak üzere üç tip etki gösterirler. Antiinflamatuvar analjeziklerin ağrı kesici etkileri büyük ölçüde, belki de bazı ilaçlar için tamamiyle, periferik etkilerine bağlıdır. Ağrı yapıcı kimyasal veya mekanik etkenlerin periferde prostaglandinlerin sentezini artırdığı ve periferik aferent sinir uçlarının ağrı uyarılarına karşı duyarlılığını artırdıkları bilinmektedir. NSAİİ'lerin pek çoğunda bulunan ortak bir özellik, dokularda arşidonik asitden prostaglandinlerin ve diğer bazı eikozanoidlerin oluşmasını katalize eden siklooksijenaz enzimlerini inhibe etmeleridir ( Kayaalp, 2002).

Deney hayvanlarında ağrı meydana getirmek ve ilaçların analjezik etkilerini incelemek için çeşitli testler geliştirilmiştir. Bunlar arasında en sık kullanılanlar sıçanın kuyruğuna radiant ısı ya da basınç şeklinde standardize edilmiş "ağrılı" stimulus uygulanması, farelerin sabit bir sıcaklığa kadar ısıtılmış metal yüzey üzerinde bırakılması, kobayların kesici dişlerinin pulpasına yerleştirilen elektrodla elektriksel

stimülasyon yapılması ve sıçanın ayak tabanına karagenin injekte edilmesidir. Son test inflamatuvar reaksiyonun incelenmesine de olanak verir (Kayaalp, 2002).

Yukarıda sayılan deneysel yöntemlerle sıçanlarda yapılan incelemeler, inflamatuvar reaksiyona bağlı ağrının, dokularda iki ayrı tipte ağrı mediyatörleri tarafından duyuşal sinir uçlarının sinerjistik bir şekilde stimüle edilmesine bağlı olduğunu göstermiştir. Dokuda oluşan ağrı mediyatörlerinin bir grubu sinir ucunu doğrudan doğruya stimüle eder. Bunlara aljezik mediyatörler denir; örnekleri histamin, serotonin ve bradikinindir. Ağrı mediyatörlerinin ikinci grubu tek başlarına ağrı oluşturmazlar, fakat duyuşal ve sinir uçlarının analjezik etkenlere karşı duyarlılığını artırır ve onların ağrı yapıcı etkilerini güçlendirirler; bu ikinci grup mediyatörlere hiperaljezik ağrı mediyatörleri denilir. Hiperaljezi yapıcı mediyatörlerin en başta gelenleri, yukarıda belirtilen reaksiyonla araşidonik asitten oluşan prostasiklin ve prostaglandinler (özellikle PGE<sub>2</sub>) dir. Narkotik olmayan analjezikler bu maddelerin sentezini inhibe ederek yani hiperaljezik komponenti baskı altına alarak ağrı kesici etki yaparlar (Kayaalp, 2002).

Hiperaljezik etkenlerin duyuşal sinir uçlarında adenilat siklazı aktive ederek cAMP düzeyini yükselttikleri ve sinir ucuna Ca<sup>+2</sup> girişini artırdıkları saptanmış ve hiperaljezik etkinin hücreşel düzeyde bu temele dayandığı ileri sürülmüştür. Aljezik ve hiperaljezik etkenlerin etkileşmesinin ağrı ile ilişkisi, bu maddelerin belirli konsantrasyonlardaki solüsyonlarını insan cildinde üstü açılmış veziküllerin tabanına sürmek suretiyle etrafli olarak incelenmiştir. Hiperaljezi hali tek başına ağrılı bir durum değildir ( Kayaalp, 2002)

Kliniklerde yaklaşık 35 çeşit NSAİ ilaç kullanılmaktadır (Blower, 1993). NSAİ ilaçlardan olan diklofenak sodyum ilk defa 1974'de japonya'da piyasaya sürülmüştür (Skoutakis ve ark., 1988). Kadın doğum kliniklerinde bu ilaçlar prematüre doğumun engellenmesi, fötal gelişme geriliği ve preeklampsi gibi hastalıklarda tedavi amaçli kullanılmaktadır (Manchester ve ark., 1976; Rubaltelli ve ark., 1979).

Aşağıda Tablo 1’de NSAİİ’lerin kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılması verilmiştir.

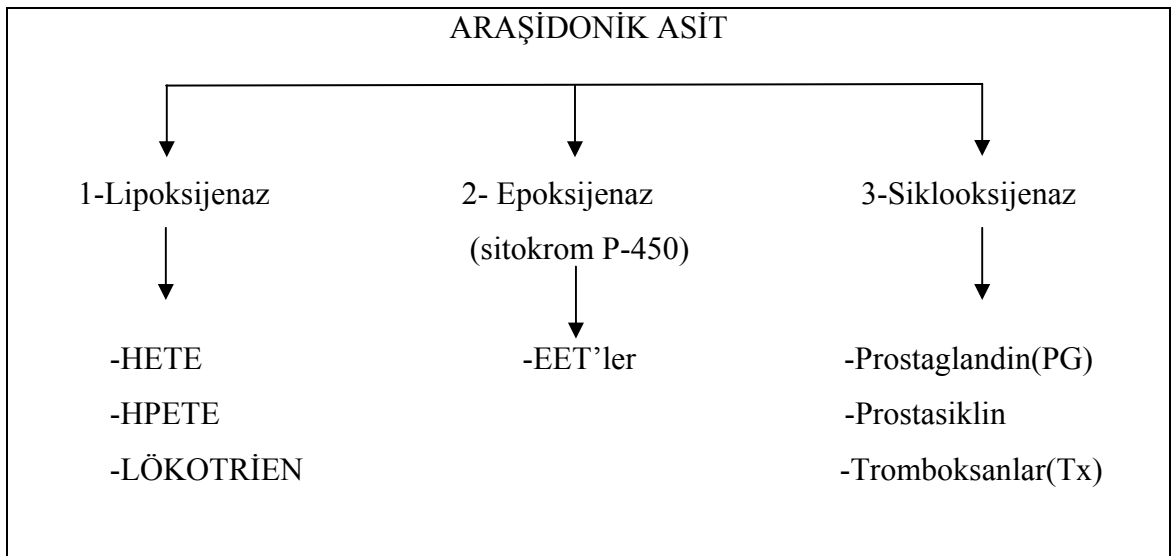
**Tablo 1: Nonsteroidal antienflamatuar ilaçları göstermektedir (Weissmann, 1992)**

ARAŞİDONİK ASİT	PİRAZOLLER	OXİCAMLAR
1-SALİSİLATLAR -Asetilsalisilik asit(Aspirin) -Salsalate -Diflanisal -Fendosal 2-ASETİK ASİTLER -Indomethacin -Avenetacin -Cinmetacin -Sulindak -Tolmetin -Diclofenac -Fenclofenac -İzoxepac -Zomepirac 3-PROPIYONİK ASİTLER -İbuprofen -Flurbiprofen -Naproksen -Ketoprofen -Fenoprofen -İndoprofen -Pirprofen -Carprofen -Benoksaprofen 4-FENAMİK ASİTLER -Mefenamic asit - -Flufenamik asit -Meclofenamik asit -Niflumik asit -Tolfenamik asit -Fluniksin -Cloniksin	-Phenylbutazon -Feprazon -Trimethazon -Mefabutazon -Kebuzone -Suksibuzone	- Piroxicam -Isoxicam -Tenoxicam

Romatoid artritli hastalarda sinoviyal doku iltihaplı olduğu için bu dokularda PGE<sub>2</sub> sentezinin arttığı ve bu rahatsızlığın aspirin ile tedavisi sonucu ise PGE<sub>2</sub> düzeyinin çok azaldığı gözlenmiştir. Siklooksijenaz aşaması sırasında PG sentezinin inhibe edilmesini sağlayan en güçlü NSAİİ'ler aspirin, diklofenak, indomethasin, naproksen, flurbiprofen, fenilbutazon, piroksikam ve tolmetin gibi ilaçlardır (Kayaalp, 1992).

NSAİİ'lerin antipiretik özellikleri bu tür ilaçların merkezi sinir sistemi üzerindeki etkileriyle alakalıdır. Bu ilaçların hipotalamusta da prostaglandin sentezini engelledikleri bildirilmektedir (Flower ve ark., 1985). Yağ asidi türevlerinden olan PG'ler güçlü fizyolojik etkiye sahip maddelerdir. Vücudun hemen hemen tüm organlarında değişik miktarlarda sentezi yapılmaktadır. PG'ler bazı biyolojik aktif lipidlerle birlikte kimyasal adı eikozatetraenoik asit olan araşidonik asitten oluşurlar. Araşidonik asitten oluşan metabolitlere genellikle eikosanoidler veya prostanoidler denilmektedir (Goldyne, 1987). Araşidonik asit üç yoldan metabolize edilir. Birincisi; siklooksijenaz yoludur ve PG'ler ve tromboksanlar (Tx) meydana gelir, ikincisi; lipooksijenaz yoluyla olup hidroperoksieikozatetraenoik asit (HPETE), hidroksieikozatetraenoik asit (HETE), lipoksin ve lökotrienler (LT) oluşur, üçüncüsü ise; epoksijenaz (veya sitokrom P-450) yoluyla olup epoksieikozatetraenoik asitler (EET) meydana gelir (Tablo 2) (Hecker ve ark., 1989; Walsh, 1989; Fitzgerald, 1992).

**Tablo 2: Araşidonik asidin temel metabolik yollarını göstermektedir (Hecker ve Ark., 1989)**



NSAİİ'lerin prostaglandinler ve tromboksanları inhibe etmeleri ile ilgili mekanizma ilk defa J.R Vane (1971) tarafından ortaya çıkarılmıştır. Şimdi ise Vane'in NSAİİ'lerle ilgili etki mekanizması üzerine yaptığı açıklamalar yeterli görülmemiştir. Çünkü Vane açıkladığı etki mekanizmasında önerdiği ilaçların hangi tip inhibitöre uygun olduğunu açık olarak belirtmemiştir. Tip I inhibitörleri siklooksijenaz basamağında inhibisyona neden olurken, Tip II inhibitörleri ise siklik endoperoksidlerin PG'lere dönüşümünü sağlayan enzimin inhibisyonu üzerinde etki etmektedir. Yani inhibisyon olayı siklik endoperoksidlerin oluşumundan sonraki basamaklarda ortaya çıkmaktadır. (Tablo 3). Klinikte bu tip inhibitörler uterus kasılmalarını tetiklemede kullanılmaktadır (Dawood, 1993).

**Tablo 3: NSAİ ilaçların iki farklı inhibisyon basamağını göstermektedir (Dawood, 1993)**



Aspirin ve benzeri ilaçlar bir başka etkilerini ise pıhtılaşma üzerinde gösterir. Bu tip ilaçları kullanan kişilerde küçük yaralanmalar bile normalde olması gerekenden daha fazla kanamaya neden olmaktadır. Trombositler, PGE<sub>2</sub>'yi tromboksan A<sub>2</sub>'ye dönüştürmede rol alırlar. Bu maddenin çok güçlü bir damar daraltıcı etkisi sayesinde trombosit kümeleşmesi meydana gelmektedir. Damar endotel hücrelerinin vazifesi ise prostaglandin ara ürünlerini prostasikline dönüşmektedir. Dozlar iyi ayarlanmışsa tromboksan üretiminin azalmasına neden olurken, prostasiklin oluşumuna herhangi bir etki göstermemektedir. Bu etkileşim sonucu kalp damarlarının tıkanmasına sebep olan trombus oluşması bu tür ilaçların kullanımı sayesinde bir dereceye kadar engellenebilmektedir.

Aspirin ve diğer NSAİİ'ler PG sentezi üzerine hiçbir etki yapmadan fonksiyonlarını gerçekleştirirler. Yapılan çalışmalar bu ilaçların biyolojik membran fonksiyonlarını değiştirme özelliklerine sahip olduğunu ve fonksiyonlarını bu şekilde

gösterdiklerini ortaya koymuştur. Bu sebepten dolayı NSAİİ'lerin hücre faaliyetini kısıtlama etkileri vardır. Örneğin; aspirin, monosit ve makrofajların hücre zarına yağ asitlerinin yerleşmesine engel olmaktadır (Weissmann, 1991).

NSAİİ'ler organizmada enzim aktivasyonu (fosfolipaz C gibi), kırıkta proteoglikan sentezi, membranlararası iyon transportu, mitokondrionlarda oksidatif fosforilasyonu, hücre-hücre etkileşimi gibi birçok membranla ilişkili olayları inhibe etmede rol alırlar (Ku ve ark., 1986; Abramson ve Weissmann, 1989; Brooks ve Day, 1991).

NSAİİ'lerin PG'lerden bağımsız olan etkilerini gösterme amacıyla olan bir çalışma da sodyum salisilat ve asetaminofen etkileri ile ilgili yapılmıştır.

Yaralı hücre preparasyonlarında, bu tür ilaçların PG sentezini inhibe etmede rollerinin olmadığı gözlenmiştir. İnsanda asetil salisilatlar trombosit fonksiyonunu inhibe etmede etki göstermedikleri gibi kanama zamanını uzatma üzerine de herhangi bir etkisi bulunmamaktadır. Böylece asetaminofen'in etkisinin PG sentezini inhibe etmeden olduğu gösterilmiştir (Abramson ve Weissmann, 1989).

Sıçanlara değişik NSAİİ ilaçların enjekte edilmesinden sonra bunların beyin homojenatlarında PG biyosentezinin inhibisyonunu inceleyen Abdel-Halim ve ark. (1978), çalışmalarının sonucunda aspirin ve parasetamolun 100mg/kg'a kadar PG biyosentezini inhibe etmediğini bildirmişlerdir. Bir başka görüş diklofenak ve naproksen uygulamaları sonucu PG biyosentezinin siklooksijenaz inhibisyonundan başka bir mekanizmaylada bu görevi yaptığıdır. Skoutakis ve ark (1988), diklofenak sodyum'un diğer NSAİİ'lere göre bazı özel avantajları olduğunu, bunların siklooksijenaz yolunu inhibe etmenin yanısıra lipoksijenaz yolunu da inhibe ettiklerini bildirmişlerdir.

*Microconia prolifera* adlı bir çeşit deniz süngeri üzerinde yapılan çalışmalar da yukarıda açıklanan durumu destekler niteliktedir. Şöyle ki; deniz süngeri hücrelerinde prostaglandin sentez enzimleri mevcut değildir. Uygun bir uyarana maruz kaldıklarında (PG'ye ihtiyaç duymaksızın ) biraraya gelip kümeleşme meydana getirirler. NSAİİ ilaçlar ise bu hücrelerin kümeleşmesini inhibe etmede rol alırlar. Deniz süngeri PG üretmediği için bunlarda PG sentezi inhibe edilme söz konusu değildir. O halde bunlarda hücre kümeleşmesini inhibe eden değişik bir yol bulunmaktadır (Weissmann ve ark., 1985; Abramson ve Weissmann, 1989; Weissmann, 1991).

Smith ve arkadaşları (1990) PG endoperoksit sentazın molekül yapısı üzerinde çalışmışlar ve enzimi kontrol eden tek bir genin varlığını tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar NSAİİ'lerin farklı etki göstermelerinde ilaç dağılım ve metabolizmasındaki farklılıkların neden olduğunu ve bunun sadece dokuya özel PG endoperoksidaz varlığından olmadığını belirtmişlerdir.

Araştırmalarda düşük dozlarda bile aspirin benzeri ilaçların birçoğunun araşidonik asitten PG sentezini inhibe ettikleri gösterilmektedir. Bununla birlikte yüksek dozlarda alınan bu ilaçlar değişik enzim aktiveleri, kondrositlerden proteoglikan sentezi ve membranlara iyon akışının inhibisyonu gibi PG'lere bağımlı olmayan olayları da inhibe ettikleri gibi bir düşünce mevcuttur (Abramson ve Weissmann, 1989).

## 2.2. Prostaglandinler

İlk olarak Goldblatt ve Von Euler 1930'larda birbirinden habersiz insan semeninde, tavşan kan basıncını azaltıcı bazı vazoaaktif lipidlerin varlığını bulmuşlardır. Van Euler buldukları bu maddeye prostaglandin adını verdi. Çünkü önceleri bu maddelerin prostat bezinden orjin aldığı düşünülmektedir. Şimdi ise bu maddenin seminal veziküllerde yapıldığı bilinmektedir. 1962 yılında Bergstrom ilk olarak iki prostaglandini eter ve fosfat tamponunda ayırmıştır (Goldyme, 1987). Bu nedenle eter tamponunda elde edilen prostaglandine PGE, fosfattakine PGF adını vermişlerdir. Bugün prostaglandinlerin yaklaşık 10 spesifik molekül grubu tanımlanmış ve A'dan J'ye kadar harflerle adlandırılmışlardır. Ayrıca alifatik zincir saturasyon yerine göre "1", "2" ve "3" olmak üzere üç seriye ve PGF'ye ilave olarak , karbon konfigürasyonuna göre  $\alpha$  ve  $\beta$  diye adlandırma yapılmaktadır (Hecker ve ark., 1989).

Dokulara özgü olan biyolojik aktif prostaglandinlerin sentezinin gerçekleşmesi için bazı ara maddelerin varlığına gereksinim duyulmaktadır. Bunlara siklik endoperoksidler (peroksidazlar) olarak isim verilir. Örneğin: PGH<sub>2</sub>, PGH sentaz tarafından PGE<sub>2</sub>'ye dönüştürülür (Hecker, 1989).

Lokal hormonlar olarak bilinen PG'ler kanda düşük konsantrasyonlarda yer alırlar. Bunların plazmada bir dakikanın altında yarılanma ömürleri vardır. Hücrelerde depo edilmezler. Salgılayıcı uyarı ile serbestleşirler, inhibisyon ile azaltılabilirler.

Stimulasyonlar kimyasal, immunolojik, allerjik, hormonal veya membran deformasyonu gibi durumlar ortaya çıkabilmektedir (Türker ve Kayaalp, 1993). PG'lerin belli başlı etkileri Tablo 4'de özetlenmiştir.

**Tablo 4: PG'lerin etkilerinin bir kısmını göstermektedir (Insel, 1990)**

<ul style="list-style-type: none"> <li>- Yaralanma bölgesinde</li> <li>- Vasküler permeabilitenin arttırılması</li> <li>- İndirekt kemotaksis</li> <li>- Ağrı (direkt veya deneysel şartlarla)</li> <li>- Tromboksan A<sub>2</sub> oluşumu</li> <li>- Doğum eyleminin onaylanması</li> <li>- Duktus arteriozusun erken kapanması</li> <li>- Mide asit salgısının inhibisyonu</li> <li>- Mide mukus salgısı oluşumu</li> </ul>
---

### 2.3. Eikozanoidlerin Etki Mekanizması

Eikozanoidler biyolojik etkilerini lokal mediatör olarak hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanarak gerçekleştirmektedirler. Bu etkilerinin intrasellüler bir etkileyiciyle mi yoksa ikincil bir haberci sistemi tarafından mı olduğu kesin olarak belli değildir. Bununla beraber farklı hücre tiplerindeki reseptörlerin sayısı ve dağılımı tam olarak açığa çıkmamıştır. Bunlardan PGI<sub>2</sub> spesifik aktif adenilat siklaz reseptörlerine bağlanarak trombosit kümeleşmesini engellemektedir.

Bu yolda cAMP intrasellüler olarak arttırılırsa spesifik kinaz aktivitesinin gerçekleşmesine neden olur. Bu fosforilat kinazlar kalsiyum protein pompaları sayesinde kalsiyum atılımının artmasının sağlamaktadır. Bu sayede düz kaslar üzerinde eikozanoidlerin kontraktıl etkileri kalsiyumun serbestleşmesi ile gerçekleşirken, cAMP'in üretilmesiyle de gevşeme etkisi meydana gelmektedir (Hecker ve ark., 1989).

Prostaglandinler, gebelikte birçok fizyolojik ve patolojik görevleri yerine getirmektedirler. Bunlardan en dikkat çeken gebelikte sorumlu oldukları vazodilatasyondur. İndomethasin tedavisi gören kadınlarda diastolik kan basıncını yükselten anjiotensin II dozuna olan ihtiyacın, önemli derecede azaldığı gösterilmiştir.



Bu olayın gerçekleşme nedeninin PG sentez inhibisyonuyla alakalı olduğu bildirilmiştir (Walsh, 1989).

Gebelikte vazodilatasyonun artmasına neden olan PG; PGI<sub>2</sub>'dir. Bu madde kan damarlarının düz kaslarını gevşetmekte rol oynar. Prostaglandin vasküler tonus üzerinde etkileri parakrin salgılama yoluyla gerçekleşmektedir. Kas hücreleri gibi beyaz kan hücreleri de PGI<sub>2</sub> üretebilmektedirler (Türker ve Kayaalp, 1993).

Prostaglandinler reseptörler aracılığı ile doğrudan uterus tonusunu etkileyebilir, ya da adrenerjik nörotransmisyonu artırarak veya baskılayarak uterus kan akımı üzerine etki gösterebilir (Clark ve Myatt, 1991). Uterusta kan akımını artıran PG'ler; PGI<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, PGA<sub>2</sub>, PGE<sub>1</sub> ve 6-keto PGE<sub>1</sub>'dir. Kan akımını azaltan PG'ler ise PGE<sub>2</sub>, PGE<sub>2α</sub>, 6-keto PGF<sub>1α</sub>, TxB<sub>2</sub>'dir (Mc Laughlin ve ark., 1978; Walsh, 1989; Clark ve Myatt, 1991). Ayrıca PG'lerin uterusun endometrium ve myometriumunu değişik biçimde etkilediğini gösteren çalışmalar yapılmıştır (Clark ve Myatt, 1991). PG'lerin belirtilen etkileri kişinin hamile olup olmama durumuna göre de değişiklik göstermektedir (Ghodgaonkar ve ark., 1979).

PG'ler implantasyonda da önemli rollere sahiptir. Farelerde yapılan çalışmalarda implantasyon esnasında blastosist sıvısında bulunan PG'lerin uterus üzerinde etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Baskar ve ark., 1981). Annedeki kapiller etrafında blastosistin inflamatuvar reaksiyonlarda permeabiliteyi artırdığı bulunmuştur. Sodyum salisilat gibi NSAİİ'lerin de bu değişiklikleri baskıladığı açıklanmıştır (Horan, 1971).

Carp ve arkadaşları (1988), diklofenak sodyum enjekte ettikleri sıçanlarda kontrol gruplarına göre yarıdan fazla bir oranda implantasyonun engellendiğini gözlemlemişlerdir. Tüm bu çalışmalar dikkate alındığında PGE<sub>2</sub> ve PGF'lerin implantasyonda ne kadar önemli bir görevde yer aldıkları anlaşılmaktadır.

İnsan plasenta damarlarındaki tromboksanın ve prostaglandinlerin vazoaktif etkileri hakkında pek çok invitro çalışma ortaya çıkarılmıştır (Glance ve ark., 1986; Thorp ve ark., 1988; Walsh, 1989).

Çalışma sonuçları insan plasenta damarlarında tromboksanın güçlü bir vazokonstriktör etki gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (Glance ve ark., 1986; Thorp ve ark., 1988). Ayrıca tromboksanın PGE<sub>2α</sub>, serotonin, nöropeptin veya bradikininde 10-100 defa daha kuvvetli vazokonstriktör etkisinin olduğunu gösterilmiştir (Walsh, 1989).

İnsan plasentasında  $PGF_2$  ve  $PGE_2$ 'nin vazokonstriktör etkisi hakkında ortak bir görüş mevcuttur (Mc Laughlin ve ark., 1978; Gance ve ark., 1986; Boura ve Walters, 1991).

İnsan plasentasında prostasiklin ( $PGI_2$ ) en güçlü vazodilatör iken,  $PGE_1$  ise zayıf bir vazodilatördür (Gance ve ark., 1986). Prostaglandinler ve diğer vazoaaktif bileşikler, etki derecelerine göre şu şekilde sıralanabilir (Walsh, 1989);

Vazokonstriksiyon: Tromboksan  $\gg$   $PGF_{2\alpha}$  =  $PGA_1$   $\geq$   $PGE_2$   $>$   $PGD_2$   $\gg$  All  $>$  Serotonin  $>$  Nörepinefrin;

Vazodilatasyon:  $PGI_2$   $\gg$   $PGE_1$   $>$  6-keto- $PGE_1$ 'dir.

İnvivo çalışmalar ise, Tx,  $PGE_2$ , ve  $PGF_{2\alpha}$  'nin plasentada vazokonstriktör olarak etki gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (Mc Loughlin ve ark., 1978; Boura ve Walters, 1991).  $PGI_2$ 'nin plasental kan akımını azalttığı belirtilmekle beraber kesin bir sonuca varılmamıştır (Walsh, 1989).

Araşidonik asit metabolitleri, vazoaaktif etkiye sahip olmalarından dolayı damarlarda bol miktarlarda yer alırlar.  $PGI_2$  umbilikal damarlarda vazodilatasyona neden olmasına karşın, tromboksan,  $PGE_2$  ve  $PGF_{2\alpha}$  vazokonstriksiyon etki göstermektedir. Vazodilatör etki gösteren  $PGI_2$ 'nin bazı durumlarda kan akımını azalttığı da açıklanmıştır (Parisi ve Walsh, 1989).

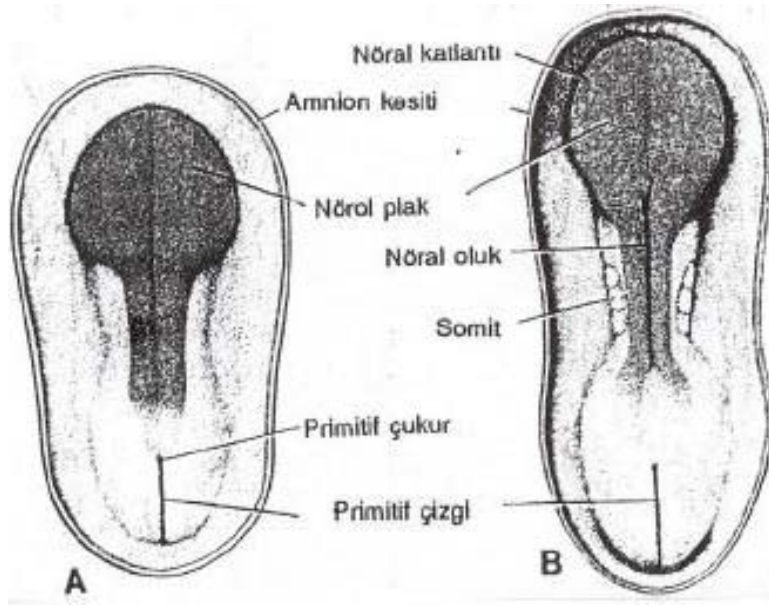
Fötal dolaşımında, yüksek konsantrasyonda bulunan araşidonik asit metabolitleri, göbek bağı kan akımının düzenlenmesine ve duktus arteriozusun fötal hayatta açık kalmasına neden olmaktadır (Parer ve Espinoza, 1991). Hayvan çalışmalarında fütüsdeki sistemik dolaşımında Tx'in kuvvetli bir vazokonstriktör olduğu belirtilmiştir.  $PGI_2$  fötal dolaşımında dilatasyona sebep olurken, lökotrienler ise kuvvetli fötal pulmoner vazokonstriktör olarak etki etmektedirler (Samuelsson ve ark., 1987; Walsh, 1989).

İndomethasin ve sodyum salisilat (aspirin) gibi prostaglandin sentez inhibitörlerinin duktus arteriozusun kapanmasına ve vazokonstriksiyona neden olduğu, fötal hayat sırasında prostaglandinlere duktus arteriozusun açık kalmasını devam ettirmek için gerek duyulduğu belirtilmiştir (Parisi ve Walsh, 1989).

Fötal dolaşımında sağ ventrikülden pompalanan kanın büyük çoğunluğunun aortaya geçmesini duktus arteriozus sağlar. Çok az bir miktar ise fötal akciğerlere gider. Fötal hayatta akciğer görev yapmadığından kana fazla ihtiyaç duyulmaz. Duktus arteriozusun fötal hayatta açık kalması dokuların oksijenlenmesinin sağlanması için önemlidir. Duktus arteriozus, doğumdan sonraki 10-15 saat içinde kapanır (Moore, 1983; Aten ve ark., 1986). Şayet fötal hayatta kapanırsa, pulmoner hipertansiyon, beyin, karaciğer, böbrek ve diğer yapıların az kanlanmasına neden olur (Katcher, 1980). Duktus arteriozusun açık kalmasını PGE<sub>2</sub> ve PGI<sub>2</sub> sağlar. TxA<sub>2</sub> ve kan oksijen basıncı ise yenidoğanda duktus arteriozusun kapanmasına sebep olur (Walsh, 1989).

#### **2.4. Sinir Sisteminin Gelişimi**

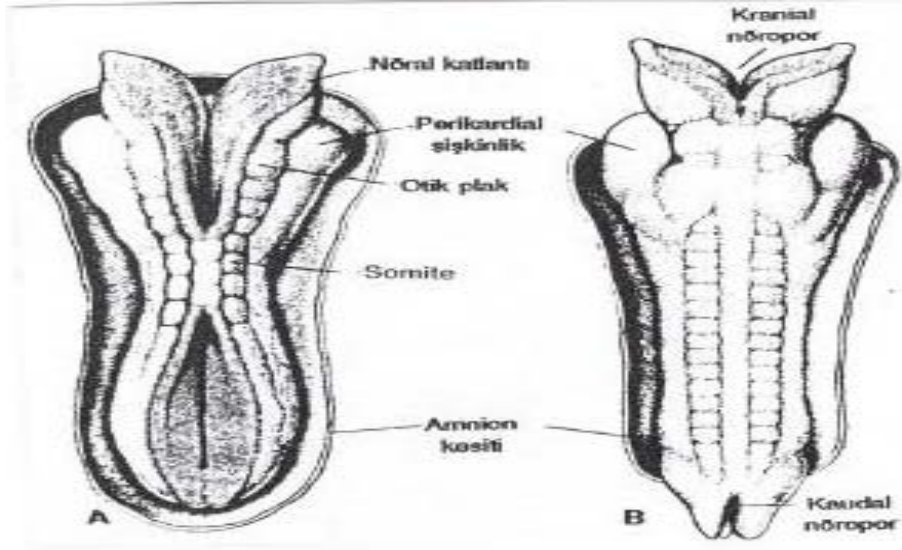
Sinir dokusu, embriyonik ektodermin altında bulunan notokordun embriyonik ektodermi büyüme ve farklılaşmaya indüklemesi sonucu gelişir. Önce nöral plak şekillenir; sonra plağın kenarları kalınlaşarak nöral oluk oluşur (Şekil 1.A-1.B). Yarığın kenarları birbirine karşı büyür ve sonuçta birleşerek nöral tüpü şekillendirir. Gelişen sinir sisteminin oluşabilmesi için ektodermin chorda dorsalis tarafından etkilenmesi gerekir. Chorda dorsalis materyalinden gelen indüksiyon etkisi ile embriyonun sırt bölgesinde, Hensen düğümünün önünde ve orta çizgi üzerinde ektodermin kalınlaşması sonucu nöral plak oluşur. Nöral plak başlangıçta çok sıra oluşturan nöroepitel hücrelerinden meydana gelir. Bu hücreler, ektodermin kübik biçimli diğer hücrelerinden daha yukarıya doğru yükselmiştir (Temel Histoloji, 1998).



Şekil 1:A. 18. Günde nöral plak oluşumu;  
(Langman's Medikal Embriyoloji, 1996)

B. 20.Gündeki oluşumları göstermektedir  
( Langman's Medikal Embriyoloji, 1996)

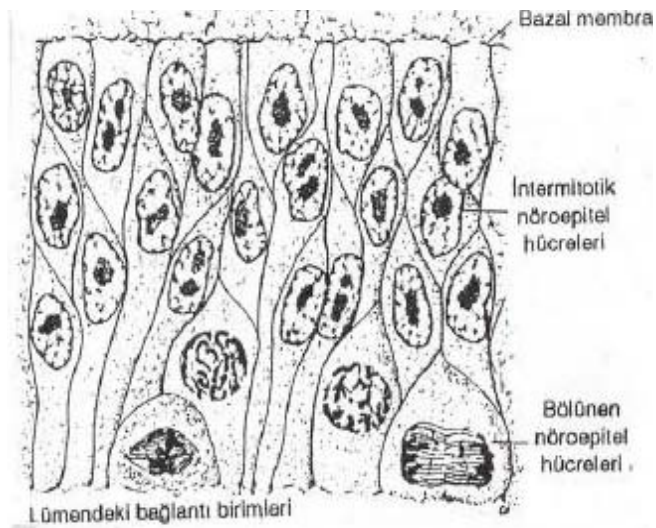
Nöral oluğun yan kısımlarındaki nöral kristayı yapan bir grup hücre yaygın şekilde göç ederek periferik sinir sisteminin büyük bölümünü oluşturur. Daha sonra bu yapının yan kısımları kabarır. Nöral kabartılar gelişmeye devam ederken önce yükselir, sonra da orta çizgiye doğru kıvrılarak sulkus nöralisi oluşturur. Sulkus nöralis önde beyin kabarıklığı ile sınırlanırken, arkada Hensen düğümünü saran kıvrımlar birbiri ile birleşir. Gittikçe yükselen sulkus nöralisin kenarları 22.günde orta çizgi hizasından hem baş, hem de kuyruk yönüne doğru birleşir. Nöral oluk kanal haline geçerek kanalis nöralisi oluşturur. Ancak kanal, arka ve ön uçlarda birleşme geç olduğundan önde kranial nöropor, arkada kaudal nöropor ile açık kalır(Şekil 2A-2.B) (Langman's Medikal Embriyoloji, 1996)



Şekil 2: A. 22. Günde insan embriyosu  
(Langman's Medikal Embriyoloji, 1996)

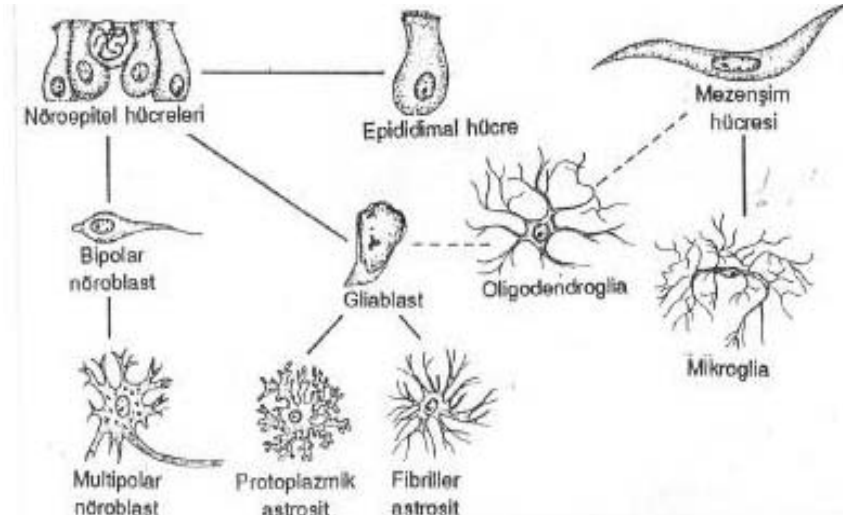
B. 23. Günde insan embriyosu  
(Langman's Medikal Embriyoloji, 1996)

Bu nöroporlar nöral tüpün amnion boşluğu ile bağlantısını sağlar. Öndeki açıklık 23.günde, arkadaki açıklık ise 25.günde tamamen kapanır. Nöral tüp dış ektodermden ayrıldığında oldukça geniş bir lümeneye sahiptir. Lümen çevresinde çok sıralı olarak dizilmiş tek tip nöroepitel hücreleri yer alır (Şekil 3) (Langman's Medikal Embriyoloji, 1996).



Şekil 3: Nöroepitel hücreleri göstermektedir (Langman's Medikal Embriyoloji, 1996)

Nöroepitel hücrelerinin farklılaşması sonucunda nöroblastlar, glioblastlar ve ependimal hücreler oluşur (Şekil 4) (Langman's Medikal Embriyoloji, 1996).



**Şekil 4: Nöroepitelyal hücrelerin farklılaştığı hücreleri göstermektedir (Langman's Medikal Embriyoloji, 1996)**

Nöral tüp oluşuktan sonra, krista nöralis ikiye ayrılır;

a-Krista neuralis serebralis

b-Krista neuralis spinalis

Spinal ganglionların yapısında bulunan nöroblastlarda iki uzantı ortaya çıkar. Merkeze giden uzantıların tümü spinal sinirlerin duyuşal bölümünü yapar ve medulla spinalisin arka köküne girer. Perifere giden diğer uzantı ise ön boynuz motor hücrelerinin aksonları ile karışarak periferik spinal sinirlerin bir bölümünü oluşturur. Nöral kristadan bu yapılardan başka Schwann hücreleri, satellit hücreleri ve meninksler gelişir (Temel Histoloji, 1998).

Nöral kristadan köken alan belli başlı yapılar şunlardır;

- Adrenal medullanın kromafin hücreleri
  - Deri ve derialtı dokularındaki melanositler
  - Odontoblastlar
  - Piamater ve araknoid hücreleri
  - Kraniyal ve spinal duyu gangliyonlarının duyu nöronlar
  - Sempatik ve parasempatik gangliyonların postgangliyonik nöronları
  - Periferik aksonların Schwann hücreleri
  - Periferik gangliyonların uydu hücreleri
- (Temel Histoloji, 1998)

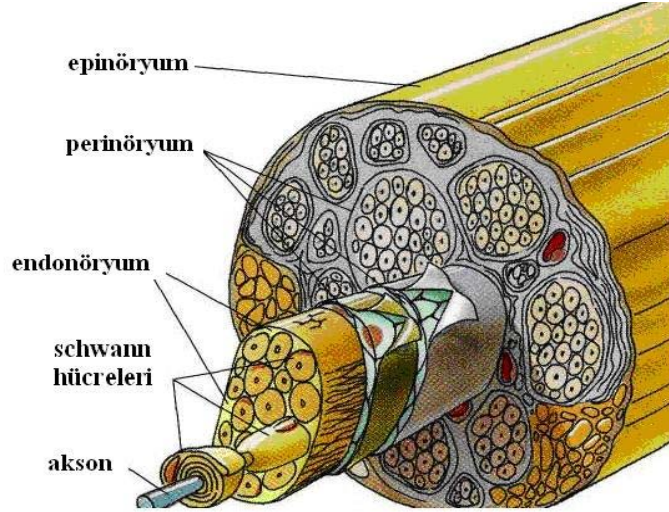
## 2.5. Periferik Sinir Sisteminin Organizasyonu

Periferik sinir sistemi sinir lifleri, gangliyonlar ve sinir sonlanmalarından meydana gelir.

### 2.5.1. Periferik Sinir Lifleri

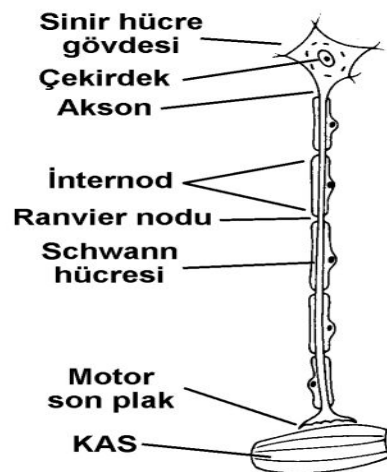
Başlangıçta myelinsiz olan periferik sinir liflerinin nörolemması ve myelini Schwann hücreleri tarafından yapılır. Krista nöralisten köken alan bu hücreler, aksonların etrafında önce nörolemmayı, daha sonra nörolemmanın altında myelin kılıfını yaparlar. Medulla spinalis ve beyin içindeki sinir liflerinin myelini ise oligodendroglia hücreleri tarafından yapılır. Myelinleşme periferik sinir sisteminde embriyonal 4. ayda başlar. Myelinleşmede ana ilke ilk işleve başlayacak sinirin en önce myelinleşmesidir (Temel histoloji, 1998)

Periferik mikst (motor ve duysal lifler taşıyan) bir sinirin enine kesitinde en dışta, sinirin tamamını saran **epinöryum** tabakası yer alır. (Şekil 5) Bunun içinde gruplar halinde motor ve duysal aksonları içeren **fasiküller** yer alır. Bir periferik sinirin içinde ortalama 3-5 fasikülyer alır. Fasiküller **perinöryum** ile çevrilidir. Fasikülün içinde aksonların arasını saran bağ dokusuna ise **endonöryum** adı verilir ( Ertaş, 2000)



Şekil 5: Bir sinirin enine kesitini göstermektedir (Color Textbook of Histology, 2001)

Periferik sinir içinde kanı taşıyan kapiller damar sistemine **vasa nervorum** adı verilir. Bir periferik sinirde hücre gövdesi ve akson bulunur. Miyelinli liflerde aksonun etrafını miyelin örter. Hızlı ileten sinir liflerinde iletim fonksiyonunda rol oynayan miyelin, Schwann hücrelerinin akson çevresinde kıvrılması ile oluşur. Schwann hücreleri, akson boyunca birbiri ardına dizilerek miyelin kılıfını oluşturur. Her bir hücrenin miyelin sargısı arasında Ranvier nodu adı verilen kısa bir aralık bulunur (Şekil 6) (Ertaş, 2000)



Şekil 6: Periferik sinirin yapısını göstermektedir (Ertaş, 2000)



Büyük çaplı liflerde ranvier nodları arasında Schwann hücresi 150 kereye kadar kendi üzerine kıvrılarak miyelin tabakasını meydana getirir. Nodlar arasındaki mesafe de sinir lifine göre 250µm ile 2000µm arasında değişiklik gösterir. Akson çapı büyüdükçe nodlar arası mesafe uzar ve miyelin tabakası kalınlaşır. Akson içinde, hücre gövdesinden periferik ve periferden hücre gövdesine doğru değişik hızlarda taşıma mekanizmaları ( yavaş ve hızlı) bulunur. Yavaş taşıma sistemin hızı, aksonun rejenerasyon hızına eşittir. Hızlı taşıma ise enerjiye bağımlı ve ısıya duyarlı olup bu sistemde transmitter sentezleyen enzimler, glikoproteinler ve membran bileşenleri taşınır. Periferden gövdeye doğru olan transport da hızlı işleyen bir sistem olup bu mekanizmayla membranöz prelizozomal yapılar ve ekstraselüler materyaller taşınır (Ertaş, 2000)

Sinir lifleri ektodermal kökenli hücrelerden türeyen özel bir kılıfla sarılmış aksonlardan oluşur. Sinir liflerinin oluşturduğu gruplar beyine, omiriliğe ve periferik sinirlere ait yolları oluşturur. Sinir lifleri merkezi ya da periferik sinir sisteminde yer alma durumuna göre kendilerini saran kılıf açısından farklılıklar sergilerler (Temel Histoloji, 1998).

Erişkindeki sinir dokusunda bulunan aksonların büyük bir bölümü kılıf hücrelerinin tek ya da birden fazla kat yapmasıyla örtülürler. Periferik sinir liflerinde kılıfı yapan hücre Schwann hücresi, merkezi sinir sisteminde ise oligodendrosittir. Küçük çaplı aksonlar genelde miyelinsizdir. Aksonlar kalınlaştıkça kılıf hücresi giderek daha fazla sayıda katlanma yapar ve miyelin kılıfları oluşturur. Bu lifler miyelinli sinir lifleri olarak bilinmektedir (Temel Histoloji, 1998).

PSS'nin glial hücreleri schwann hücreleridir. Görevleri aksonları çevrelemektir. Schwann hücreleri miyelin oluşturan ve oluşturamayan schwann hücresi tiplerine dönüşebilirler. Schwann hücreleri yassı hücrelerdir ve yassılaştırmış bir çekirdek, küçük bir Golgi aygıtı ile birkaç mitokondri içerirler. Elektron mikroskopik olarak plazma membranından oluşan bir miyelin kılıfa aksonların etrafını birkaç kez sarmış olarak görülür. Schwann hücreleri akson boyunca yer alır. Schwann hücrelerinin dış kısmı bazal laminayla çevrili olup bu bazal lamina Ranvier düğümlerinin iç kısımlarına kadar uzanır. Bu nedenle her Schwann hücresi bazal laminayla çevrelenir. Hasarlanan sinir, hasarın bölgesine göre bazal laminanın yol göstericiliğinde yenilenir. Tek bir Schwann hücresi tarafından üretilen konsantrik lamellerle çevrili miyelin kılıf bölgesi internodal

segment olarak adlandırılır. Işık mikroskobu ile bakıldığında her internodal segmentin miyelin kılıfında oblik seyirli ve koni şekilli yarıklar bulunur. Aksonun etrafındaki değişen çaplardaki membran spiralleri sırasıyla yoğun ve daha az yoğun çizgiler oluşturur. Az yoğun çizgiler ortalama 12 nm kalınlığında, yoğun çizgi ise 3 nm kalınlığındaki majör yoğun çizgidir. Yüksek ayırım güçlü elektron mikroskobuyla spiraller ve miyelin kılıf arasında ya da iç periyod çizgisi içerisinde açıklıklar bulunduğu gözlenir. Bu açıklıklar küçük moleküllerin aksona ulaşmasına yardımcı olur (Altunkaynak ve ark., 2007).

Periferik sinir sisteminde miyelin kılıfın dışında, nörolemma ya da Schwann kılıfı denilen, Schwann hücreleri sitoplazmasından oluşan, ince bir tabaka vardır. Bu tabaka, Schwann hücresinin nükleusunu ve çoğu organelini de içine alır. Miyelin kılıf, nörolemma ve bazal lamina, aksonu ekstrasellüler bölgelerden ayırır. Akson tepeciği ve aksonun hedef hücreyle sinaps yaptığı son dallanmalar, miyelin kılıfa sahip değildir (Altunkaynak ve ark., 2007).

Akson ilk olarak Schwann hücrelerinin yüzeyindeki bir oluğun içinde uzanır. Aksonu çevreleyen oluğun kenarlarının birleşmesiyle, en içteki halkanın intersellüler boşluğu daralır ve iç mezakson meydana gelir. İlk lamel, sıkı bir şekilde düzenlenmemiştir, yani ilk birkaç tabaka içinde bir miktar sitoplâzma vardır. Aynı şekilde en dıştaki tabaka da Schwann hücre nükleusu ile bir miktar sitoplâzma içermektedir. Son tabakanın plazma membranının kendine yaklaşıp şeklindeki durumu, dış mezaksonu oluşturur (Altunkaynak ve ark., 2007)

Plazma membranlarının karşılıklı tabakaları arasından çıkan miyelin kılıf, aksonu çevreleyen Schwann hücrelerinden ve bu hücrelerin sitoplâzmalarından dolayı, lipid bakımından zengin bir tabakadır. Elektron mikrografları, bazı bölgelerdeki sitoplâzma bölgelerini az da olsa göstermektedir. Bunlar ve aldıkları isimler maddeler halinde şöyledir;

- 1-Akson ve miyelin arasındaki kısımda bulunan sitoplâzmaya, Schwann hücre sitoplâzmasının iç halkası,
- 2-Miyelin kılıfın birbiri ardına sıralanan tabakaları içindeki, küçük adalar halindeki sitoplâzmaya; Schmidt-Lanterman yarıkları,
- 3-Ranvier boğumundaki sitoplâzmaya; perinodal sitoplâzma,
- 4-Miyelin etrafındaki sitoplâzmaya ise perinükleer sitoplâzma denir.

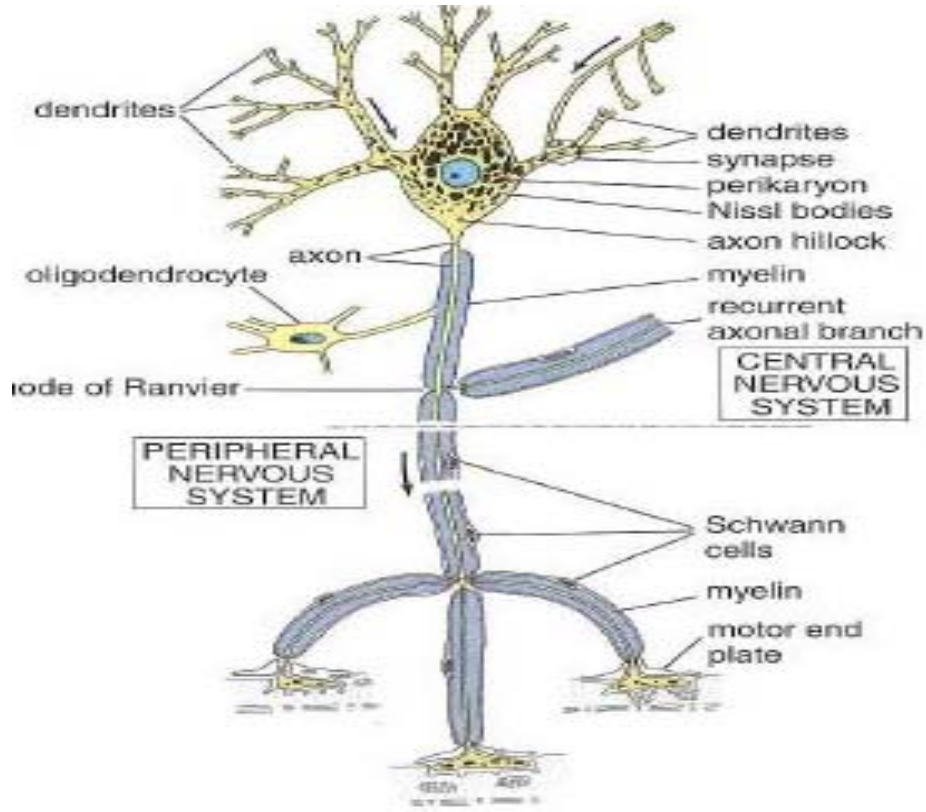
Işık mikroskobu kullanıcılarının Schwann kılıfı olarak tanımladıkları şey, sitoplâzmadaki bu bölgelerdir. Eğer Schwann hücresi tam olarak görülmek istenirse, perinodal sitoplâzmadan Schmidt-Lanterman yarıklarına, Schwann hücre gövdesinin devamı olan Schwann hücre sitoplâzmasının iç halkasına kadar tüm ayrıntıları görülebilir. Yarıkların sitoplâzmasında lizozomlar bulunur, bazen de mitokondri, mikrotübül, sitoplazmik inklüzyonlaryer alabilir. Schmidt-Lanterman yarıklarının sayısı aksonun çapı ile ilişkilidir, büyük aksonlarda daha fazla yarık vardır. Periferik sinir sisteminde miyelinsiz akson olarak tanımlanan sinirler, Schwann hücrelerinin sitoplâzmasıyla sarılmıştır. Schwann hücreleri, aksonun uzun eksenine paralel olarak dizilirler ve aksonlar hücrelerin yüzeyindeki oyuklara yerleşirler. Oyukların ağız kısmı, aksolemanın bir kısmı dışarı doğru uzandığı için açık olabileceği gibi Schwann hücrelerinin eksternal laminasına bitişik olan aksonun hücre membranı veya oyuğun ağız kısmı mezakson oluşturacak şekilde kapalı da olabilir. Tek bir akson ya da akson grubu, Schwann hücre yüzeylerinin invaginasyonu ile kuşatılmış olabilir. Periferik sinir sistemindeki Schwann hücreleri, içlerinde bir ya da daha fazla akson olan, 20 ya da daha fazla oyuğa sahiptirler. Otonom sinir sisteminde ise bir oyuğu dolduran çok sayıda miyelinsiz akson bulunur (Altunkaynak ve ark., 2007).

### **2.5.1.a.Miyelinli Lifler**

Periferik sinir sistemindeki miyelinli liflerde Schwann hücresinin plazmalemması akson etrafında dönerek onu sarar. Kılıfı yapan hücrenin membranları tabakalar şeklinde bir birim yapar ve miyelini oluşturur. Miyelinin içindeki lipid bileşeni histolojik işlemler sonunda kısmen kaybolan lipoprotein kompleksidir (Temel Histoloji, 1998).

Miyelin çok sayıda değişmiş hücre membranlarından oluşur. Bu membranların lipid oranı diğer hücre membranlarındakinden daha fazladır. Her akson, belli bir sıraya göre dizili Schwann hücreleri tarafından oluşturulan miyelin kılıfı ile çevrilidir (Şekil 7). Miyelin kılıf, izlediği yol boyunca Ranvier boğumları denilen boşluklar gösterir.

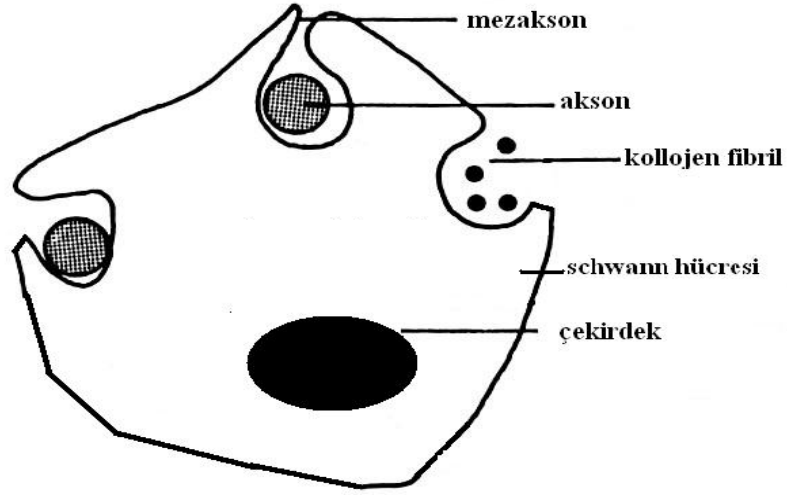
Akson boyunca birbirine bitişik olan Schwann hücrelerinin içiçe geçmiş olan uzantıları kısmen bu boğumu kapatır. İki boğum arasındaki mesafe boğum arası (internode) adını alır ve burasını bir tek Schwann hücresi oluşturur. Boğum arasının uzunluğu 1-2 mm arasında değişir (Temel Histoloji, 1998).



Şekil 7: Sinir hücresinin yapısını göstermektedir ( Temel Histoloji text & atlas, 2009)

### 2.5.1.b. Miyelinsiz Lifler

Hem merkezi, hem de periferik sinir sistemlerindeki aksonların hepsinde miyelin kılıf bulunmayabilir. Periferik sinir sisteminde tüm miyelinsiz aksonlar Schwann hücrelerinin yaptığı basit bir yarık içinde yer alır (Şekil 8). Myelinli aksonlarla olan ilişkisinden farklı olarak her bir Schwann hücresi çok sayıda miyelinsiz aksonu sarabilir. Miyelinsiz sinir liflerinde Ranvier boğumu bulunmaz, çünkü Schwann hücreleri kesintisiz bir kılıfı oluşturacak şekilde birleşmiştir (Temel Histoloji, 1998).



Şekil 8: Miyelinsiz sinir lifini göstermektedir

### 2.5.2. Gangliyonlar

Gangliyonlar bağ dokusu tarafından desteklenen nöron hücre gövdeleri ile glia hücrelerini içeren yapılardır. Sinirsel uyarıların aktarımında dağıtım istasyonu olarak iş yaptıklarından, her gangliyonu bir sinir girerken bir diğeri çıkar. Sinir uyarısının yönü gangliyonun duysal mı yoksa otonom gangliyon mu olduğunu belirler (Temel Histoloji, 1998).

#### 2.5.2.a. Duysal Gangliyonlar

Duysal gangliyonlar merkezi sinir sistemine giden afferent uyarıları alırlar. İki tip duysal gangliyon vardır. Bazıları kranial sinirlerle ilişkilidir ve kranial gangliyonlar adını alır. Diğerleri spinal sinirlerin dorsal kökü ile ilişkilidir ve spinal gangliyonlar adını alır. Spinal gangliyonlar oldukça belirgin, küçük Nissl cisimcikleri içeren ve çevresinde çok sayıda, satellit hücreleri olarak adlandırılan küçük glia hücresi bulunan, iri nöron hücre gövdelerinden oluşur. Bağ dokusundan oluşan kapsül, gangliyon hücrelerini destekler. Bu gangliyonların nöronları psödüonipolardır (Temel Histoloji, 1998).

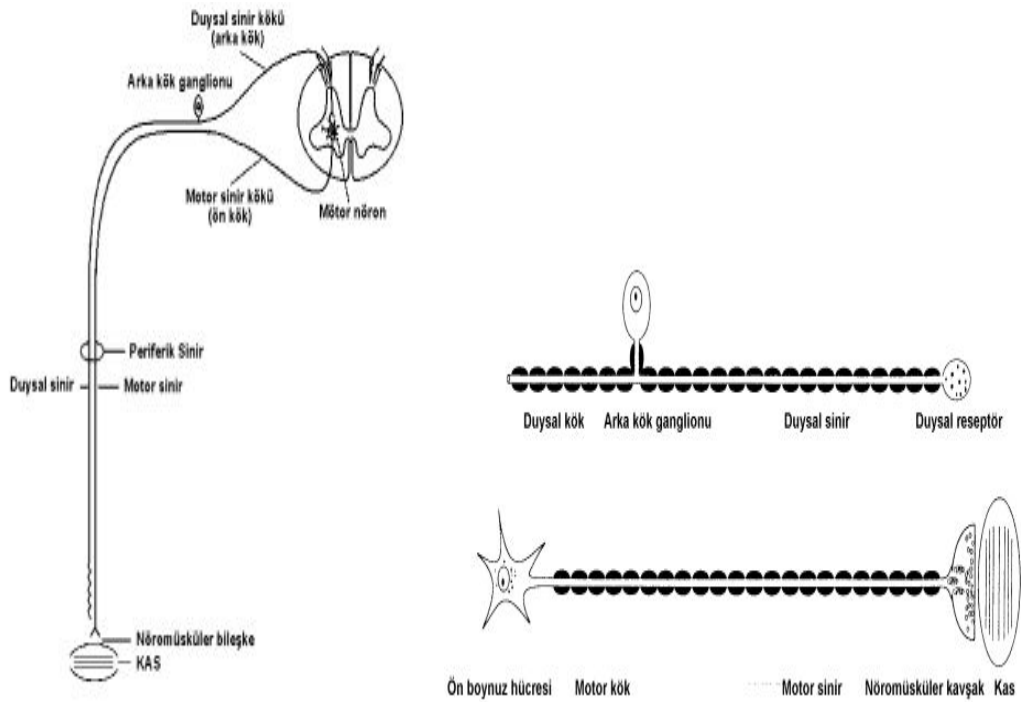
#### 2.5.2.b. Otonom Gangliyonlar

Otonom gangliyonlar otonom sinirlerde ampul şeklinde genişlemeler olarak görülür. Bazıları belli organların içinde, özellikle de intramural gangliyonları oluşturdukları sindirim kanalında yer alır. Bu gangliyonlarda bağ dokusundan oluşan kapsüller bulunmaz ve hücreleri içinde buldukları organın stroması tarafından desteklenir (Temel Histoloji, 1998).

Otonom gangliyonlarda genellikle multipolar nöronlar bulunur. Kraniospinal gangliyonlarda olduğu gibi otonom gangliyonlarda da ince Nissl cisimcikleri bulunan nöronal perikaryonlar yer almaktadır. Otonom gangliyonların nöronları çoğunlukla satellit hücrelerin oluşturduğu bir tabaka ile sarılı durumdadır. İntramural gangliyonlarda , yalnızca her nöronun etrafında yalnızca birkaç satellit hücresi görülür (Temel Histoloji, 1998).

## 2.6.Periferik Sinir Sistemi Anatomisi

Periferik sinirler duysal, motor ve otonomik sinir lifleri içerirler. Omurilik ön boynuzunda yerleşmiş alt motor nöronların aksonları ön kökten omuriliği terkederler ve periferik motor sinir liflerini oluşturur (Şekil 9.A). Periferik duysal aksonların hücre gövdeleri ise omuriliğin dışında, intervertebral foramende yerleşimli arka kök ganglionu içindedir. Buradaki bipolar duysal nöronların periferik uzantıları periferik sinir içinde yer alır (Şekil 9B)( Ertaş, 2000)

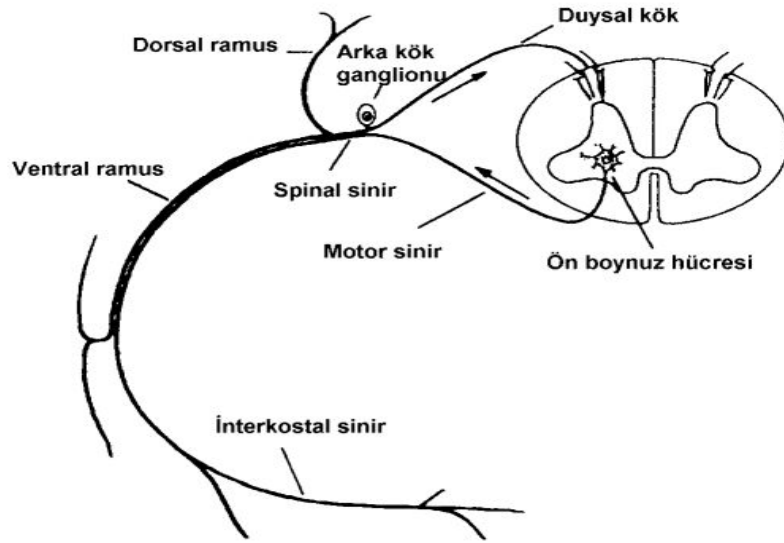


Şekil 9.A: Periferik motor sinir lifi

B. Periferik duysal aksonların hücre gövdeleri (Ertaş, 2000)

Her bir segmentte ön ve arka kökler omurilik dışında birleşip spinal siniri oluşturur. 31 çift spinal sinir vardır (8 servikal, 12 torakal, 5 lomber, 5 sakral, 1 koksigeal). Spinal sinirler arka (dorsal rami) ve ön (ventral rami) dallara ayrılırlar (Şekil 10)( Ertaş, 2000).

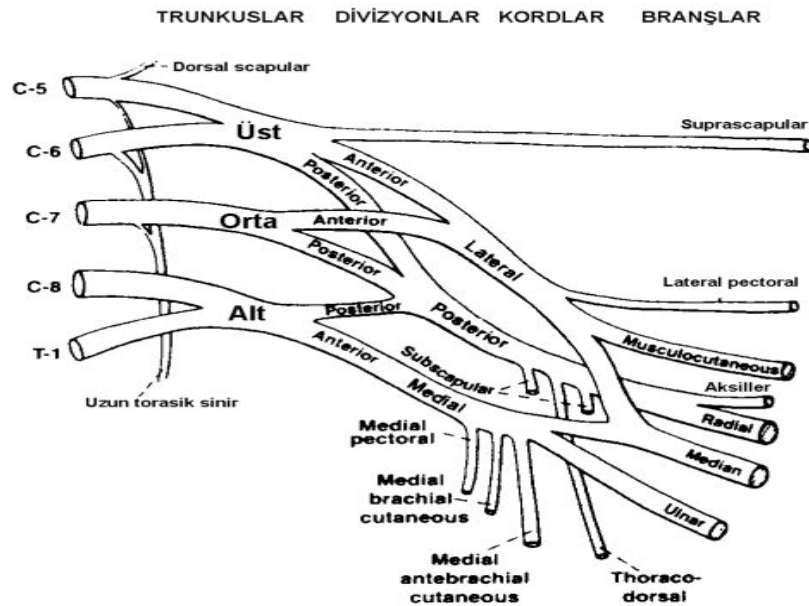
Arka dallar, omurganın üzerindeki cildin duyusunu ve paraspinal kasların innervasyonunu sağlar. Ön dallar ise göğüste interkostal sinirleri oluştururken, boyunda ve ekstremitelerde servikal, brakiyal ve lumbosakral pleksusları oluşturur. Brakiyal pleksusu oluşturan sinir lifleri önce üst, orta ve alt trunkusları yapar. Bunlar daha sonra anterior ve posterior divizyonlar halinde devam eder ve sonunda lateral, posterior ve medial kordlar olarak son bulur. Kordlardan üst ekstremitenin periferik sinirleri çıkarlar. Alt ekstremitede ise lomber ve sakral pleksus net bir ayırım göstermediği için lumbosakral pleksus olarak birlikte anılırlar. Lumbosakral pleksus dorsal ve ventral divizyonlara ayrılır. Daha sonra periferik sinirleri oluşturur ( Ertaş, 2000).



Şekil 10: Spinal sinir dallarını göstermektedir (Ertaş, 2000)

Periferik motor sinirler, kasları innerve ederler. Motor sinir terminalinde nöromusküler kavşakta innerve ettiği kasla bağlantı kurar. Duysal sinirler ise derideki çeşitli reseptörlerde son bulurlar. Bir spinal segmentin innerve ettiği tüm kaslar miyotom adını alırken, bu segmentin duyusundan sorumlu olduğu deri alanı ise dermatom adını alır. İstisnaları olmakla birlikte, bir kas birden fazla miyotoma ait olurken, yani birden fazla spinal segmentten sinir alırken, bir deri bölgesi de birden fazla dermatoma aittir, yani komşu dermatomlar birbirleriyle örtüşürler. Bu nedenle, bir periferik motor-duysal sinir kesildiğinde innerve ettiği kaslar tam felce uğrarken ve duyusundan sorumlu olduğu deri alanı tam anestezi halinde olurken, bir spinal segment, radikler veya spinal sinir hasarında motor hasar kısmi olur, his kusuru ise belirgin olmaz ( Ertaş, 2000).

Nervus medianus fossa axillaris'de, fasciculus lateralis'den ayrılan radix lateralis (C5, C6, C7) ile fasciculus medialis'den ayrılan radix medialis (C8,T1)'in birleşmesiyle oluşur(Şekil 11). Kolda m.biceps brachii'nin medialindeki sulcus bicipitalis medialis'de a. brachialis ve n. ulnaris ile birlikte aşağı doğru uzanır. Başlangıçta a. axillaris'in ön tarafında iken aşağıda arterin dış tarafına geçer. Kolun ortalarında a. brachialis'i önden çaprazlayarak iç tarafına yönelir. Kolda duysal ya da motor hiçbir dal vermez (Uysal, 2003)



Şekil 11: Median sinirin kökenini göstermektedir (Ertaş, 2000)



## 2.7.Periferik Sinir Zedelenmesi

Periferik sinir hücrelerinde başlıca üç tip zedelenme şekli söz konusudur (Şekil 12).

- 1) Waller dejenerasyonu
- 2) Aksonal dejenerasyon
- 3) Segmental demiyelinizasyon

### 2.7.1.Waller Dejenerasyonu

Periferik sinirin aksonunun herhangi bir yerinde herhangi bir nedenle (travma, infarktüs, uzamış veya şiddetli baskı gibi) hasarlanması ve bütünlüğünün bozulması sonucunda oluşan zararlanmadır. Aksonun kesintiye uğradığı yerin distalinde akson ve ardından çevresindeki miyelin kılıf dejenere olur, makrofajlarla fagosite edilir. Aksonun hasar yerinin proksimalinde kalan kısmı ve periferik sinir hücre gövdesi sağlam kalır(Ertaş, 2000).

Periferik sinir hücresinin aksonu kesintiye uğradığında Waller dejenerasyonunun gelişimi belirli bir zaman alır. Bu süre 4 - 11 gün arasında değişir. Akson ne kadar distalde kesintiye uğrarsa Waller dejenerasyonu o kadar erken gelişir. Waller dejenerasyonunda ilk günlerde aksonun hasarın distalinde kalan kısmı elektrikle tamamen normal olarak uyartılabilir. Daha sonra hasar yerinin aksonun ucuna mesafesine göre değişen bir süre içinde, sinirin uyarılabilirliği azalır en çok 11 gün içinde sinir uyarılamaz hale gelir. Motor sinirlerde ise sinir uyarımını takiben kastan alınan yanıt, nöromüsküler kavşağın periferik sinirden iki gün daha önce dejenere olması nedeniyle, hasarın en geç dokuzuncu gününde kaybolur. Sinir kılıfının devamlılığının korunmuş olması halinde, dejenerasyonu takiben sinir, hasarlandığı yerin distaline doğru günde yaklaşık 1 mm hızla rejenere olur. Aksonun kesintiye uğrayan kısmından distale doğru rejenere olan kısım aksonun ilk haline göre daha ince miyelinlidir ve internodal aralıklar daha kısadır (Ertaş, 2000).

### 2.7.2.Aksonal Dejenerasyon

Periferik sinir hücre gövdesinin veya aksonunun hasarı söz konusudur. Nedeni çoklukla metabolik veya toksikdir. Rahatsızlık ya periferik sinir hücre gövdesini doğrudan etkileyen bir nedenle (poliomiyelit gibi) olabileceği gibi aksonun bütününü etkileyen bir nedenle (Vincristine isimli sitostatik ilacın aksonal transportu engellemesi sonucu olduğu gibi) de olabilir. Periferik sinir hücresi canlılığını yitirdiyse artık geri dönüş yoktur. Eğer neden, aksonun bütünlüğü bozulmadan ortadan kaldırılırsa akson haftalar - aylar içinde fonksiyonuna kavuşabilir. Eğer aksonun bütünlüğü bozulduysa Waller dejenerasyonunda olduğu gibi, yavaş bir rejenerasyon süreci izler ( Ertaş, 2000).

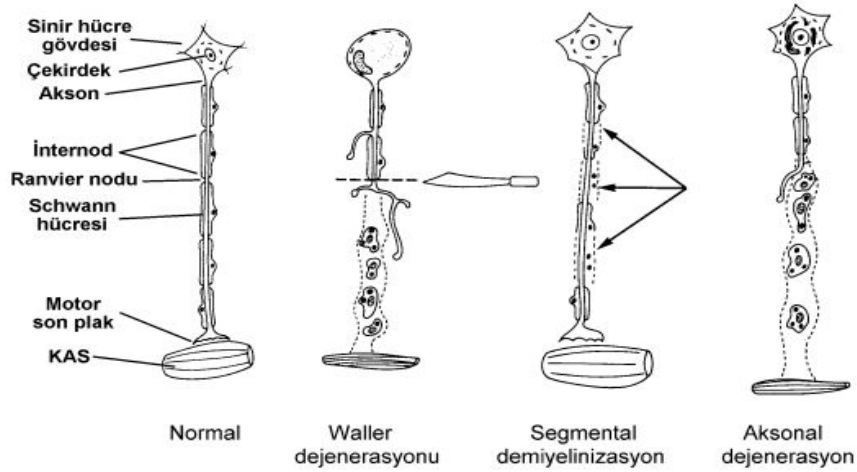
Aksonal dejenerasyonda sinir ileti incelemelerinde sinir hala uyarılabilir durumdaysa, ileti hızı normal veya normale yakın değerlerde bulunurken, aksonal dejenerasyonun olduğu motor sinirde Birleşik Kas Aksiyon Potansiyeli (BKAP) amplitüdü, duysal sinirde ise Duysal Sinir Aksiyon Potansiyeli (DSAP) ampiltüdü ufak bulunur. Daha ileri aşamada ise, motor veya duysal sinir uyarımıyla hedeften potansiyel kaydedilmez (Ertaş, 2000).

İğne EMG incelemesinde, aksonal dejenerasyonun 10 gün ya da daha sonrasında, denervasyonun neden olduğu spontan potansiyeller (fibrilasyon, pozitif keskin dalga, kompleks ardışık boşalım) kaydedilir. Parsiyel dejenerasyonun olduğu durumlarda (bir kısım aksonun fonksiyonel kaldığı durumlarda kas içinde kollateral filizlenme yoluyla denerve kas liflerinin sağlam aksonlarca reinnervasyonu sonucu) bir - iki ay sonrasında nörojenik motor ünite potansiyelleri (polifazik, geniş süreli, normal veya büyük amplitüdü) kaydedilir. Daha ilerleyen dönemde ise bu potansiyeller daha büyük amplitüd kazanırlar. Maksimal kasıda ekranda aynı anda gözlenen farklı motor ünite potansiyel sayısı azalmıştır (seyrelme paterni). Prognozu en kötü olan zararlanma tipidir (Ertaş, 2000).

### 2.7.3.Segmental Demiyelinizasyon

Miyelinli sinir liflerinde, periferik sinir aksonunda bir hasar olmaksızın etrafındaki Schwann hücresinde ve/veya miyelin kılıfında hasar söz konusudur. Demiyelinizasyon, herediter nöropatilerde olduğu gibi tüm sinir boyunca olabilir veya edinsel demiyelinizan durumlarda (Guillain-Barré Sendromu veya Kronik inflamatuvar demiyelinizan polinöropati gibi) belirli bir sinir segmentinde söz konusu olabilir. Miyelin, yenilenebilir bir yapıdır. Bu nedenle, nedeni ortadan kalktığında, demiyelinizasyon tümüyle geri dönüşü olan bir süreçtir. Demiyelinizasyonu takiben 15 gün ile 6 ay arasında remiyelinizasyon tamamlanır. Bununla birlikte, remiyelinize olan segmentlerde miyelin, öncekine göre daha ince ve internodal aralıklar daha kısadır. Demiyelinize segmentte ileti hızı yavaşlamıştır. Duysal sinir ileti incelemesinde DSAP sıklıkla elde edilmez. Motor ileti incelemesinde ise sıklıkla normal ya da normale yakın amplitüdde BKAP elde edilirken demiyelinize segmentte sinir ileti hızı yavaşlamıştır. Eğer demiyelinizasyon, sınırlı bir bölümde ise, bunun distalinden uyarımla normal motor ya da duysal yanıt kaydedilir. Bu bölgenin proksimalinden uyarımla ise, demiyelinizasyonun ağırlığına göre yanıt ufak olarak kaydedilir veya hiç kaydedilemez. Buna "ileti bloğu" adı verilir. İğne EMG incelemesinde sıklıkla spontan denervasyon aktivitesi kaydedilmezken, fibrilasyon veya pozitif keskin dalga aktivitesinin görülmesi şaşırtıcı değildir. Motor ünite potansiyelleri, eğer kaydedilebiliyorlarsa, her dönemde normal dalga formlarını sıklıkla korurlar(Ertaş, 2000).

Bununla birlikte erken evrede polifazik motor ünite potansiyelleri sık olmayarak kaydedilebilir (erken polifazi). Maksimal kası çabasında, "normal motor ünite potansiyelli seyrelme" paterni izlenir (Ertaş, 2000).

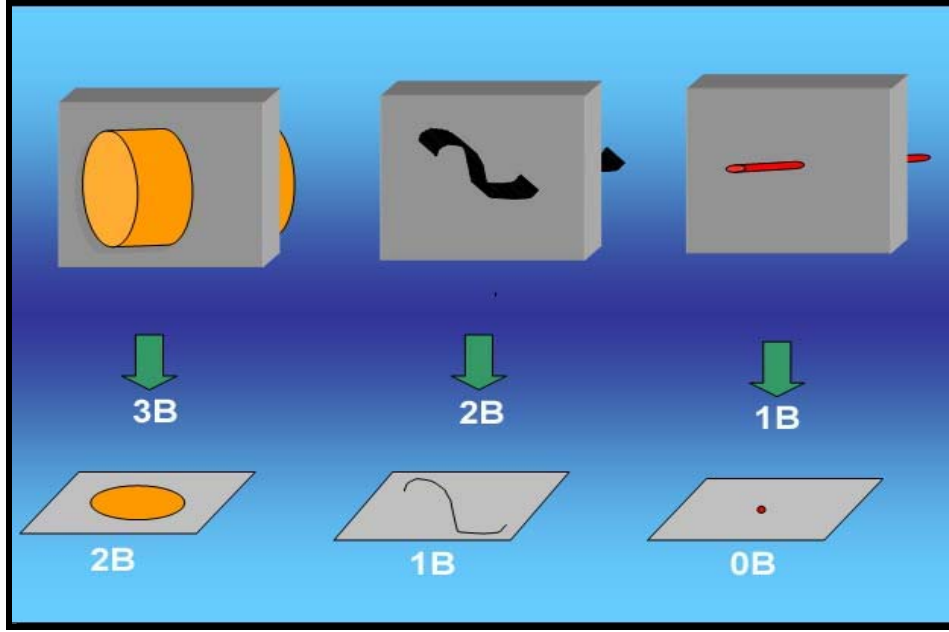


Şekil 12. Periferik sinir yaralanmalarını göstermektedir (Ertaş, 2000)

## 2.8.Stereoloji Kavramına Genel Bakış

### Stereoloji Nedir ?

Stereoloji, üç boyutlu biyolojik yapıların iki boyutlu kesitlerinden elde edilen bulgulara bakılarak, biyolojik yapıların gerçekteki üç boyutlu özellikleri ile ilgili bilgiler elde edilmesini sağlayan bir yöntemdir. Biyolojik yapıların iki boyutlu kesitlerinde incelenecek yapıların izdüşümlerinin incelenmesiyle yapılan yorumlarda araştırmacılar için bazı yanılgılar ortaya çıkmaktadır. Bu sorunlardan birisi boyut azalması sorunudur. İki boyutlu kesit düzlemleri ile örneklenen “n” boyutlu bir yapı, kesitte “n-1” kadar boyuta sahip bir izdüşümü ile temsil edilecektir. Yani, belli bir hacme sahip (üç boyutlu) katı bir öge, iki boyutlu bir yüzey; iki boyuta sahip bir yüzey (örneğin bir membran) tek boyutlu bir çizgi veya eğri; tek boyutlu (fibril gibi) bir çizgi veya eğri ise, sıfır boyutlu bir nokta olarak izdüşümü verir. Tek başına bu bakış açısı bile, kesitlerden faydalanılarak yapılan morfometrik çalışmaların, uygun metotlar kullanılmadan ne kadar yanıltıcı olabileceğini göstermeye yeterlidir (Howard ve Reed, 1998).



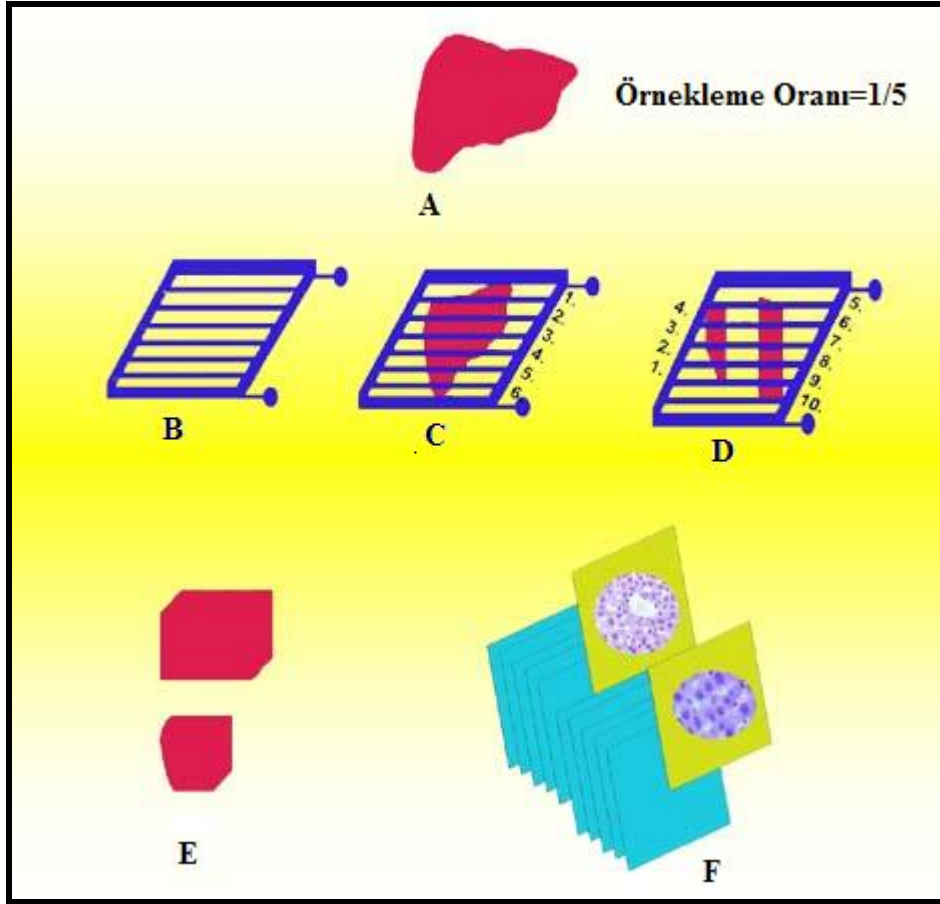
**Şekil 13: Üç boyutlu yapıların kesit alınmasına bağlı boyut azalmasını göstermektedir**

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 (Howard ve Reed, 1998).

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. Yani; stereolojik metodlar kurallarına uygun bir biçimde uygulandığında, sistematik sapmadan bağımsız sonuçlar elde edilmesini ve örnekleme sayısı arttırıldıkça gerçek değere daha fazla yaklaşıma olanak sağlar (Cruz-Orive, 1997; West, 1998 ).

Bilimsel araştırmalarda bir diğer önemli husus ise etkinliktir. Yani kısa sürede daha az değişkenlik gösteren sonuçlara ulaşılmasıdır. Stereolojik metotlar aşağıda da belirtildiği gibi bu prensibe uyum göstermektedir.

Stereolojik metotların temelini ‘‘Sistematik Rastgele Örnekleme’’ (SRÖ) prensibi oluşturmaktadır. Bu örnekleme çeşidinin temel özelliği, araştırılacak yapıdan örnekler almanın gerekli olduğu durumlarda, alınan örneğin yapının bütünü hakkında güvenilir bilgiler verebilmesidir. 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 neokorteksidenki 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 örneklenmesi ve bu örneklerinde yapının tamamını temsil etmesi gerekmektedir. Bu amaçla SRÖ, daha önce bir ön çalışma ile belirlenmiş sabit bir örneklem aralığı boyunca, ilk aralık içinde rastgele bir noktadan başlamak şartıyla incelenecek yapının tamamını etkili bir biçimde örneklemeyi amaçlar, örneklemenin sistematik bölümünü pilot çalışmayla belirlenen örneklem aralığı, örneklemenin rastgelelik kısmını ise ilk aralık içinde rastgele bir noktadan başlanması oluşturmaktadır. İstatistiksel olarak böyle bir örnekleme, ne kadar çok örnek üzerinde uygulanırsa, biyolojik materyalin her noktası için eşit örnekleme şansı tanıdığı için homojen ve verimli bir örnekleme elde etme şansı da bir o kadar artacaktır (Gundersen ve Jensen, 1987).



**Şekil 14: SRÖ mantığını göstermektedir. A; taze çıkarılmış doku örneğini (KC) B; örnekleme bıçağını C,D,E; örnekleme bıçağı ile kesilen dokunun 1/5 oranda örneklenmesini F; mikrotom ile kesilen dokulardan elde edilen preparatların 1/5 oranında örneklenmesini göstermektedir**

Stereolojik metotların birçoğu SRÖ mantığına dayanmaktadır. Bunlar arasında tanecik sayımı, alan hesaplamaları, alan ve hacim oranları gibi yöntemler verilebilir.

### 2.9. Konu ile İlgili Literatür Özeti:

Fötüsün beslenmesinde plasenta önemli bir yere sahiptir ve belirli düzeyde seçici geçirgen özelliktedir. Bu seçici geçirgen bariyerden fötüse ulaşan NSAİİ'lerin fötüs üzerinde ne derecede teratojenik etkiye sahip olduğu hakkında birçok farklı sonuç bildiren çalışma bulunmaktadır (Lewis ve Schulman, 1973; Shapiro ve ark., 1976; Collins, 1981; Roubenoff ve ark., 1988). Bu nedenle gebelik süresince bu ilaçların kullanımı konusuna dikkat edilmelidir.

Bir araştırmada 144 hamile kadında aspirin uygulamışlar ve aspirinin doğum öncesi ve sonrası kanamaya, gebelik süresinde ise uzamaya sebep olduğunu bulmuşlardır. Ancak aynı araştırmacılar aspirinin teratojenik etkisinin olmadığını açıklamışlardır. Yine bu araştırmacılar daha sonraki çalışmalarında aspirin alan kadınların bebeklerinin doğum ağırlığında azalma ve perinatal ölü doğum oranında artış olduğunu bulmuşlardır (Collins ve Turner, 1975, 1976).

Aspirinle ilgili yapılan bir diğer çalışmada 41377 hamile kadının yeni doğanlarında herhangi bir teratojenik etkinin olmadığı gösterilmiştir (Shapiro ve ark., 1976; Slone ve ark., 1976). Başka bir çalışma ile hamilelikte ilk üç ay aspirin kullanmanın konjenital kalp defekti riskini artırmadığı bildirilmiştir (Werler ve ark., 1979).

Hamile bir kadın tarafından alınan aspirinin büyük ölçüde fötal dolaşıma geçtiği bilinmektedir. Gebe maymunlara yüksek oranda aspirinin enjekte edilmesi sonucu yavrularda doğumsal malformasyonların meydana geldiği gözlenmiştir (Werler ve ark., 1979; Kayaalp, 1992). Doğumuna son altı ay kalan hamilelerde sürekli aspirin alımı hamileliğin 10 gün kadar uzamasına ve doğum olayının ise daha uzun sürede sonlanmasına neden olduğu bildirilmektedir. Gebe kadınların doğumundan birkaç gün önce aspirin alması sonucu doğum ve doğum sonrası kanamalarda bir artma olduğu gözlenmiştir. İnsan ve hayvan fötüslerinin uzun süre aspirin ve benzeri ilaçlara maruz kalmaları halinde bunlarda postnatal yaşamlarında pulmoner hipertansiyon ortaya çıktığı gözlenmektedir (Byron, 1987).

Düşük dozda aspirin kullanılmasının olumlu sonuç vermesi sonucu araştırmacılar fötal ölüm, fötal gelişme ve preeklampsi tedavisinde aspirin kullanımına yönelmeye başladılar. Başka bir çalışmada hipertansiyonlu gebe kadınlarda aspirin düşük dozda uygulanmış ve düzelme olduğu, ilaç verilmeyen kontrol gurubunda ise fötal ölüm ve aşırı gelişme geriliği gibi bazı durumların meydana geldiği gözlenmiştir (Beaufils ve ark., 1985). Bir diğer çalışmada ise preeklampsili gebelere günlük 60 mg doz aspirin uygulanmış ve bunlarda rahatsızlığın önemli bir şekilde iyileştiği görölmüştür (Hount, 1993). Bunun karşıtı olan çalışmalar da mevcuttur. Aspirin alan ve almayan hipertansiyonlu hamileler birbirleri ile karşılaştırılmış ve bir fark görölmemiş ve böylece aspirinin hipertansiyon tedavisi üzerinde etkisinin olmadığı belirtilmiştir (Schiff ve ark.,1990).



Ayrıca gebeliğin üçüncü trimesterinde aspirin uygulamasının doğum süresinde hiçbir değişiklik yapmadığını savunan araştırmalara da rastlanmıştır (Sibai ve ark., 1989).

Bu çalışmalara zıt olarak aspirinin teratojenik olduğunu gösteren araştırmalar da mevcuttur. İnsana uygulanan dozun 5 kat fazlası enjekte edilen sıçanlarda kraniovertebral anomaliler olduğu görülmüştür. Bunlar; yarık dudak ve damak, hidrosefali ve iskelet bozukluklarıdır (Werkanky ve Takacs, 1959; Larsson ve Eriksson, 1966).

NSAİ grubuna giren diğer ilaçlarla ilgili çalışmalar aspirine göre daha azdır. Bu grup ilaçlardan olan Diklofenak sodyum ile yapılan bir başka çalışmada bu ilacın blastosist implantasyonunu büyük oranda engellediği bildirilmiştir (Carp ve ark., 1988). Ayrıca 4 mg/kg dozda sıçanlara uygulanan diklofenak sodyumun fötüs kaburgalarında defektlere neden olduğunu belirten yayınlar da mevcuttur (Brooks ve Needs, 1985). Sıçanlarda gebeliğin farklı zamanlarında uygulanan diklofenak sodyuma karşı özellikle gebeliğin son trimesterinde tolerans meydana geldiğine dair araştırmalara da rastlanmıştır. (Galanova ve ark., 1985). Bununla birlikte diklofenak sodyum'un 10 mg/kg a kadar olan dozlarında tavşanlarda herhangi bir teratojenik etki yapmadığı bildirilmiştir (Russel, 1986).

Başka bir çalışmada prenatal dönemde erkek sıçanlara diklofenak sodyum uygulanmış ve bu ilacın dorsal hipokampusta bulunan piramidal hücre sayısına etkisi araştırılmıştır. Araştırmacılar, kontrol ve deney gruplarındaki sıçanların dorsal hipokampuslarının sağ ve sol taraflarında milimetreye düşen hücre sayılarını birbirleri ile karşılaştırmışlar ve diklofenak sodyum uygulanan deneklerde kontrol grubuna göre hücre sayısında azalma olduğunu göstermişlerdir (Rağbetli ve ark., 1996). Aynı araştırmacılar başka bir çalışmalarında intrauterinal yaşamlarında sıçanlara diklofenak sodyum uygulamışlar ve postnatal dönemde erkek sıçanların dorsal hipokampusunun tabaka kalınlığındaki değişiklikleri incelemişlerdir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; deney ve kontrol grubu deneklerinin hipokampus tabaka kalınlıkları birbirleriyle karşılaştırılmış ve aralarında önemli ölçüde fark olmadığı belirtilmiştir (Rağbetli ve ark., 1996).

Bu konu ile ilgili bir diğerk çalışma da cornu ammonis ve gyrus dentatusdaki nörön sayıları üzerinde yapılmıştır. Deney grubundaki deneklere prenatal dönemde diklofenak sodyum uygulanan bu çalışmada, yavrular 4 ve 20 haftalık olarak iki gruba ayrılmıştır. Bu çalışma sonucunda, dört haftalık kontrol ve diklofenak sodyum grupları arasında önemli bir fark gözlenmediği belirtilmiştir. Ancak 20 haftalık diklofenak sodyum uygulanmış denek grubunda kontrol grubuna kıyasla nörön sayısında azalma gözlendiği vurgulanmıştır. Gyrus dentatusda diklofenak sodyum uygulanan grubun 4 haftalık deneklerinde granüler hücre sayısında azalma görülmesine rağmen, 20 haftalık deneklerde granüler hücre sayısında kontrol grubuna göre artma gözlendiği rapor edilmiştir (Gökçimen ve ark., 2007).

Bu ilacın etkisiyle ilgili birçok çalışma daha mevcuttur. Yapılan bazı çalışmalar NSAİİ'lerin kıkırdak proteoglikanların sentezini inhibe ettiğini ve böylece kıkırdak yapısını bozduğunu göstermiştir. Prenatal dönemde uygulanan diklofenak sodyumun postnatal dönemde sıçanlardaki eklem kıkırdağı dokusu üzerindeki etkisi araştırılmış, çalışma sonucunda kontrol ve denek grubu arasında belirgin ölçüde fark olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, yavrudan alınan eklem kıkırdaklarından hazırlanan preparatların asidik proteoglikanlar için özel bir boya ile boyandığı ve bu işlem sonucunda kontrol grubunun koyu, denek grubunun ise açık renkte boyandığı belirtilmiştir. Deney grubu preparatlarının açık renk boyanmasının sebebi, gebelikte kullanılan diklofenak sodyumun asidik proteoglikanların sentezini inhibe ederek fetal dönemde fetus kıkırdağınının gelişimini olumsuz yönde etkilemesi ile açıklanmış ve postnatal dönemde de bu etkinin devam edebileceği belirtilmiştir (Odacı ve ark., 2001).

Diğerk bir çalışma ise bu ilacın akciğerk kapillerlerinin sayısı üzerine olan etkisini araştırma amacı ile yapılmıştır. Bu araştırma sonucunda deney grubunda kontrol grubuna kıyasla mm<sup>2</sup>'ye düşen kapiller sayısında belirgin şekilde azalma olduğu tespit edilmiştir (Kaplan ve ark., 1994).

Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar ile ilgili diğerk bir çalışma bu ilacın böbrek glomerulus sayısına etkisinin araştırılması üzerine yapılmıştır. Gebelikleri esnasında sıçanlara diklofenak sodyum uygulanmış ve yavru sıçanlarda böbreklerdeki glomerul sayısına bakılmıştır. Fakat deney ve kontrol grubu deneklerinin sonuçlarının birbirleri ile karşılaştırılması neticesinde bu gruplar arasındaki farkın önemsiz olduğu belirtilmiştir (Kaplan ve ark., 1994).

Bir başka çalışmada nonsteroidal antiinflatuar ilaç ya da serum fizyolojik solusyonunun periferik sinir üzerine etkisi araştırılmıştır. Hayvanlarda prenatal dönemde uygulanan maddelerin periferik sinirdeki akson sayısı, miyelin kılıf kalınlığı ve akson alanı üzerine etkileri incelenmiştir. Araştırmanın sonucunda deney ve kontrol grupları arasında belirgin fark olduğu anlaşılmıştır. Serum fizyolojik ve diklofenak sodyum uygulanan deney gruplarında akson alanı ve sayısında azalma olduğu belirtilmiştir (Canan ve ark., 2008).

Yapılan diğer bir çalışmada ise bu tür ilaçların nöral kök hücre çoğalması ve farklılaşması üzerine etkisi araştırılmış ve diklofenak sodyumun hücre ölümlerine neden olduğu açıklanmıştır (Kudo ve ark., 2003).

Diklofenak sodyumun göbek bağı uzunluğu, göbek bağı damar çapı genişliği, plasental ve fetal ağırlığa etkisini araştıran çalışmalar da yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda diklofenak sodyum uygulanmasından sonra göbek bağı damar çapının etkilenmediği, göbek bağının uzunluğu, fetal ağırlık ve plasental ağırlığın arttığı gösterilmiştir (Kaplan ve ark., 1993).

Periferik sinir sistemi içerdiği sinir ve ganglionlarla vücut ve beyin arasındaki ilişkinin sağlanmasında önemlidir. Günümüze değin periferik sinir sistemi hakkında embriyolojik düzeyde yapılmış çalışmalar sınırlı sayıdadır. Ayrıca prenatal dönemde kullanılan anti-inflatuar ilaçların periferik sinir sistemi üzerindeki etkileri de bilinmemektedir. Bu çalışmada literatürde eksik olduğu görülen bu konunun sıçan modelinden elde edilen nervus medianus üzerinde stereolojik yöntemlerle açıklanması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOD

### 3.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer

Bu araştırma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Cerrahi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde ve Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

### 3.2. Deneklerin Seçimi

Bu çalışmada ağırlıkları ortalama 150-200gr civarında değişmekte olan dişi albino sıçanlar kullanıldı. Denekler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakóltesi Cerrahi Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edildi. Çalışmada kullanılan denekler eşit üç gruba ayrıldı. Her üç grup için toplam 9 adet (n=3) dişi sıçan kullanıldı. Her bir dişi sıçan ayrı kafeslerde erkek sıçanla çiftleşmeye bırakıldı. Yavru sayısı ve cinsiyeti, her hayvandan en az 2 adet dişi ve 2 adet erkek olacak şekilde elde edildi. Bۆylece 9 dişiden elde edilecek yavru sayısı toplam 36 adet oldu (18 dişi ve 18 erkek). Hayvanlar deneye başlamadan ۆnce ortama adaptasyonlarının sağlanması açısından, aynı bakım koşullarında eřme suyu ve standart fabrikasyon palet yem ile beslendi. Deney sırasında hayvanlar rahat hareket edebilecekleri bۆyüklükte ve ۆzeri hava alabilecek şekilde kapatılmış metal kafesler içerisinde beşerli gruplar halinde tutuldu. Hayvanlar kontrol, serum fizyolojik ve diklofenak sodyum olmak ۆzere üç gruba ayrıldı. alışmalar için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Araştırma Merkezi Etik Kurulundan izin alındı ve deneyler sۆresince Etik Kurul şartlarının sağlanmasına ۆzen gۆsterildi.

### 3.3. Deneysel Prosedür

Öncelikli olarak deney hayvanları aşağıda belirtildiği gibi gruplara ayrıldı.

**(1.grup)** ; 3 ana dişi, Denek (diklofenak sodyum enjeksiyonu)

**(2.grup)** ; 3 ana dişi, Serum fizyolojik (serum fizyolojik enjeksiyonu)

**(3.grup):** 3 ana dişi, Kontrol (hiçbir işlem yapılmayacak)

Çiftleşmenin ertesi günü vaginal plak gözlenen sıçanların, gebeliğin sıfırınıcı gününde oldukları kabul edildi. Hayvanlar normal ışık ve karanlık siklusu ile ( $21\pm 2$  °C takibe alındı, yem ve suyu gerektiği kadar verildi. Enjeksiyona, gebeliğin 5. gününde başlandı ve 15 gün boyunca yani 19. güne kadar (19. gün dahil) devam edildi. Deney grubuna intramuskular enjeksiyon ile 1cc (1mg/kg) diklofenak sodyum (Voltaren, 75 mg/3 ml ampul, CIBA GEICY); Serum fizyolojik grubuna da aynı dönem içinde 1 cc (1ml/kg) serum fizyolojik intramuskular yolla enjekte edildi. Pür kontrol grubuna ise hiçbir işlem uygulanmadı. Doğuma yakın her hayvan ayrı kafese alındı. Doğum günü postnatal sıfırınıcı gün olarak kabul edildi. Postnatal 3 haftada yavruların erkek ve dişileri ayırarak farklı kafeslere alındı.

Yavru hayvanlar, postnatal yaşamlarınının 28. gününde üretan anestezisi (1.25 mg/kg) altında transkardiak yolla bir kanül vasıtası ile perfüzyona alındı. Kalpte sağ atrium kesisi yaparak önce 0,5 ml lik heparin, daha sonra ise sol ventriküle serum fizyolojik verildi. Serum fizyolojigin verilmesine, sağ atriyumdan berrak sıvı akıncaya kadar devam edildi. Ardından tamponlu paraformaldehit ve %10 luk formaldehit (tamponlu) ile tespit işlemi yapıldı. Kol ve bacaklardaki titremeler ve kasılmalar fiksasyon sıvısının ilgili yerlere ulaştığını göstermekteydi. Bu görünüm ortaya çıkana kadar işleme devam edildi. Daha sonra ilgili sinir dokusu alınıp tespit solusyonu içine bırakıldı.

### 3.4. Histolojik İşlemler

Stereolojik ve histopatolojik çalışma için kullanılan nervus medianus örnekleri formalin (%10) içerisinde 48 saat boyunca bekletilip, daha sonra sinir örnekleri sırasıyla aşağıdaki işlemlerden geçirildi:

- 1-% 3 luk glutar aldehit -buzdolabında 1 saat
- 2-0.1 M fosfat tamponu 15 dakika yıka
- 3-0.1 M fosfat tamponu 15 dakika yıka
- 4-0.1 M fosfat tamponu 15 dakika yıka
- 5-0.1 M fosfat tamponu 15 dakika yıka
- 6-Post fiksasyon (osmium) 1. 5 saat oda sıcaklığında
- 7-% 35 etil alkol 15 dak
- 8-% 50 etil alkol 15 dak
- 9-% 70 etil alkol 15 dak
- 10-% 95 etil alkol 20 dak
- 11-% 100 etil alkol 20 dak
- 12-% 100 etil alkol 20 dak
- 13-% 100 etil alkol 20 dak
- 14-Propilen oksit 20 dak
- 15-Propilen oksit 20 dak.
- 16-½ Propilen oksit +1/2 Araldit 1 saat
- 17-Araldit 1 gece
- 18- Polimerizasyon için 60<sup>0</sup> etüvde 48 saat.

Ultratom ile elde edilen 1 µm kalınlığında yarı ince kesitler toluidin mavisi ile boyandı. Boyanan tüm kesitler kanada balsamı ile kapatıldı.

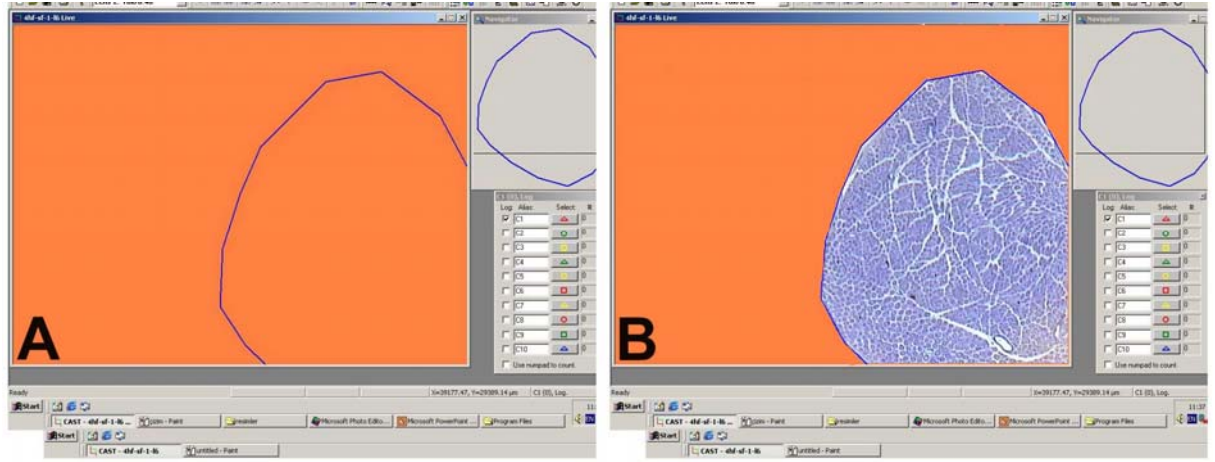
### 3.5. Stereolojik İşlemler

#### 3.5.1. Kesitler Üzerinde Alan Örneklenmesi İşlemi ve Sayım İşleminin Uygulanması

Bu çalışmada akson sayısının hesaplanmasında aşağıdaki işlem sırası takip edildi:

1-Sayılması istenen objeyi (aksonu) içeren alanlar kesitler üzerinde belirlendi.

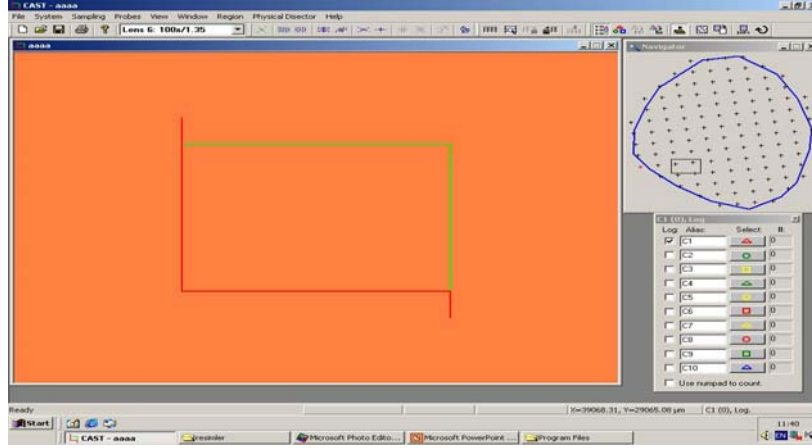
2-İlgilenilen alanların dış hatları CAST-Grid programında çizildi (Şekil 15).



Şekil 15: A, B; CAST-Grid yazılımı ile nervus medianus kesitleri üzerinde yapılan çizim işlemini göstermektedir. A; Orijinal sinir kesitinin sadece dış hatlarını, B; Orijinal sinir kesiti üzerine çizilmiş dış hatlarını göstermektedir

3-Dış hatları belirlenen kesitin alanı hesaplandı.

4-Hesaplanan referans kesit alanı uzaysal olarak X ve Y düzlemlerinde eşit aralıklı alanlar içeren adımlara bölündü (Şekil 16).



Şekil 16: X ve Y düzlemlerinde eşit aralıklı adımlara bölünmüş sinir örneğini göstermektedir

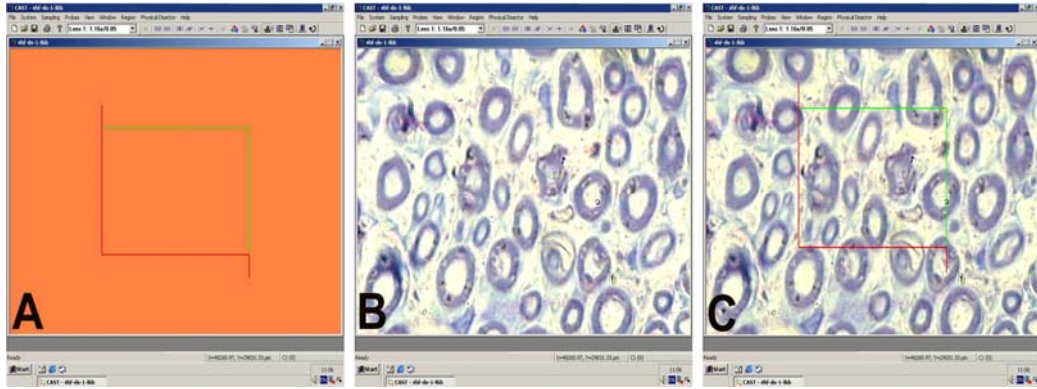
X –Y düzlemindeki adım aralığı ve bir aşama sonrasında da ilgili adım aralığına yerleştirilen tarafsız sayım çerçevesinin alanı yapılan pilot çalışmalar sonucunda uygun hata katsayısına göre belirlenmiştir

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 nede gerçekte olduğundan daha fazla örneklenmesini sağlamaktır. Bu 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 17).



**Şekil 17: A, B,C; CAST-Grid yazılımı ile nervus medianus 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**

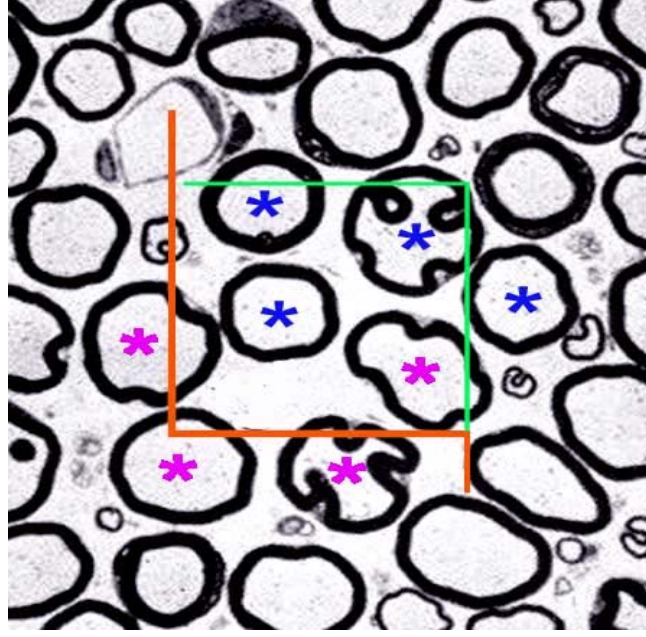
Yukarıdaki bilgilerin verilmesinin ardından **“tarafsız sayım çerçevesi’nin ”** kurallarından bahsetmek yerinde olacaktır. Buna göre,

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

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

**c.**Yeşil çizgi ile teması olan partikül izdüşümleri sayıma dahil edilir.

**d.**Çerçevenin kalın ve kırmızı çizgilerinin uzantıları ile kesişen izdüşümlerin bir kısmı sayıma dahil olan alan içinde bulunsa bile sayılmazlar (Şekil 18).



Şekil 18: Şematik olarak bir ekran üzerine yerleştirilmiş bir tarafsız sayım çerçevesi görülüyor. Yeşil çizgiler serbest ya da dâhil kenarları, kırmızı çizgiler ise yasak kenarları göstermektedir. Yasak çizgilerin uzantılarının doğrultuları, sayımın doğruluğu için gerekli ve önemlidir. Mavi yıldızlar tarafsız sayım çerçevesinin içerisinde gözlenen, serbest kenarlar ya da bu kenarların uzantılarıyla kesişen dolayısı ile sayıma dahil edilen akson profillerini, pembe yıldızlar ise tarafsız sayım çerçevesinin dış kısımlarında gözlenen, yasak kenarlarla ya da bu kenarların uzantılarıyla kesişen dolayısı ile sayıma dahil edilmeyen akson profillerini göstermektedir

5-Yukarıda sözü edilen aşamalardan sonra X-Y düzlemindeki her bir adım üzerinde aynı noktalara tarafsız sayım çerçevesi yerleştirildikten sonra çerçeve kuralları dahilinde sayım işlemleri gerçekleştirilerek tüm adımlardaki alanlar bu esaslara göre değerlendirildi (Şekil 16).

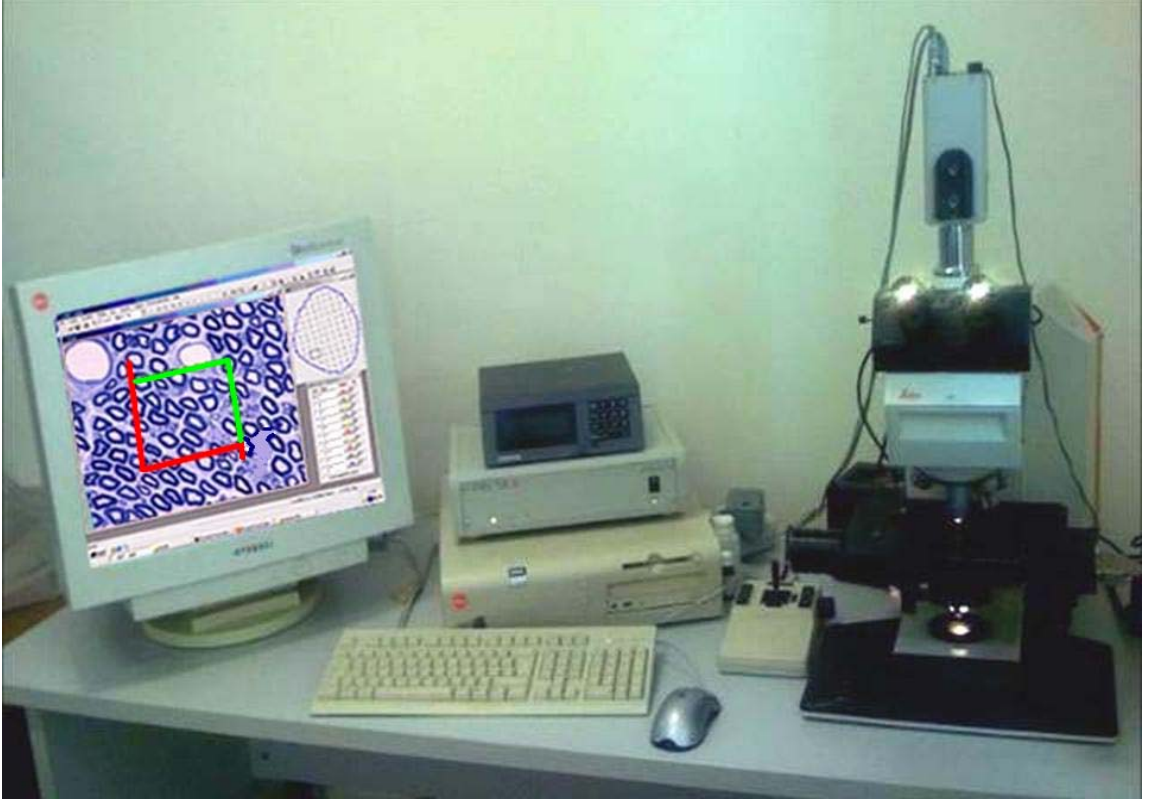
6-Sayım işlemi tamamlandıktan sonra her  $\text{cm}^2$ ' deki ortalama akson sayısı ( $N_{\text{Aakson}}$ ) aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$N_{\text{Aakson}} = \frac{\sum Q}{a}$$

$\sum Q_{\text{Akson}}$  = hesaplanan akson profillerinin toplam sayısı

$a$  = sayım çerçevesinin alanı

### 3.6. Bilgisayar Destekli Stereolojik Analiz Sistemi



**Şekil 19:** Sayım işlemlerinin yapıldığı Bilgisayar Destekli Stereolojik Analiz Sistemini göstermektedir

Stereolojik değerlendirmeler için kullanılan Bilgisayar Destekli Stereolojik Analiz Sistemi (Şekil 19) **JVC (TK-C1380) marka** kameralı bir mikroskop, mikroskop tablasını hareket ettiren **motorize sistem** ve bunların kullanımını kontrol eden **CAST-GRID (versiyon 2.00.03)** yazılımını barındıran **LEICA marka** bir bilgisayardan oluşmaktadır.

### **3.7. İstatistiksel Değerlendirme**

Bu çalışmadan elde edilen sayısal veriler SPSS programı ( SPSS version 13.0; SPSS Inc., Chicago, IL,USA) ile istatistiksel açıdan değerlendirildi. Gruplar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığının değerlendirilmesinde Mann Whitney U testi kullanıldı. Gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmelerde gözlenen  $p < 0,05$  fark değeri anlamlı olarak kabul edildi.

## BULGULAR

Bu çalışma için kullanılan 4 haftalık erkek ve dişi sıçanlara prenatal dönemde 5. günden başlayarak 19. gün de dâhil olmak üzere 15 gün boyunca günde 1mg/kg diklofenak sodyum veya eşit hacimde serum fizyolojik enjekte edilmiştir. Doğumdan sonra 4 hafta yaşatılan sıçanların nervus medianus örneklerinde toplam akson sayısı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı stereolojik yöntemle hesaplanmıştır. Ayrıca aynı kesitler üzerinde rutin histopatolojik değerlendirmeler de yapılmış ve bu değerlendirmeler sonucunda aşağıdaki bulgular elde edilmiştir.

### 4.1. STEREOLOJİK BULGULAR

#### 4.1.A. Toplam Akson Sayısı Bulguları

##### 4.1.A.I. Erkek Deneklere Ait Stereolojik Bulgular

##### 4.1.A.I.a. Kontrol Grubundaki Erkek Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Akson Sayısı

Kontrol grubundaki erkek deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan hesaplamalar sonucunda toplam akson sayısı her bir birey ve grup için aşağıdaki tablo ve şekilde görülmektedir (Tablo 5, Şekil 20).

**Tablo 5: Kontrol grubundaki erkek deneklerde toplam akson sayısı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

<b>Kontrol Erkek</b>	<b>Toplam Akson Sayısı</b>
1	3482
2	2110
3	2118
4	2185
5	2980
<b>Ort=</b>	<b>2575</b>
<b>DK=</b>	<b>0,56</b>
<b>SS=</b>	<b>1433,89</b>
<b>SEM=</b>	<b>641,26</b>

#### 4.1.A.I.b.Serum Fizyolojik Grubundaki Erkek Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Akson Sayısı

Serum Fizyolojik grubundaki erkek deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan hesaplamalar sonucunda toplam akson sayısı, her bir birey ve grup için aşağıdaki tablo ve şekilde görülmektedir (Tablo 6, Şekil 20).

**Tablo 6: Serum fizyolojik grubundaki erkek deneklerde toplam akson sayısı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

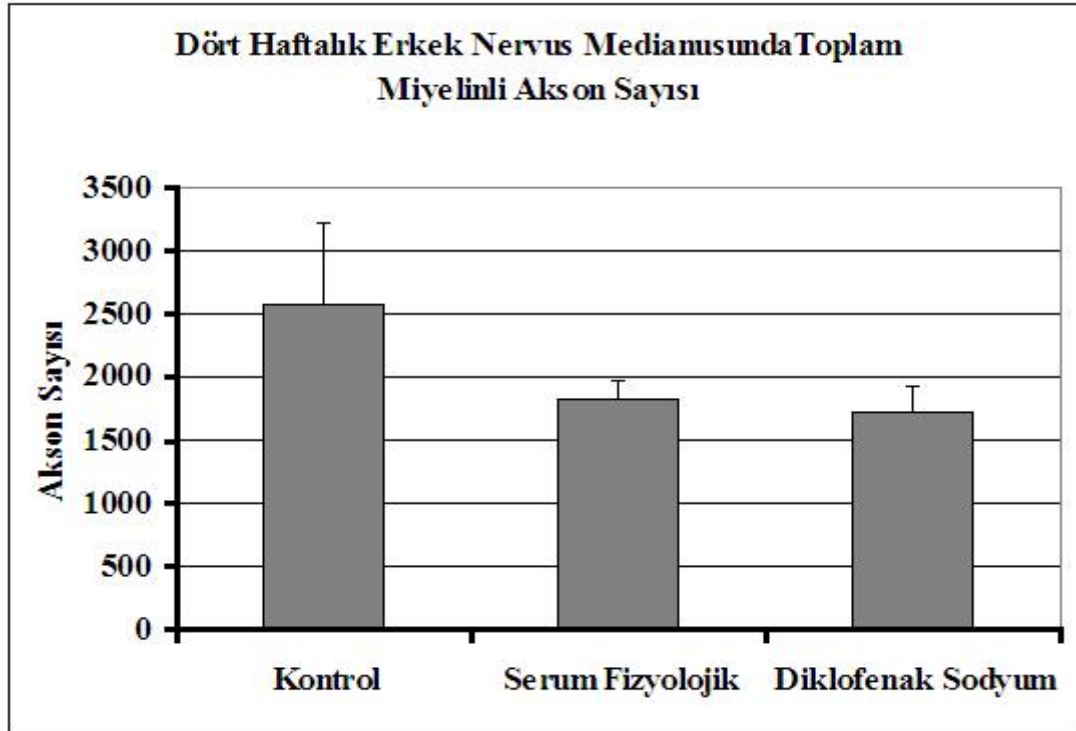
Serum Fizyolojik Erkek	Toplam Akson Sayısı
1	2212
2	1296
3	1715
4	2153
5	1774
<b>Ort=</b>	<b>1830</b>
<b>DK=</b>	<b>0,18</b>
<b>SS=</b>	<b>332,20</b>
<b>SEM=</b>	<b>148,56</b>

#### 4.1.A.I.c.Diklofenak Sodyum Grubundaki Erkek Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Akson Sayısı

Diklofenak Sodyum grubundaki erkek deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan hesaplamalar sonucunda toplam akson sayısı, her bir birey ve grup için aşağıdaki tablo ve şekilde görülmektedir (Tablo 7, Şekil 20).

**Tablo 7: Diklofenak sodyum grubundaki erkek deneklerde toplam akson sayısı, DK; Değişim Katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

Diklofenak Sodyum Erkek	Toplam Akson Sayısı
1	1243
2	1194
3	1715
4	2271
5	2172
Ort=	1719
DK=	0,27
SS=	449,92
SEM=	201,22



**Şekil 20: Erkek deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan toplam miyelinli akson sayısı**

#### 4.1.A.II. Dişi Deneklere Ait Stereolojik Bulgular

##### 4.1.A.II.a. Kontrol Grubundaki Dişi Deneklere Ait Sinir ÖrneKlerindeki Akson Sayısı

Kontrol grubundaki dişi deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan hesaplamalar sonucunda toplam akson sayısı, her bir birey ve grup için aşağıdaki tablo ve şekilde görölmektedir (Tablo 8, Şekil 21) .

**Tablo 8: Kontrol grubundaki dişi deneklerde toplam akson sayısı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

<b>Kontrol Dişi</b>	<b>Toplam Akson Sayısı</b>
<b>1</b>	1173
<b>2</b>	1557
<b>3</b>	1568
<b>4</b>	1286
<b>5</b>	1539
<b>6</b>	1324
<b>Ort=</b>	<b>1455</b>
<b>DK=</b>	<b>0,11</b>
<b>SS=</b>	<b>160,82</b>
<b>SEM=</b>	<b>65,66</b>



#### 4.1.A.II.b. Serum Fizyolojik Grubundaki Dişi Deneklere Ait Sinir Örnekleindeki Akson Sayısı

Serum Fizyolojik grubundaki dişi deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan hesaplamalar sonucunda toplam akson sayısı, her bir birey ve grup için aşağıdaki tablo ve şekilde görölmektedir (Tablo 9, Şekil 21).

**Tablo 9: Serum fizyolojik grubundaki dişi deneklerde toplam akson sayısı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

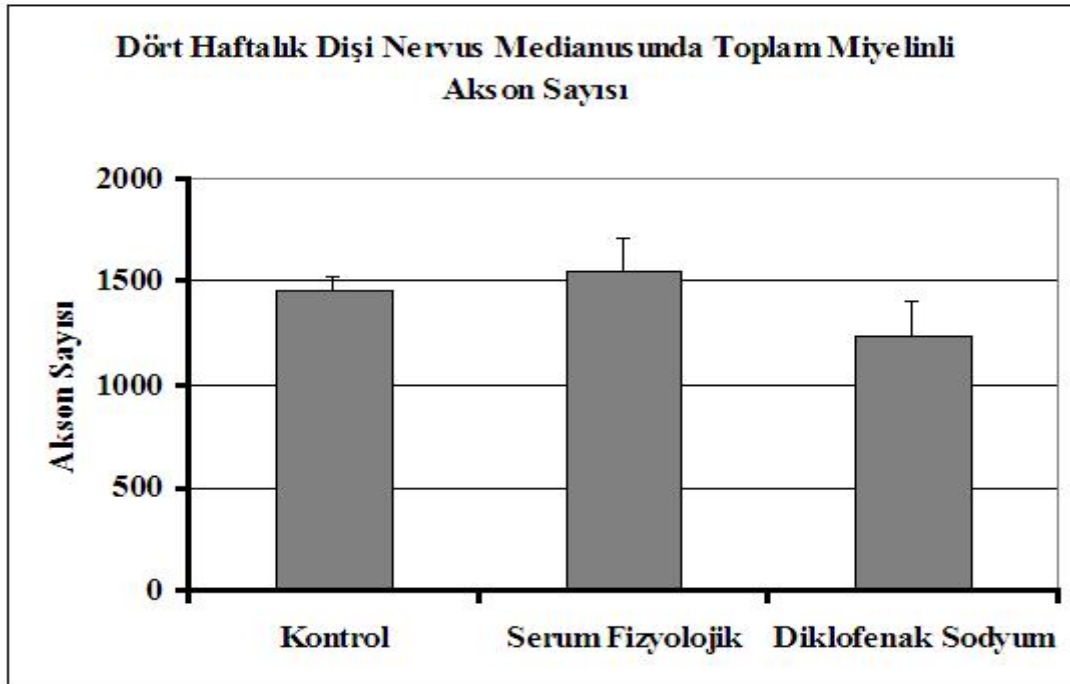
Serum Fizyolojik Dişi	Toplam Akson Sayısı
1	2068
2	1139
3	1106
4	1955
5	1780
6	1230
<b>Ort=</b>	<b>1546</b>
<b>CV=</b>	<b>0,26</b>
<b>SS=</b>	<b>398,64</b>
<b>SEM=</b>	<b>162,74</b>

#### 4.1.A.II.c. Diklofenak Sodyum Grubundaki Dişi Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Akson Sayısı

Diklofenak Sodyum grubundaki dişi deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan hesaplamalar sonucunda toplam akson sayısı, her bir birey ve grup için aşağıdaki tablo ve şekilde görülmektedir (Tablo 10, Şekil 21).

**Tablo 10: Diklofenak sodyum grubundaki dişi deneklerde toplam akson sayısı, DK; Değişim Katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

Diklofenak Sodyum Dişi	Toplam Akson Sayısı
1	1335
2	1641
3	1617
4	765
5	824
<b>Ort=</b>	<b>1236</b>
<b>CV=</b>	<b>0,30</b>
<b>SS=</b>	<b>376,64</b>
<b>SEM=</b>	<b>168,44</b>



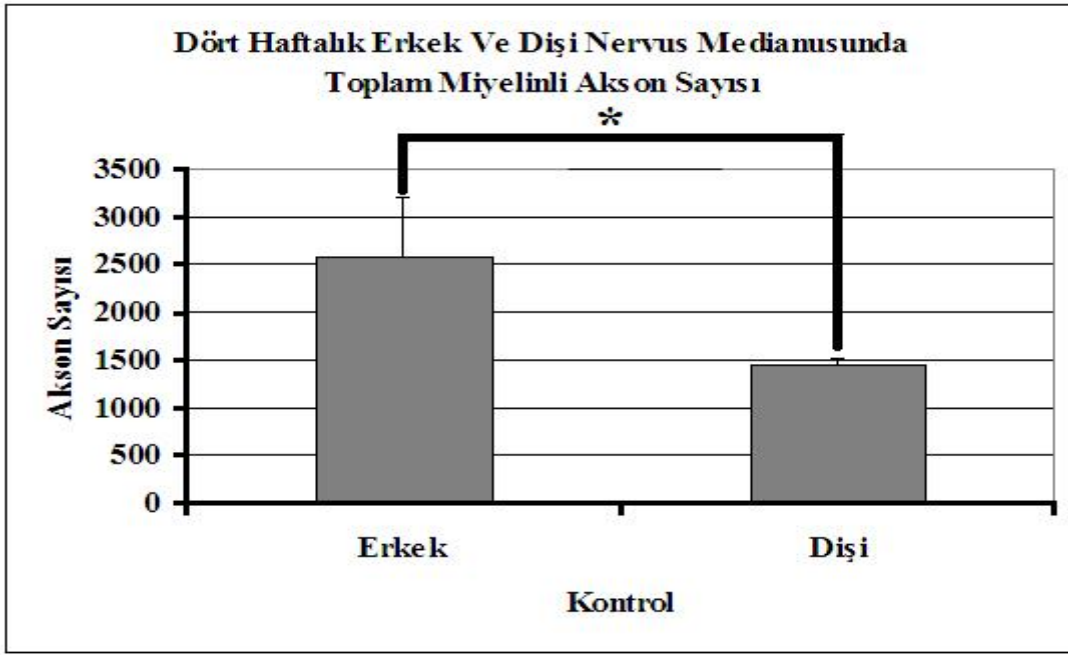
**Şekil 21: Dişi deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan toplam miyelinli akson sayısı**

#### 4.1.A.III. Akson Sayısı Bulgusunun Cinsiyete Bağlı Olarak Değerlendirilmesi

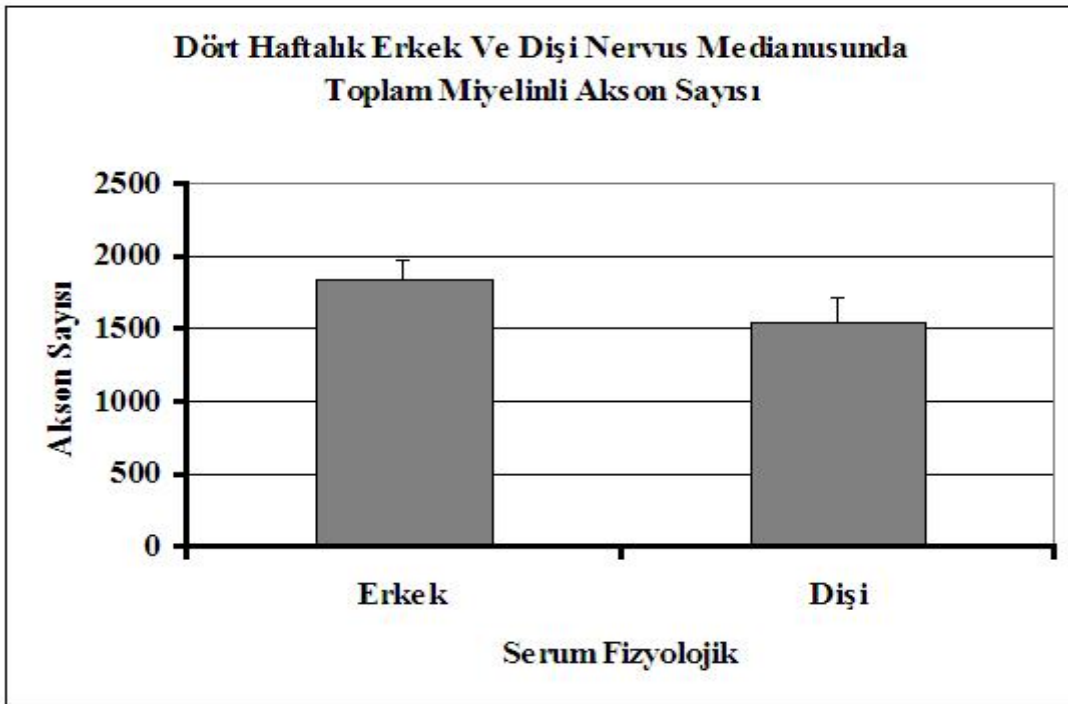
Farklı gruplardaki erkek ve dişi deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan akson sayısı ölçümlerinin stereolojik ve cinsiyete bağlı değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde de verilmiştir. (Tablo 11, Şekil 22, 23, 24)

**Tablo 11: Dişi ve erkek deneklere ait farklı gruplardan alınan sinir örneklerinden elde edilen toplam akson sayısını göstermektedir**

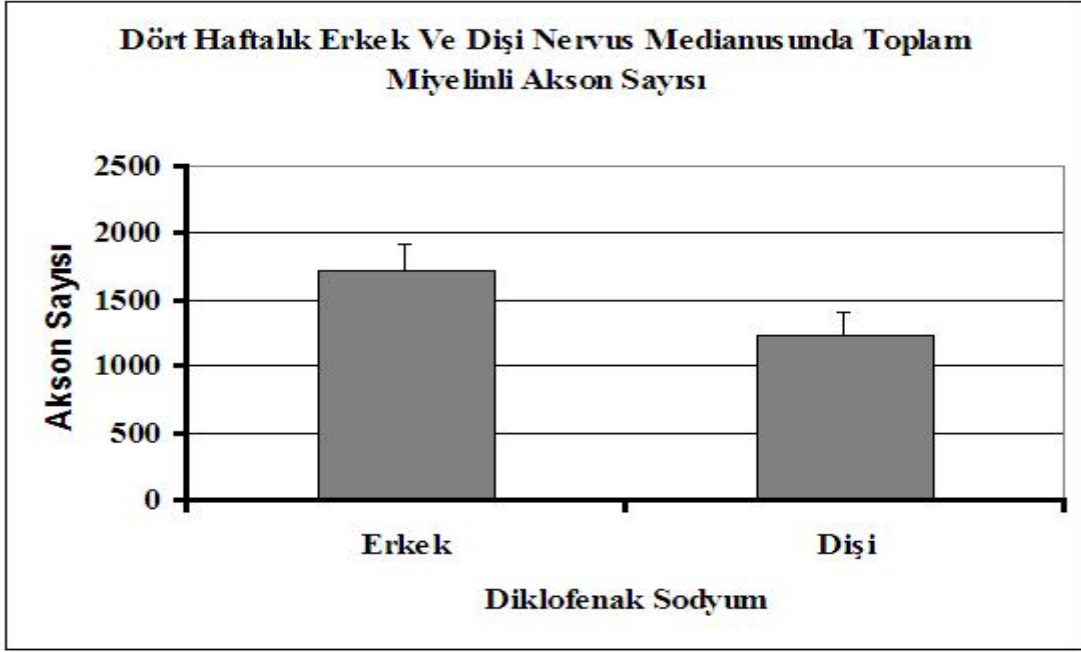
<b>Gruplar</b>	<b>Cinsiyet</b>	<b>Toplam Ortalama Akson Sayısı</b>
Kontrol	Erkek	2575±641,26
	Dişi	1455±65,66
Serum Fizyolojik	Erkek	1830±148,56
	Dişi	1546±162,74
Diklofenak Sodyum	Erkek	1719±201
	Dişi	1236±168,44



Şekil 22: Kontrol grubuna ait dişi ve erkek deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan toplam miyelinli aks on sayısı



Şekil 23: Serum fizyolojik grubuna ait dişi ve erkek deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan toplam miyelinli aks on sayısı



Şekil 24: Diklofenak sodyum grubuna ait dişi ve erkek deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan toplam miyelinli akson sayısı

#### 4.1.B. Akson Alanı Bulguları

##### 4.1.B.I. Erkek Deneklere Ait Stereolojik Bulgular

##### 4.1.B.I.a. Kontrol Grubundaki Erkek Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Akson Alanı

Kontrol grubundaki erkek deneklere ait ışık mikroskopik kesitlerde yapılan akson alanı ölçümlerinin stereolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde verilmiştir. (Tablo 12, Şekil 25)

**Tablo 12: Kontrol grubundaki erkek deneklerde akson alanı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

<b>Kontrol Erkek</b>	<b>Akson alanı (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
<b>1</b>	6,03
<b>2</b>	6,51
<b>3</b>	6,63
<b>4</b>	5,23
<b>5</b>	6,89
<b>Ort=</b>	<b>6,26</b>
<b>CV=</b>	<b>0,09</b>
<b>SS=</b>	<b>0,58</b>
<b>SEM=</b>	<b>0,26</b>

##### 4.1.B.I.b. Serum Fizyolojik Grubundaki Erkek Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Akson Alanı

Serum Fizyolojik grubundaki erkek deneklere ait ışık mikroskopik kesitlerde yapılan akson alanı ölçümlerinin stereolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde verilmiştir. (Tablo 13, Şekil 25)

**Tablo 13: Serum fizyolojik grubundaki erkek deneklerde akson alanı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

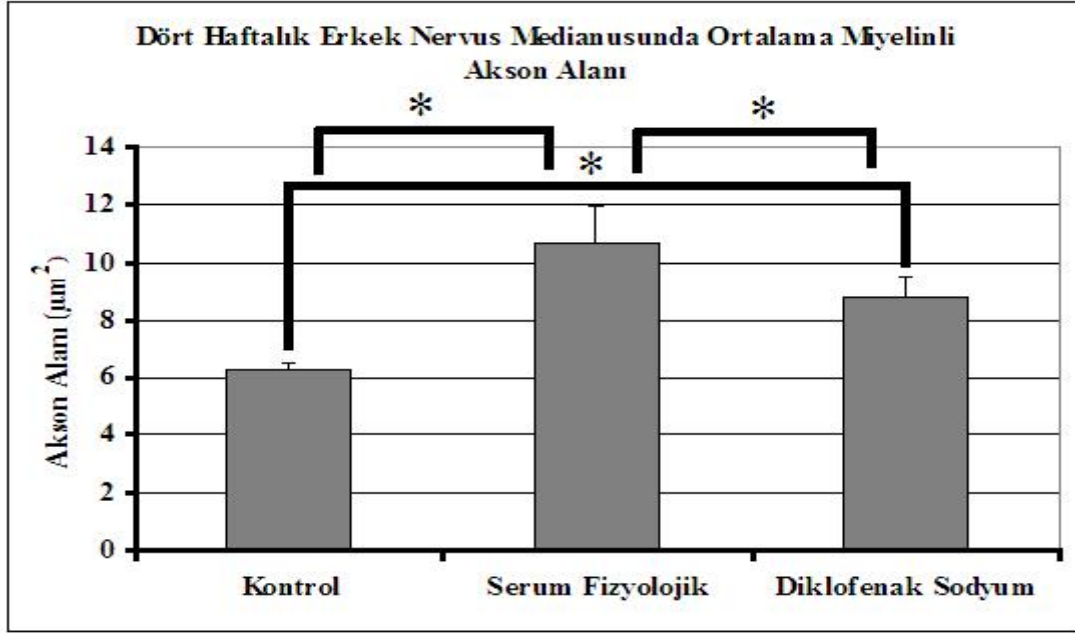
<b>Serum Fizyolojik Erkek</b>	<b>Akson alanı (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
<b>1</b>	11,39
<b>2</b>	6,71
<b>3</b>	9,02
<b>4</b>	11,14
<b>5</b>	15,14
<b>Ort=</b>	<b>10,68</b>
<b>CV=</b>	<b>0,26</b>
<b>SS=</b>	<b>2,80</b>
<b>SEM=</b>	<b>1,25</b>

#### **4.1.B.I.c. Diklofenak Sodyum Grubundaki Erkek Deneklere Ait Sınır Örneklerindeki Akson Alanı**

Diklofenak Sodyum grubundaki erkek deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan akson alanı ölçümlerinin stereolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde verilmiştir. (Tablo 14, Şekil 25)

**Tablo 14: Diklofenak sodyum grubundaki erkek deneklerde akson alanı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

<b>Diklofenak Sodyum Erkek</b>	<b>Akson alanı (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
<b>1</b>	8,37
<b>2</b>	6,25
<b>3</b>	8,68
<b>4</b>	10,36
<b>5</b>	10,39
<b>Ort=</b>	<b>8,81</b>
<b>CV=</b>	<b>0,17</b>
<b>SS=</b>	<b>1,53</b>
<b>SEM=</b>	<b>0,68</b>



Şekil 25: Erkek deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan akson alanı

#### 4.1.B.II. Dişi Deneklere Ait Stereolojik Bulgular

##### 4.1.B.II.a. Kontrol Grubundaki Dişi Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Akson Alanı

Kontrol grubundaki erkek deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan akson alanı ölçümlerinin stereolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular tablo ve şekilde verilmiştir. (Tablo 15, Şekil 26)

Tablo 15: Kontrol grubundaki dişi deneklerde akson alanı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart Sapma, SEM; Ortalama standart hata

Kontrol Dişi	Akson alanı (µm <sup>2</sup> )
1	10,74
2	7,21
3	5,48
4	9,51
5	5,07
6	9,55
<b>Ort=</b>	<b>7,93</b>
<b>CV=</b>	<b>0,27</b>
<b>SS=</b>	<b>2,15</b>
<b>SEM=</b>	<b>0,88</b>



#### 4.1.B.II.b. Serum Fizyolojik Grubundaki Dişi Deneklere Ait Sinir Örnekleindeki Akson Alanı

Serum Fizyolojik grubundaki dişi deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan akson alanı ölçümlerinin stereolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde verilmiştir. (Tablo 16, Şekil 26)

**Tablo 16: Serum fizyolojik grubundaki dişi deneklerde akson alanı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

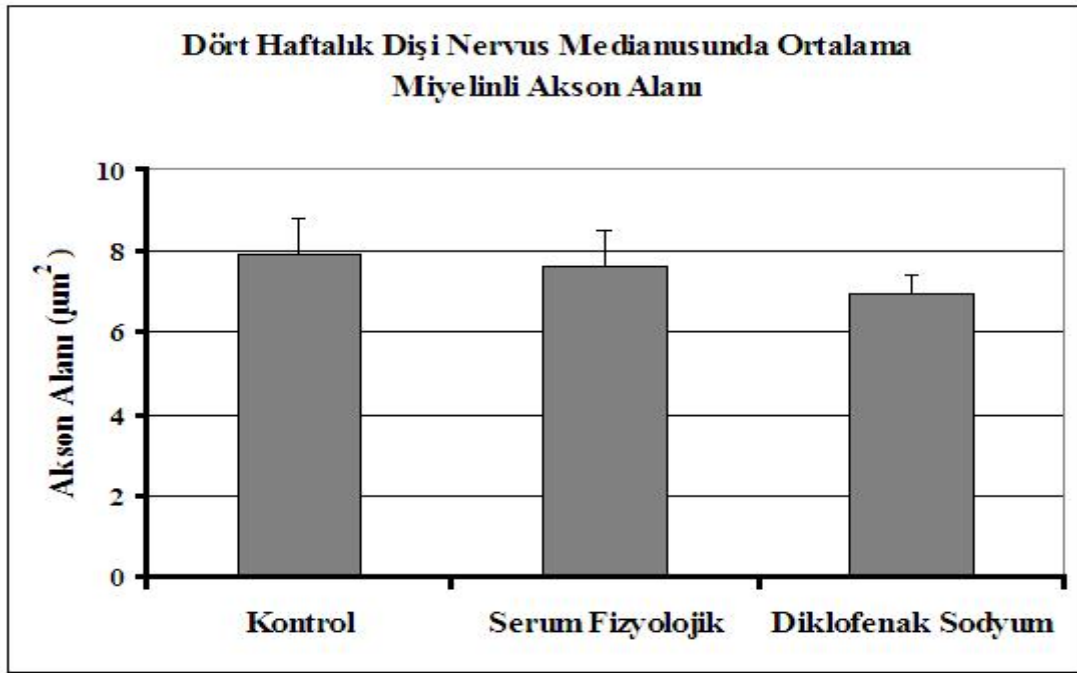
Serum Fizyolojik dişi	Akson alanı ( $\mu\text{m}^2$ )
1	10,27
2	5,19
3	7,68
4	8,07
5	9,69
6	5,02
<b>Ort=</b>	<b>7,65</b>
<b>CV=</b>	<b>0,26</b>
<b>SS=</b>	<b>2,01</b>
<b>SEM=</b>	<b>0,82</b>

#### 4.1.B.II.c. Diklofenak Sodyum Grubundaki Dişi Deneklere Ait Sinir Örnekleindeki Akson Alanı

Diklofenak Sodyum grubundaki dişi deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan akson alanı ölçümlerinin stereolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde verilmiştir (Tablo 17, Şekil 26)

**Tablo 17: Diklofenak sodyum grubundaki dişi deneklerde akson alanı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

Diklofenak Sodyum dişi	Akson alanı ( $\mu\text{m}^2$ )
1	7,99
2	7,28
3	7,66
4	5,41
5	6,49
<b>Ort=</b>	<b>6,97</b>
<b>CV=</b>	<b>0,13</b>
<b>SS=</b>	<b>0,92</b>
<b>SEM=</b>	<b>0,41</b>



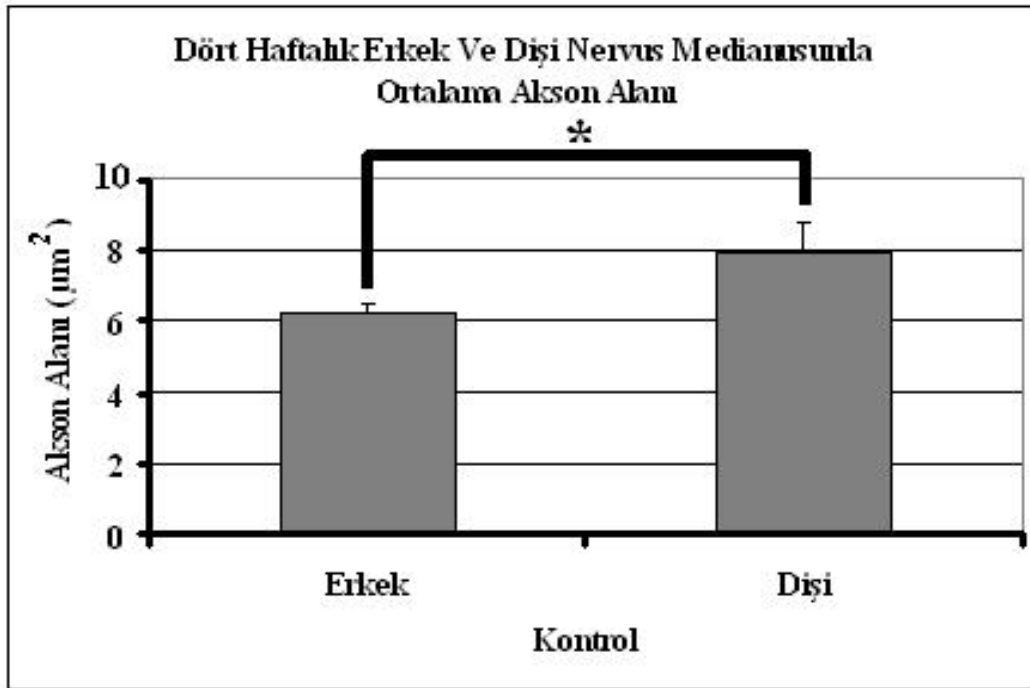
**Şekil 26: Dişi deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan akson alanı**

#### **4.1.B.III. Akson Alanı Bulgusunun Cinsiyete Bağlı Olarak Değerlendirilmesi**

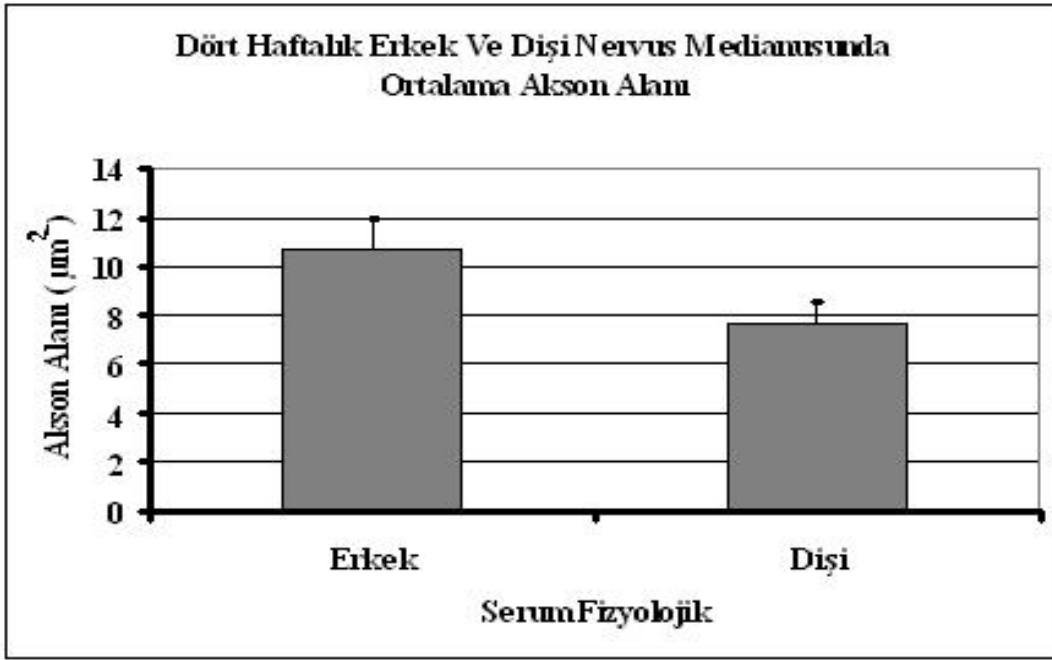
Farklı gruplardaki erkek ve dişi deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan akson alanı ölçümlerinin stereolojik ve cinsiyete bağli değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde verilmiştir. (Tablo 18, Şekil 27, 28, 29)

Tablo 18: Dişi ve erkek deneklere ait farklı gruplardan alınan sinir örneklerinden elde edilen akson alanını göstermektedir

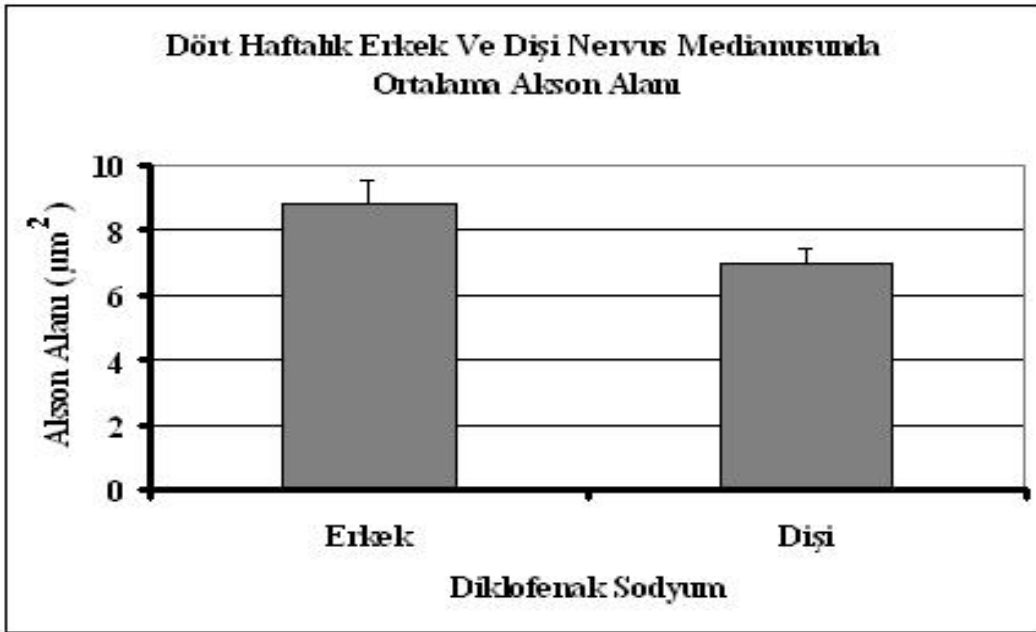
Gruplar	Cinsiyet	Ortalama Akson Alanı
Kontrol	Erkek	6,26±0,26
	Dişi	7,93±0,88
Serum Fizyolojik	Erkek	10,68±1,25
	Dişi	7,65±0,82
Diklofenak Sodyum	Erkek	8,81±0,68
	Dişi	6,97±0,41



Şekil 27: Kontrol grubuna ait dişi ve erkek deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan akson alanı



Şekil 28: Serum fizyolojik grubuna ait dişi ve erkek deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan akson alanı



Şekil 29: Diklofenak sodyum grubuna ait dişi ve erkek deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan akson alanı

#### 4.1.C. Miyelin kılıf kalınlığı Bulguları

##### 4.1.C.I. Erkek Deneklere Ait Stereolojik Bulgular

##### 4.1.C.I.a. Kontrol Grubundaki Erkek Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Miyelin Kılıf Kalınlığı

Kontrol grubundaki erkek deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan miyelin kılıf kalınlığı ölçümlerinin stereolojik analizi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde verilmiştir (Tablo 19, Şekil 30)

**Tablo 19: Kontrol grubundaki erkek deneklerde miyelin kalınlığı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

<b>Kontrol Erkek</b>	<b>Miyelin Kalınlığı (µm)</b>
<b>1</b>	0,784
<b>2</b>	0,808
<b>3</b>	0,859
<b>4</b>	0,824
<b>5</b>	0,909
<b>Ort=</b>	<b>0,837</b>
<b>CV=</b>	<b>0,052</b>
<b>SS=</b>	<b>0,044</b>
<b>SEM=</b>	<b>0,019</b>

##### 4.1.C.I.b.Serum Fizyolojik Grubundaki Erkek Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Miyelin Kılıf Kalınlığı

Serum Fizyolojik grubundaki erkek deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan miyelin kılıf kalınlığı ölçümlerinin stereolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde verilmiştir. (Tablo 20, Şekil 30)

**Tablo 20: Serum fizyolojik grubundaki erkek deneklerde miyelin kalınlığı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

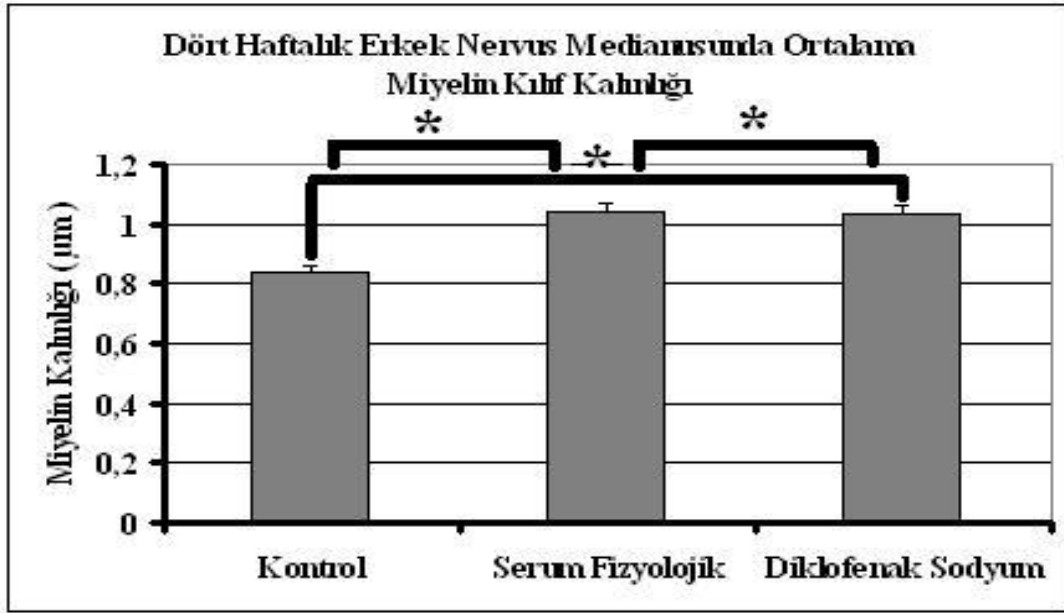
<b>Serum fizyolojik erkek</b>	<b>Miyelin kalınlığı (µm)</b>
<b>1</b>	1,092
<b>2</b>	0,933
<b>3</b>	1,005
<b>4</b>	1,036
<b>5</b>	1,139
<b>Ort=</b>	<b>1,041</b>
<b>CV=</b>	<b>0,068</b>
<b>SS=</b>	<b>0,071</b>
<b>SEM=</b>	<b>0,032</b>

#### **4.1.C.I.c. Diklofenak Sodyum Grubundaki Erkek Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Miyelin Kılıf Kalınlığı**

Diklofenak Sodyum grubundaki erkek deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan miyelin kılıf kalınlığı ölçümlerinin stereolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde verilmiştir. (Tablo 21, Şekil30)

**Tablo 21: Diklofenak sodyum grubundaki erkek deneklerde miyelin kalınlığı DK; Değişim katsayısı SS; Standart sapma SEM; Ortalama standart hata**

<b>Diklofenak Sodyum erkek</b>	<b>Miyelin kalınlığı (µm)</b>
<b>1</b>	1,000
<b>2</b>	0,936
<b>3</b>	1,089
<b>4</b>	1,088
<b>5</b>	1,064
<b>Ort=</b>	<b>1,035</b>
<b>CV=</b>	<b>0,057</b>
<b>SS=</b>	<b>0,059</b>
<b>SEM=</b>	<b>0,026</b>



Şekil 30: Erkek deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan miyelin kalınlığı

#### 4.1.C.II. Dişi Deneklere Ait Stereolojik Bulgular

##### 4.1.C.II.a. Kontrol Grubundaki Dişi Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Miyelin Kılıf Kalınlığı

Kontrol grubundaki dişi deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan miyelin kılıf kalınlığı ölçümlerinin stereolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde verilmiştir. (Tablo 22, Şekil 31)

Tablo 22: Kontrol grubundaki dişi deneklerde miyelin kalınlığı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata

Kontrol Dişi	Miyelin Kalınlığı (µm)
1	1,007
2	0.998
3	0.995
4	0.995
5	0,887
6	1.019
<b>Ort=</b>	<b>0,979</b>
<b>CV=</b>	<b>0,045</b>
<b>SS=</b>	<b>0,044</b>
<b>SEM=</b>	<b>0,018</b>

#### 4.1.C.II.b.Serum Fizyolojik Grubundaki Dişi Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Miyelin Kılıf Kalınlığı

Serum Fizyolojik grubundaki dişi deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan miyelin kılıf kalınlığı ölçümlerinin stereolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde verilmiştir. (Tablo 23, Şekil 31)

**Tablo 23: Serum fizyolojik grubundaki dişi deneklerde miyelin kalınlığı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

Serum Fizyolojik Dişi	Miyelin Kalınlığı (µm)
1	1,034
2	1,016
3	1,107
4	0,980
5	1,047
6	0,964
<b>Ort=</b>	<b>1,023</b>
<b>CV=</b>	<b>0,046</b>
<b>SS=</b>	<b>0,047</b>
<b>SEM=</b>	<b>0,019</b>

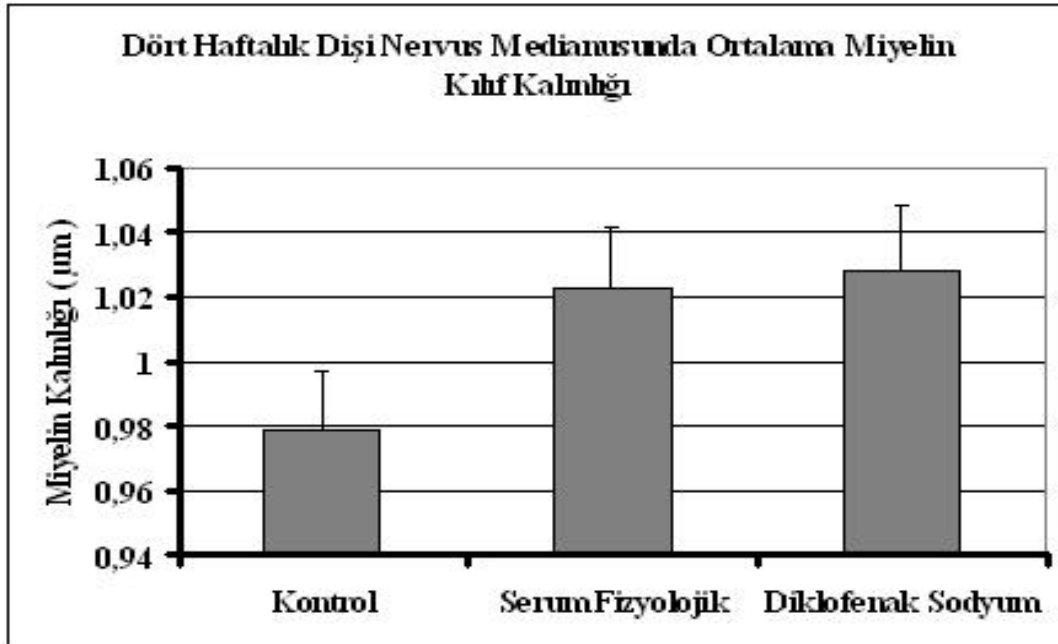
#### 4.1.C.II.c. Diklofenak Sodyum Grubundaki Dişi Deneklere Ait Sinir Örneklerindeki Miyelin Kılıf Kalınlığı

Diklofenak Sodyum grubundaki dişi deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan miyelin kılıf kalınlığı ölçümlerinin stereolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde verilmiştir. (Tablo 24, Şekil 31)



**Tablo 24: Diklofenak sodyum grubundaki dişi deneklerde miyelin kalınlığı, DK; Değişim katsayısı, SS; Standart sapma, SEM; Ortalama standart hata**

Diklofenak Sodyum Dişi	Miyelin Kalınlığı (µm)
1	1,056
2	1,033
3	1,103
4	0,968
5	1,008
<b>Ort:</b>	<b>1,028</b>
<b>CV=</b>	<b>0,044</b>
<b>SS=</b>	<b>0,046</b>
<b>SEM=</b>	<b>0,020</b>



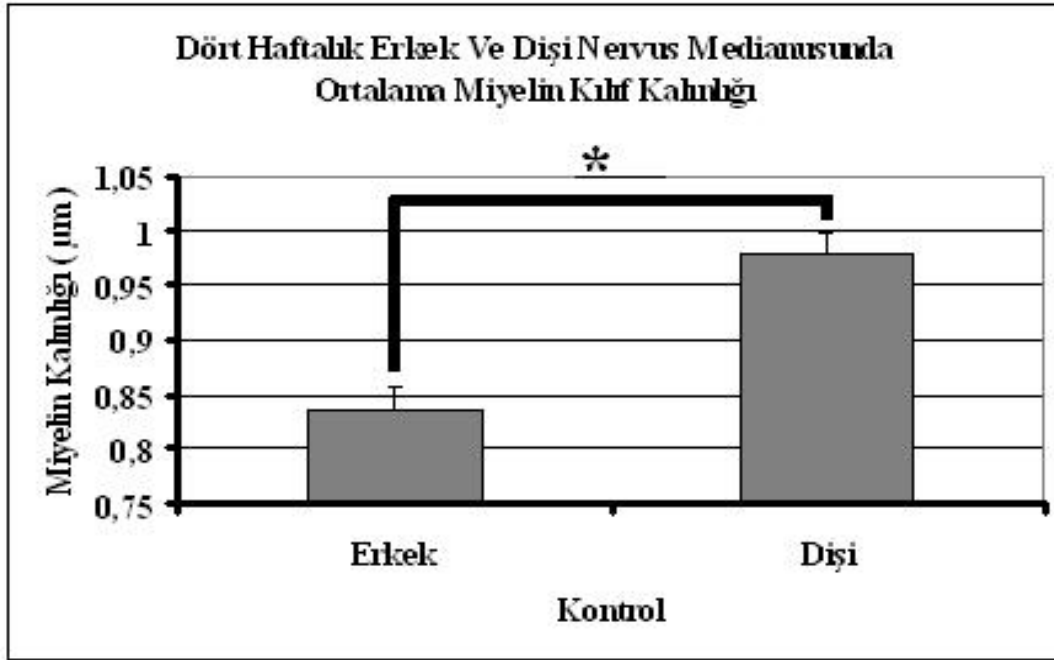
**Şekil 31: Dişi deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan miyelin kalınlığı**

#### 4.1.C.III. Miyelin Kalınlığı Bulgusunun Cinsiyete Bağlı Olarak Değerlendirilmesi

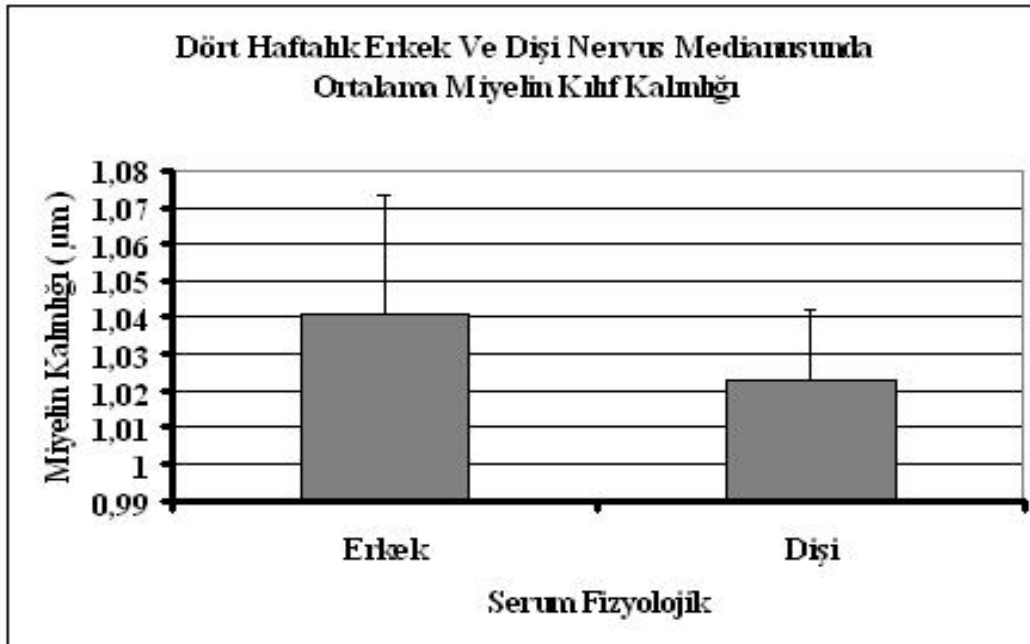
Kontrol grubundaki erkek ve dişi deneklere ait ışık mikroskopik kesitler üzerinde yapılan miyelin kalınlığı ölçümlerinin stereolojik ve cinsiyete bağlı değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve şekilde de verilmiştir (Tablo 25, Şekil 32, 33, 34).

**Tablo 25: Dişi ve erkek deneklere ait farklı gruplardan alınan sinir örneklerinden elde edilen miyelin kalınlığı göstermektedir**

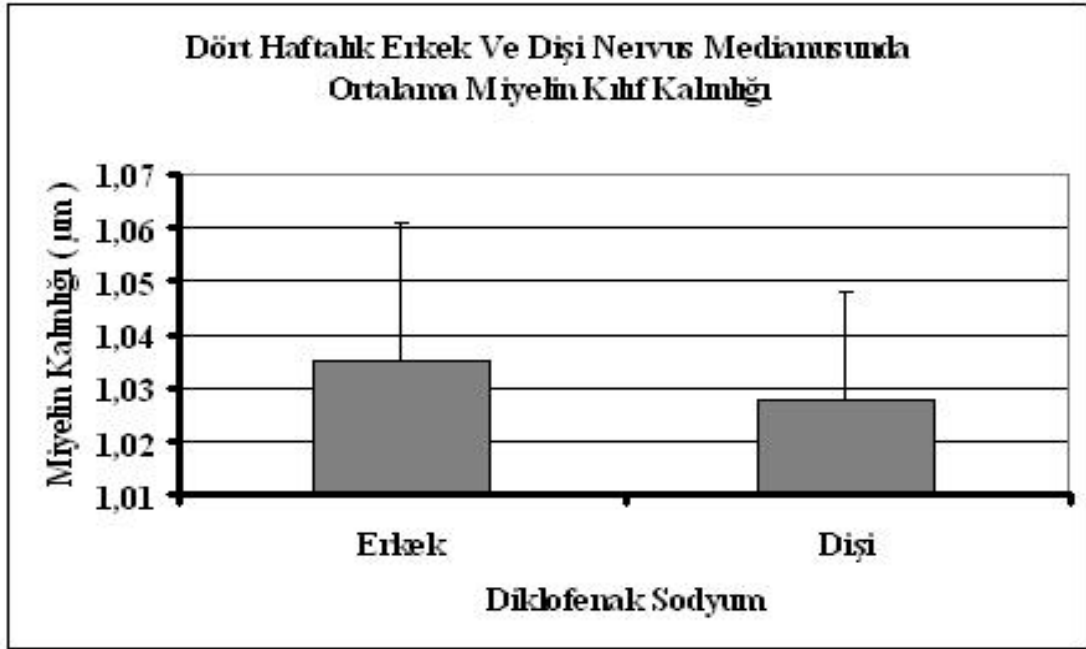
<b>Gruplar</b>	<b>Cinsiyet</b>	<b>Ortalama Miyelin Kalınlığı</b>
Kontrol	Erkek	0,837±0,019
	Dişi	0,979±0,018
Serum Fizyolojik	Erkek	1,041±0,032
	Dişi	1,023±0,019
Diklofenak Sodyum	Erkek	1,035±0,026
	Dişi	1,028±1,020



Şekil 32: Kontrol grubuna ait dişi ve erkek deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan miyelin kalınlığı



Şekil 33: Serum fizyolojik grubuna ait dişi ve erkek deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan miyelin kalınlığı



**Şekil 34: Diklofenak sodyum grubuna ait dişi ve erkek deneklerden alınan sinir örneklerinde hesaplanan miyelin kalınlığı**

#### 4.2.Stereolojik Analizlerin İstatistiksel Açıdan Yorumlanması

1. Stereolojik analiz sonucunda 4 haftalık erkek sıçanlardan oluşan pür kontrol, serum fizyolojik ve diklofenak sodyum grupları birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında ortalama toplam akson sayısı bakımından anlamlı bir farka rastlanmadı (Mann Whitney U Test;  $p > 0,05$ ).
2. Dört haftalık erkek deneklerden oluşan pür kontrol, serum fizyolojik ve diklofenak sodyum gruplarına ait örnekler üzerinde yapılan akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümleri de yapıldı. Bu ölçümler sonucunda hem akson alanı, hem de miyelin kılıf kalınlığı bakımından; kontrol grubu ile serum fizyolojik grubu arasında, hem de pür kontrol/serum fizyolojik grubu ile diklofenak sodyum grubu arasında anlamlı fark bulunduğu gözlemlendi (Mann Whitney U Test;  $p < 0,05$ ).

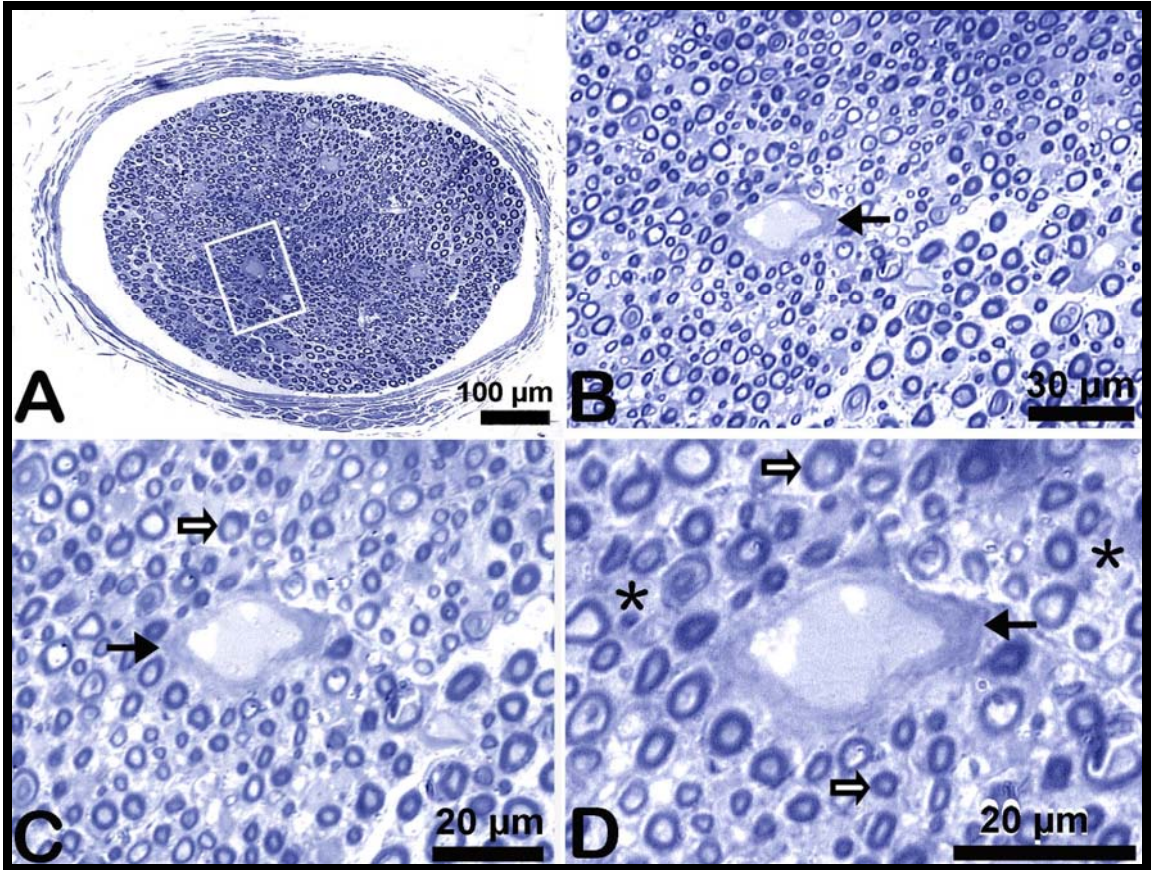
3. Akson sayısı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümleri dört haftalık dişi deneklerden oluşan pür kontrol, serum fizyolojik ve diklofenak sodyum gruplarına ait örnekler üzerinde de yapıldı. Bu ölçümler sonucunda; ne pür kontrol grubu ile serum fizyolojik grubu arasında ne de pür kontrol/serum fizyolojik grubu ile diklofenak sodyum grubu arasında anlamlı fark bulunmadığı tespit edildi (Mann Whitney U Test;  $p>0,05$ ).
4. Her üç grupta elde edilen bulgular cinsiyete bağlı olarak ta değerlendirildi. Bu değerlendirmenin sonucuna göre serum fizyolojik ve diklofenak sodyum uygulanılan gruplarda hiçbir parametre açısından cinsiyete bağlı fark gözlenmedi (Mann Whitney U Test;  $p> 0,05$ ). Bunun yanında pür kontrol grubunda erkek ve dişi deneklerden elde edilen örnekler üzerinde yapılan akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığı karşılaştırmasında sözü edilen grupların bu iki parametre açısından birbirlerinden anlamlı ölçüde farklı olduğu gözlemlendi (Mann Whitney U Test;  $p<0,05$ ).

### 4.3. Histopatolojik Bulgular

Bu çalışma kapsamında yapılan histopatolojik değerlendirmede cinsiyet farkı göz önüne alınmadı; kontrol, serum fizyolojik ve diklofenak sodyum uygulamalarından sonra elde edilen sinir örnekleri histolojik açıdan değerlendirildi.

#### 4.3.a. Dört Haftalık Kontrol Grubuna Ait Histopatolojik Bulgular

Dört haftalık kontrol grubuna ait nervus medianus örneklerinin ışık mikroskopik kesitlerine bakıldığında ilk dikkati çeken şey sinir kesitlerinin büyük çaplı olmasıydı. Fasiküller dıştan ince, fibrilli yapıdaki epinöryum ile çevriliydi ve yine her bir fasikülün içinde çok sayıda küçük çaplı sinir fasikülü gözlenmekteydi. Bu fasiküllerin arasını perinöryum adlı bağ dokusu doldurmaktaydı. Aksonlar arasında gözlenen endonöryum sağlıklı idi. Aksonların çoğu miyelinli olup miyelin kılıfların sınırları düzenli görünümdeydi. Sinir kesiti içerisinde damarlara da rastlandı.(Şekil 35)

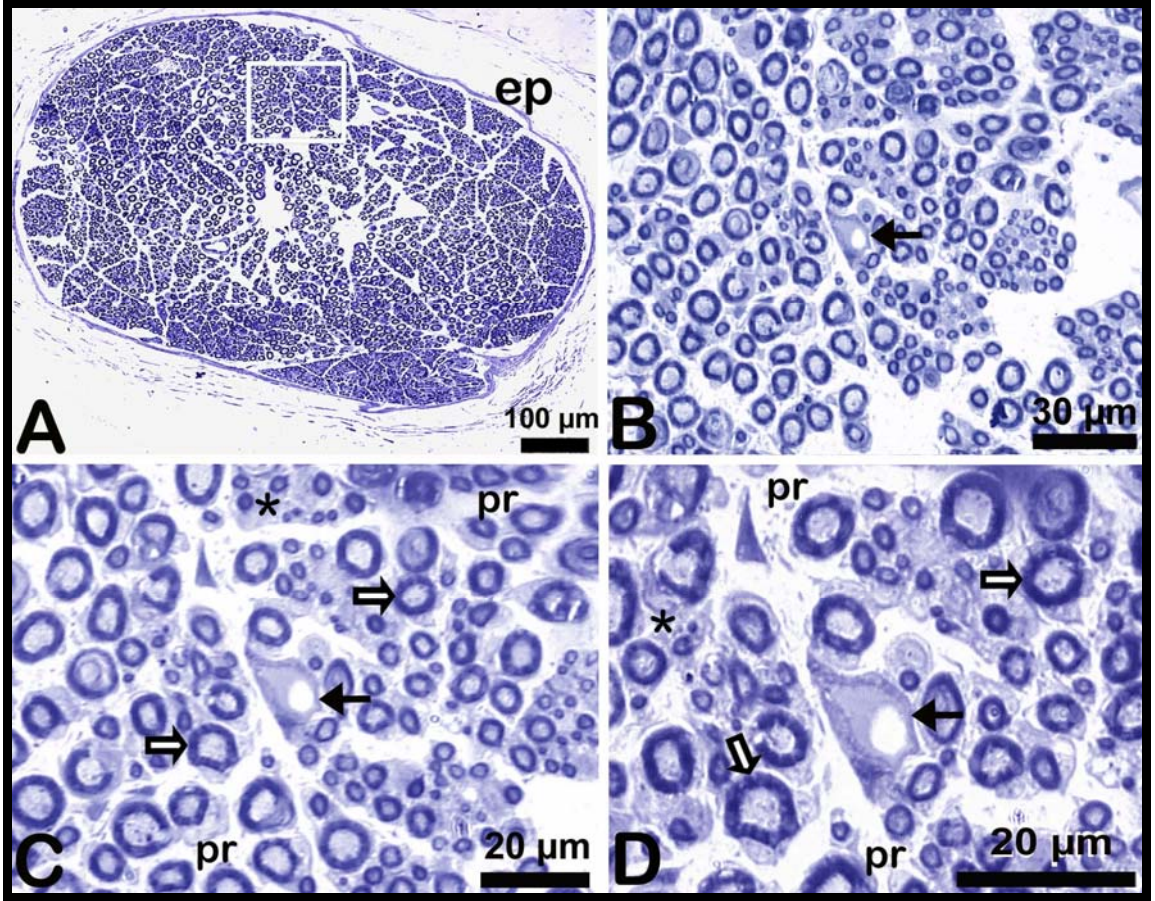


Şekil 35: Dört haftalık kontrol grubuna ait ışık mikroskopik görüntüler izlenmektedir. Siyah ok; kan damarını, Beyaz dolgulu ok; sağlıklı görünümlü aksonları, \*; endonöryumu, B,C,D ise A daki beyaz çerçeveli alanın farklı büyütmelerdeki görüntüsünü temsil etmektedir. Boya: toluidin mavisi



#### 4.2.B. Dört Haftalık Serum Fizyolojik Grubuna Ait Histopatolojik Bulgular

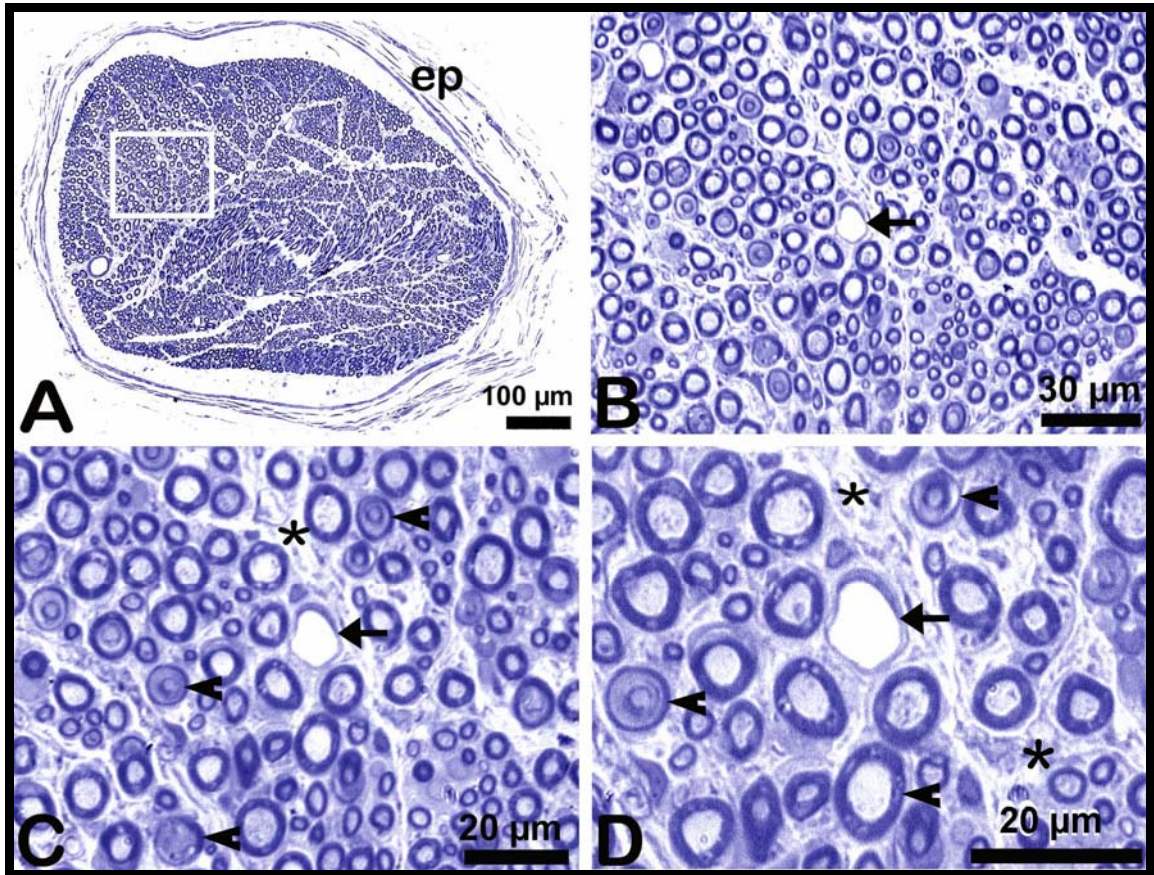
Dört haftalık serum fizyolojik grubuna ait nervus medianus örneklerinin ışık mikroskopik kesitlerine bakıldığında sinir kesitlerinin büyük çaplı ve çok sayıda fasikülden oluştuğu gözlemlendi. Tüm sinir lifleri dıştan sıkı fibröz bir bağ dokusu olan epinöryum ile çevriliydi. Epinöryum sinir fasikülleri arasında doğru dallar göndererek perinöryumu oluşturmaktaydı. Aksonlar genellikle miyelinli olup miyelin kılıflarının sınırları düzenli görünümdeydi. Aksonların arasını dolduran ve gevşek bağ dokusu tabiatında olan endonöryum damarlar içermekteydi ve sağlıklı görünümdeydi (Şekil 36).



Şekil 36: Dört haftalık serum fizyolojik grubuna ait farklı büyüklüklerdeki görüntüler izlenmektedir. Siyah ok; kan damarını, Beyaz dolgulu ok; sağlıklı görünümlü aksonları, \*; endonöryumu, ep; epinöryumu, pr; perinöryumu, B,C,D ise A daki beyaz çerçevesi alanın farklı büyütmelemlerdeki görüntüsünü temsil etmektedir. Boya; toluidin mavisi

#### 4.2.C. Dört Haftalık Diklofenak Sodyum Grubuna Ait Histopatolojik Bulgular

Dört haftalık diklofenak sodyum grubuna ait nervus medianus örneklerinin ışık mikroskopik kesitlerine bakıldığında sinir kesitlerinin kontrol gruplarına benzer şekilde büyük çapta olduğu ve çok sayıda fasikülden oluştuğu görüldü. Fasiküller dıştan ince, fibrilli yapıda olan epinöryum ile çevriliydi. Bu fasiküllerin arasını perinöryum adı verilen bağ dokusu doldurmaktaydı. Her bir sinir lifini tek tek çevreleyen endonöryum belirgindi. Aksonlar genellikle miyelinli olup miyelin kılıfların sınırları düzenli görünümdeydi. Endonöryum içerisinde damarlar bulunuyordu. Normal, sağlıklı görünümlü sinir lifleri arasında miyelin kılıfları düzenli yapısını kaybetmiş aksonlar da bulunmaktaydı. Ayrıca miyelin kılıflar içerisinde toluidin mavisi ile boyanmamış alanlar da göze çarpıyordu (Şekil 37).



Şekil 37: Dört haftalık diklofenak sodyum grubuna ait farklı büyüklüklerdeki görüntüler izlenmektedir. Siyah ok; kan damarını, siyah ok başı; patolojik görünümlü aksonları, \*; endonöryumu, ep; epinöryumu, B,C,D ise A daki beyaz çerçeveli alanın farklı büyütmeledeki görüntüsünü temsil etmektedir. Boya; toluidin mavisi



## TARTIŞMA

Yapılan bazı araştırmalarda kullanımı yaygın olan diklofenak sodyumun, birçok organ ve dokunun yapısını bozduğu ayrıca birçok sistemde üzerinde de yan etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu yan etkilerden en çok bilinenleri midede; ülser, kanama, hazımsızlık, stomatit, böbreklerde; akut renal yetmezlik, hipertansiyon, interstisyel nefrit, ciltte; eritema multiforme, büllöz erüpsiyonlar, ilaç erüpsiyonları, püstüler psöriazis, karacigerde; hepatit, Reye sendromu, merkezi sinir sisteminde; baş ağrısı, baş dönmesi, bulantı, aseptik menenjit, kanda; aplastik anemi, trombositopeni, nötropeni, hemolitik anemi, akciğerlerde; pulmoner ödem, pulmoner alveolitis, astma ve anafilaktik reaksiyonlardır (Brooks, 1988).

Non steroidal ilaçların toksik etkisi üzerine yapılan bir araştırmada ibuprofen ve tolmetin prenatal dönemde yüksek dozda uygulanmış ve her iki ilacın annede toksik etki yaptığı, intrauterin gelişimi engellediği ve gelişimsel varyasyonlara neden olduğu bulunmuştur ( Burdan, 2004).

Hamilelik esnasında uygulanan non steroidal antiinflamatuvar ilaçların düşük riskini artırmaya neden olduğunu gösteren bir araştırma yapılmıştır ( Nielsen, 2001). Bu araştırmaya benzer şekilde yapılan bir incelemede prenatal dönemde kullanılan NSAİİ'lerin ve aspirinin düşük riskini artırdığı bulunmuştur ( Li, 2003).

Tedavi amaçlı herhangi bir ilaç kullanılmadan önce onun faydalı ve zararlı etkilerinin tam olarak anlaşılması önemlidir. Kullanılan maddelerin olası tüm etkileri açısından incelenmesi gerekmektedir. Bu sebeplerden dolayı, araştırmacılar ilaç olarak kullanılan maddelerin organizmaya etkilerini çok yönden incelemekte ve gebelere etki mekanizması tam olarak bilinmeyen ilaçları önermemektedirler. Salisilat indometazin ve diklofenak sodyum gibi NSAİ ilaçlar plasental bariyerden geçerek gelişmekte olan fötüsün üzerinde etki göstermektedir. Bu ajanların etkileri arasında duktus arteriozusun (Levin ve ark. 1978; 1978) ve akciğer arteriollerinin daralması gibi etkiler sayılabilir. Uterusta duktus arteriozusun erken dönemde kapanması sonucunda sağ ventriküle daha fazla kan yüklenmekte ve burada hacimce bir genişleme olmaktadır. Bu durum trikuspidin bozulmasına neden olmaktadır (Levin ve ark., 1978).

NSAİİ'lerin etkilerini prostaglandin sentezini inhibe ederek gösterdikleri kabul edilmektedir. Hâlbuki NSAİİ'lerin çeşitli dozları dikkate alındığında bu durum söz konusu değildir (Brooks, 1991).

Vane ve arkadaşları (Vane 1970; 1990) asetil salisik asit (aspirin), parasetamol ve indomethasini çeşitli dokulara vererek invitro ortamda PG'lerin sentezinin inhibisyonunu başarıyla gerçekleştirmişlerdir.

Abdel-Halim ve arkadaşları (1978, 1979), beş farklı PG sentez inhibitörünü (indomethasin, diklofenak, naproksen, aspirin, parasetamol) sıçanlara subkutan olarak enjekte etmişler ve sonra beyin homojenatlarını incelemişlerdir. Doza bağlı olarak PG inhibisyonunu gözlemlemişlerdir.

Araşidonik asit metabolitlerinin beyin gelişmesinde önemli olduğu bilinmektedir (Kunievsky, 1990). Ayrıca embriyo dışı sıvılardaki eikozonoid seviyesinin beyindeki eikozonoid seviyesini etkileyip orada hasara neden olduğu gösterilmiştir (Goldin , 1987). Aynı araştırmacılar fetüs beyin kan dolaşımında, beyinde sentezlenen eikozonoidlerin etkili olduklarını bildirmektedirler.

Aspirin ve diğer NSAİİ( acetaminofen, ibuprofen, piroksikam vb.)'lar PG sentezini inhibe etmeden de fonksiyon göstermektedirler. NSAİİ'ler etkilerini biyolojik membranların fizikokimyasal özelliklerini, muhtemelen protein-protein etkileşimini baskılayarak göstermektedir. Düşük doz aspirin ve bazı NSAİİ'ler araşidonik aistten PG'lerin biyosentezini inhibe ederek ateş, ödem gibi olayları baskılamaktadır.

Araşidonat'ın iki büyük enzimatik yol ile metabolizi gerçekleşir. Bu enzimler siklooksijenaz ile lipoksijenaz'dır. Siklooksijenaz enziminin yer aldığı metabolik yolla prostaglandinler ve tromboksanlar meydana gelir. Bir çok türde uterus, plasenta, desidua, amnion sıvısı ve göbek bağı kanında, diğer dokulara kıyasla prostaglandin düzeyi çok yüksektir (Clark, 1991; McLaughlin, 1978; Pater, 1991; Walsh , 1989).

Prostaglandinler, bazı hayvanların damar duvarındaki düz kasları kasma etkisi gösterirken, başka türden canlıların damar düz kaslarını gevşetme etkisi gösterebilirler. Prostaglandin ve tromboksanlar birçok böbrek fonksiyonunun düzenlenmesinde önemlidirler. Bu iki araşidonik asit metabolitlerinin böbrek nefronunun farklı bölgelerinde lokal olarak sentezi yapılır (Sheld, 1993; Whelton,1991).

Glomerulusta sentez edilen prostasiklin ( $PGI_2$ ) ve  $PGE_2$ , renin ve eritropoetin salınımını uyarır. Tromboksan ( $TXA_2$ ) kuvvetli bir vazokonstrüktördür ve glomerular filtrasyon oranını azaltır. Böbrek medullasında , prostaglandin  $F_2$  ( $PGF_2$ ) ve  $PGE_2$ 'lerin sentezi interstisyel hücreler tarafından yapılır. Bu prostaglandinler medullar kan akımını

düzenlerler, sodyum ve klor geri emilimini inhibe ederler ve vazopressin ile su geri emilimini azaltırlar (Whelton, 1991; Walsh, 1989).

Vazokonstrüktör hormonlar olan anjiyotensin II, vazopressin ve norepinefrin, PGE<sub>2</sub> ve PGI<sub>2</sub> salınımını stimule ederler. Vazodilatör prostaglandinler ise vazokonstrüktörlerin pre ve postglomerular arteriollere olan etkilerini azaltıcı bir negatif feedback etki gösterirler. PGE<sub>2</sub> ve PGI<sub>2</sub>'lerin intraglomerular olarak da etki yaparlar ve glomerular filtrasyon dengesini yaparlar. Vazokonstrüktör/vazodilatör dengenin sağlanmasında hem tromboksanın , hem de prostaglandin E (PGE) / prostasiklin (PGI) tarafından sağlanmasının olası nedeni; Henle kulpuna belirli oranda sıvı sağlamak olduğu ve bu yolla belirli bir absorpsiyon/atılım dengesinin, diğer bir ifade ile normal renal fonksiyonun sağlanmasının olduğu yapılan hayvan deneylerinden anlaşılmaktadır (Shield, 1993). Bu durumun aksine NSAİ ilaçların böbrek kan akımını etkilemediğini gösteren çalışmalarda bulunmaktadır (Arnold, 1991).

Gebelik süresince kronik biçimde kullanılan prostaglandin sentez inhibitörü olan aspirinin annede, fötüste ve yenidoğanda çeşitli yan etkilerini olduğu bilinmektedir (Kayaalp, 1992) Annedeki riski, gebeliğin uzaması , postpartum hemoraji , doğum olayının uzaması, yenidoğanda ise kısmi pulmoner hipertansiyon ve kanamadır (Perkin, 1980; Stuart, 1982). Düşük dozlarda aspirin'in (60-150mg/gün) gebelikte tedavi edici değeri olduğu kabul edilmektedir (Lubbe, 1985). Ayrıca gebeliğin 3. trimesterinden itibaren günlük 60-80mg'lık aspirin uygulanmasının hamilelerde gebelik süresini azaltmadığı , bunun yanında anneye ve yenidoğana ait hemorajik komplikasyonlara da neden olmadığı bildirilmektedir (Sibai, 1989). Bir antiprostaglandin olan indometasin, beyin prostaglandin düzeyini %80 oranında düşürmesine rağmen, striatumda monoaminlerin dönüşümünü etkilemediği gözlenmiştir (Amaral, 1990).

Bazı araştırmacılar gebelik sırasında aspirin kullanan ve kullanmayan bayanların ölü doğum oranlarının birbirine benzer olduğunu (Shapiro, 1976), bazıları ise kullananlarda ölüm doğum oranının daha fazla olduğunu belirtmişlerdir (Turner, 1975). Bu tür ilaç grubunun akciğer kanserlerinde kanserojen etkiyi inhibe ettiği de belirtilmektedir (Bouchard , 1993; Fontan , 1992).

Embriyonal transplantasyon çalışmaları, skleratom hücrelerinin özel indükleyici maddelere cevap olarak vertebra cisimlerini ve arkusunu şekillendirmek için farklılaştığını ortaya çıkarmaktadır (Keynes, 1988; Theiler, 1998). Ayrıca yapılan

çalışmalar NSAİ ilaçların yetişkin eklem kıkırdağında proteoglikanların sentezini inhibe ederek kıkırdak yapısını bozduklarını da göstermiştir (Shield, 1993).

Son yıllarda NSAİ ilaçların romatizmal hastalıkların tedavisinde de kullanımı artmaktadır. 1991 yılında yapılan bir araştırmada ABD’de bu grubun ilacı olan aspirinin yılda 6000 ton tüketildiği bildirilmiştir (Weissmann, 1991). NSAİ ilaçlar grubundan olan diklofenak sodyum ise ülkemizde değişik firmalar tarafından farklı isimler arasında son 30 yıl içinde piyasaya sunulmuştur. Voltaren, Miyadren, Dikloron, Diclomec bunlara birkaç örnektir (Ommaty, 1988).

Prostaglandinler, gebelikte birçok fizyolojik ve patolojik görevleri yerine getirmektedir. En önemli görevleri gebelikte vazodilatasyondan sorumlu olmalarıdır. Bayanlarda distolik kan basıncını yükseltmek için anjiotensin II ‘nin ihtiyaç duyulan dozunun, indomethasin tedavisi görenlerde önemli derecede azaldığı gösterilmiştir. Bu olaya prostaglandin sentezinin inhibe edilmesinin neden olduğu düşünülmektedir (Walsh, 1989).

Prostaglandin sentez inhibitörü olan diklofenak sodyumun, intrauterin safhada kullanıldığında , fötüs sinir sisteminin gelişmesini etkileyerek postnatal hayatın ileri dönemlerinde hipokampusta nöron sayısında azalmaya neden olduğunu gösteren araştırmalar da vardır (Rağbetli, 1997).

Diklofenak sodyum’un prenatal dönemde uygulanması sonucunda hipokampusdaki cornu ammonis ve gyrus dentatusdaki nöron sayısı üzerine etkisini inceleyen araştırmaya da rastlanmıştır ( Gökçimen, 2006). Bu araştırma dört haftalık ve yirmi haftalık hayvanlar üzerinde yapılmış ve yaşa bağlı olarak cornu ammonis ve gyrus dentatus da ilaç uygulanan deneklerde uygulanmayanlara göre nöron sayısında bir fark olmadığı bulunmuştur.

Yapılan diğer bir araştırmada diklofenak sodyumun beyincikteki purkinje hücreleri sayısına etkisi incelenmiş ve ilaç uygulanan grupta hücre sayısında azalma olduğu görülmüştür (Rağbetli, 2007). Aynı araştırmacılar bir başka çalışmalarında prenatal dönemde uygulanan diklofenak sodyumun postnatal dönemde yirmi ve dört haftalık dişilerde purkinje hücre sayısındaki değişikliği incelemişler ve yirmi haftalık dişilerde hücre sayısında artma olduğunu fakat dört haftalıklarda fark olmadığını bulmuşlardır (Odacı, 2009)

Aynı ilaç üzerinde yapılan bir başka araştırmada Canan ve arkadaşları (2008) prenatal dönemde uygulanan diklofenak sodyumun siyatik sinir üzerine etkisini araştırmışlar ve bu ilacın teratojenik etkisinin olabileceğini bildirmişlerdir.

Araştırmamızda incelediğimiz yayınlar arasında Diklofenak sodyumun hamilelikte alınması sonucunda yenidoğanda pulmoner hipertansiyon ve hipertropik kardiyomiyopatiye neden olduğunu gösteren araştırma bulunmuştur (Siu, 2004).

Diklofenak sodyumun sodyum kanallarına affinitesi yüzünden bu kanallara bağlanıp dorsal kök gangliyonlarındaki nöronlarda sodyum akışını engellediğini gösteren bir araştırma mevcuttur(Lee, 2003).

Nöral kök hücrelerinde diklofenak sodyumun çoğalmayı ve farklılaşmayı önlediği gösteren araştırmalarda bulunmaktadır (Kudo, 2003).

Yapılan bir araştırmada nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların osteoblastik hücre döngüsünü  $G_0/G_1$  durdurduğunu ve hücre ölümüne neden olduğu bulunmuştur (Chang, 2005).

Kaynaklarda 3mg/kg dozda diklofenak sodyum uygulanan sıçan embriyolarında blastosist implantasyonunun büyük oranda engellendiği (Charp, 1988.), 4 mg/kg diklofenak sodyum uygulanan sıçan embriyolarında ise fetus kaburgalarında defektler olduğu açıklanmıştır (Brooks, 1985). Bununla birlikte 10 mg/kg diklofenak sodyum uygulanan tavşanlarda herhangi bir teratojen etki görülmediği de belirtilmiştir (Russel, 1986). Bu yapılan çalışmalarda gebeliğin farklı zamanlarda uygulanan diklofenak sodyumun fetusta farklı etkiler yapabileceği belirtilmiştir.

Görüldüğu gibi literatürde yukarıda sözü edilen ilaç grubunun bir üyesi olan diklofenak sodyum'un yan etkileri hakkında yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Bununla birlikte gerek bu ajanın periferik sinir sistemi üzerine olan yan etkileri gerekse prenatal dönemde neden olabileceği olası defektler yeterince araştırılmamıştır. Yine literatürde Diklofenak sodyumun median sinir üzerine etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Bu nedenle; bu çalışmada prenatal dönemde uygulanan diklofenak sodyumun, postnatal dönemdeki dört haftalık dişi ve erkek sıçanların median sinirleri üzerinde oluşturduğu olası etkilerin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla, serum fizyolojik uygulanan ve hiçbir işlem uygulanmayan deneklerden oluşan çalışma grupları kontrol olarak kullanıldı. Deney grubunu oluşturan deneklere ise 15 gün boyunca diklofenak sodyum uygulandı. İki dişi sıçan bir erkek sıçanla çiftleşmeye bırakıldı.

Çiftleştirmek için en kısa süre 2 saat olarak tavsiye edilmektedir (Paxinos, 1991). Paxinos'un önerdiği doğrultuda kopulasyonun ilk günü embriyonun sıfıncı günü, doğum gününde postnatal sıfıncı gün olarak kabul edildi. Diklofenak sodyum uygulaması normal insan dozunda (1mg/kg) yapıldı. Deney ve kontrol grupları aynı histolojik işlemlere tabi tutuldu. Veriler birim alanda bulunan ortalama akson sayısı, aksonlardaki ortalama akson alanı ve ortalama miyelin kılıfı kalınlığı olarak hesaplandı. Boyama için toluidin mavisi kullanıldı. Objektif bir değerlendirilme olması için preparattaki tanımlayıcı bilgiler kapatılarak sayım yapıldı.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre uygulanan dozun (1mg/kg) sıçan yavrularında herhangi bir konjenital anomaliye neden olmadığı gözlemlendi. Bu durum konu ile ilgili olarak elde edilen literatürler ışığında değerlendirildiğinde verilen dozun fetüsta konjenital anomaliye sebep olabilecek kadar yüksek olmadığını göstermektedir.

Bununla birlikte bu çalışmadan elde edilen nervus medianus örnekleri üzerinde yapılan stereolojik değerlendirmede; ortalama akson sayısı, akson alanı, miyelin kılıf kalınlığı analizleri yapıldı.

Erkek yavru sıçanlarında akson sayısı değerleri kontrol, serum fizyolojik ve diklofenak sodyum grubundaki istatistiksel açıdan birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında herhangi bir anlamlı farkın olmadığı, fakat akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümlerinde yapılan istatistiksel değerlendirmede ise farkın anlamlı olduğu bulundu.

Dişi deneklerden elde edilen nervus medianus örnekleri üzerinde de aynı analizler yapıldı. Buna göre; ortalama akson sayısı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı verileri istatistiksel açıdan birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında herhangi bir anlamlı farkın olmadığını gösterdi.

Her üç grupta da elde edilen bulgular aynı uygulamaya tabi tutulan erkek ve dişi grupları arasında cinsiyete bağlı olarak değerlendirildi. Bu değerlendirmenin sonucuna göre serum fizyolojik ve diklofenak sodyum uygulanan gruplarda hiçbir parametre açısından cinsiyete bağlı fark gözlenmedi. Bunun yanında kontrol grubunda erkek ve dişi deneklerden elde edilen örnekler üzerinde yapılan akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığı değerlendirmesinden elde edilen sonuçlara göre; sözü edilen grupların bu iki parametre açısından birbirlerinden anlamlı ölçüde farklı olduğu gözlemlendi.

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler sonucunda erkeklerde gruplar arasında yapılan analizlerdeki farklılığın dişilerdeki gruplar arasında olmayışı, dişilerde rejenerasyonun erkeklere oranla daha kuvvetli olduğunu gösterebilir. Akson alanındaki farklılığının ise muhtemelen akson rejenerasyonu ile ilişkili olabileceği fikrini ortaya çıkardı..

Histopatolojik olarak incelediğimizde verilen dozun etkisinin yeterli olduğu anlaşıldı. Aksonların miyelin kılıflarında belirgin derecede dejenerasyonun olduğu göze çarptı. Akson sayısında fark olmaması bu durumun bize uygulanan dozun sayısal fark oluşturma açısından yeterli olmadığını düşündürdü. Ya da yapılacak analizlerin fetüs döneminde yapılmasının daha sağlıklı sonuçlar vereceği fikrini uyandırdı.

Kaynaklarda çok nadir olarak görülen konjenital anomalilerin son 20 yıl içinde ülkemizde de görüldüğünün bildirilmiş olması (Aslan, 1997) NSAİ ilaçların yaygın bir şekilde ülkemizde kullanılmış olduğu zamanla denk gelmektedir. Bu yüzden diklofenak sodyum gibi NSAİ ilaçların gebelikte hekimler tarafından dikkatli bir şekilde kullanımının önerilmesi gerekmektedir.

Bu araştırma sonucunda elde edilen verilere dayanarak; çalışmamızda kullandığımız dozun (1 mg/kg) sıçan yavrularında median sinir morfometrisi açısından anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı; ancak histopatolojik değişimlere neden olduğu dikkatimi çekmektedir. Bu sonuçlardan yola çıkarak hamilelikte düşük dozda diklofenak sodyum kullanımının güvenli olabileceği düşünüldü.

## SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1-Çalışmamızda güvenilir ve kullanımı son yıllarda gittikçe artan stereolojik yöntemler kullanılmıştır. Araştırmamızda dişi ve erkek deneklere ait doku örnekleri akson sayısı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı bakımından değerlendirildi.

2-Erkek sıçanlara ait nervus medianus örnekleri üzerinde yapılan stereolojik değerlendirmede; ortalama akson sayısı kontrol, serum fizyolojik ve diklofenak sodyum grubunda sırasıyla 2575, 1830 ve 1719 olarak belirlendi. Her üç çalışma grubundan elde edilen veriler istatistiksel açıdan birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında herhangi bir anlamlı farka rastlanmadı (Mann-Whitney U Test;  $p>0,05$ ).

3-Erkek deneklerde akson alanı ölçümleri; kontrol grubunda  $6.26 \mu\text{m}^2$ , serum fizyolojik uygulanan grupta  $10.68 \mu\text{m}^2$ , diklofenak sodyum enjekte edilen grupta ise  $8.81 \mu\text{m}^2$  olarak tespit edildi. Bu sonuç ile ilgili olarak yapılan istatistiksel değerlendirmede; kontrol grubu ile serum fizyolojik grubu arasında farkın anlamlı olduğu (Mann-Whitney U Test;  $p<0,05$ ), diklofenak sodyum grubunun ise her iki gruptan farklı olmadığı gözlemlendi.

4- Erkek sıçanlardaki miyelin kılıf kalınlığı değerlendirmesinde elde edilen sonuçlara göre; ortalama miyelin kılıf kalınlığı kontrol grubunda  $0.837 \mu\text{m}$ , serum fizyolojik uygulanan grupta  $1.041 \mu\text{m}$ , diklofenak sodyum enjekte edilen grupta  $1.035 \mu\text{m}$  olup, bu sonuçlar kullanılarak yapılan istatistiksel değerlendirmede; kontrol grubunun diğer gruplardan farklı olduğu görüldü (Mann Whitney U Test;  $p<0,05$ ). Fakat diklofenak sodyum ve serum fizyolojik grupları arasında anlamlı fark olmadığı gözlemlendi.

5- Dişi deneklerden elde edilen nervus medianus örnekleri üzerinde yapılan ortalama akson sayısı kontrol grubunda 1455, serum fizyolojik uygulanan grupta 1546, diklofenak sodyum enjekte edilen grupta 1236 olarak belirlendi. Her üç çalışma grubundan elde edilen veriler istatistiksel açıdan birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında herhangi bir anlamlı fark olmadığı gözlemlendi (Mann-Whitney U Test;  $p>0,05$ ).

6- Dişi sıçanlarda akson alanı bakımından yapılan incelemede kontrol grubundaki ortalama akson alanı 7.93, serum fizyolojik uygulanan grupta 7.65, diklofenak sodyum enjekte edilen grupta 6.97 idi. Bu veriler istatistiksel açıdan birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi (Mann-Whitney U Test;  $p>0,05$ ).



7- Dişi sıçanlardaki miyelin kılıf kalınlığı değerlendirilmesinde; miyelin kılıf kalınlığı kontrol grubunda ortalama 0.979, serum fizyolojik grubunda 1.023, diklofenak sodyum enjekte edilen grupta ise 1.028 olarak hesaplandı. Tüm gruplara ait miyelin kılıf kalınlığı istatistiksel açıdan birbirleriyle kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi (Mann-Whitney U Test;  $p>0,05$ ).

8- Her üç grupta da elde edilen bulgular aynı uygulamaya tabi tutulan erkek ve dişi grupları arasında cinsiyete bağlı olarak ta değerlendirildi. Bu değerlendirmenin sonucuna göre serum fizyolojik ve diklofenak sodyum uygulanan gruplarda hiçbir parametre açısından cinsiyete bağlı fark gözlemlenmedi. Bunun yanında kontrol grubunda erkek ve dişi deneklerden elde edilen örnekler üzerinde yapılan akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığı değerlendirmesinden elde edilen sonuçlara göre; sözü edilen grupların bu iki parametre açısından birbirlerinden anlamlı ölçüde farklı olduğu gözlemlendi (Mann Whitney U Test;  $p<0,05$ ).

9- Çalışmamız sonucunda deney grubundaki deneklerden elde edilen doku örnekleri histopatolojik olarak incelediğinde uyguladığımız ilaç dozunun yeterli olduğu anlaşıldı. Diklofenak sodyum grubunda diğer gruplara oranla belirgin derecede histopatolojik dejenerasyonun olduğu göze çarptı.

10- Böylece sonuçlarımız göz önüne alındığında gebelikte diklofenak sodyum kullanımının gerekli olduğu durumlarda ilaç dozunun 1 mg/kg'dan düşük tutulduğu müddetçe güvenli olduğu kanısına varıldı.

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

## KAYNAKLAR

- Abdel-Halim, M.S. and Anggard, E., Regional and species differences in endogenous prostaglandin biosynthesis by brain homogenates, *Prostaglandins*, **17 (3)**: 411-418, 1979.
- Abramson, S.B., and Weissmann, G., The mechanisms of action of nonsteroidal antiinflammatory drugs, *Arthritis and rheumatism*, **32** : 1-9, 1989.
- Altunkaynak, M. E., Ünal, B., Periferik Sinir Sistemi Destek Hücrelerine ve Miyelinizasyona Genel Bakış, *The Eurasian Journal of Medicine*, 49-54, 2007.
- Anderasson, K.I., Savonenko, A., Vidensky. S., Goellner. J.J., Zhang.Y., Shaffer, A., Kaufmann. W.E., Worley. P.F., İsakson. P., Markowska, A.L., Age-Dependent cognitive deficits and neuronal apoptosis in cyclooxygenase-2 transgenicmic, *.J.Neurosci.* **21**, 8198- 8209, 2001.
- Aslan, Y., Erduran, E., Mocan, H., Yıldırım, A., Ökten, A., Gedik, Y., Multiple vertebral segmentation defects brief report of three patients and nosological considerations, *Gen Coun*; **8**: 241- 8, 1997.
- Aslan, H., Songur, A., Tunc, A.T., Ozen, O.A., Bas, O., Yagmurca, M., Turgut, M., Sarsılmaz. M., Kaplan, S., Effects of formaldehyde exposure on granule cell number and volume of dentate gyrus: a histopathological and stereological study. *Brain Res.* **1122**, 191-200, 2006.
- Beaufils, M., Donsimoni, R., Uzan, S., Colan, J.C., Prevention of preeclampsia by early antiplatelet therapy, *Lanceti*, **1(8433)**: 840-842, 1985.
- Blower, P.R., Non-steroidal anti-inflammatory drugs, *British Journal of Rheumatology*, **32**:35-38, 1993.
- Bouchard, L., Castonguay, A., Inhibitory effects of nonsteroidal anti- inflammatory drugs (NSAIDS) on the metabolism of 4-(methylnitrosamino)-1-3-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in Mouse lung explants, *Drug. Metab. Dispos. Biol. Fate Cherm*, **21**: 293-8, 1993.
- Boura, A.L.A., and Walters, W.A.W, Autacoids and the control of vascular tone in the human umbilical-placental circulation, *Placenta*, **12**: 453-477, 1991.
- Brooks, P.M., Needs, C., Antirheumatic medication in pregnancy, *Br. J. Rheumatology*, **24**: 382, 1985.
- Brooks, P.M., and Day , R.I., Nonsteroidal antiinflammatory drugs : Differences and similarities, *N. Eng. J. Med.*, **324**: 1716-1725, 1991.
- Brooks PM. Side effects of mon-steroidal anti-inflammatory durgs, *Med. J. Aust.*; **148**: 248-251, 1998.

- Burdan, F., Developmental toxicity evaluation of ibuprofen and tolmetin administered in triple daily doses to Wistar CRL(WI)WUBR rats, *Birt Defect Research*, **71**: 321-330, 2004.
- Byron, M.A., Prescribing in pregnancy, treatment of rheumatic diseases, *British Medical Journal*, **294**: 236-238, 1987.
- Carp, H.J.A., Fein, A., and Nebel, L., Effect of diclofenac on implantation and embryonic development in the rat, *Europ. J. Obstet, Gynecol. Reprod. Biol.*, **28** : 273-277, 1988.
- Canan, S., Aktaş, A., Ulkay ,M.B., Colakoglu, S.,Ragbetli ,M. Ç., 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*, **26**: 733-738, 2008.
- Canan, S., Boxkurt, H.H., Acar, M., Vlamings, R., Aktas, A., Sahin, B., Temel, Y., Kaplan, S., An efficient stereological sampling approach for quantitative assessment of nerve regeneration, *Neuropathology and Applied Neurobiology*, **34**: 638-649, 2008
- Cantabrana, B., Fernandez , A., Baamonde, A., Andres-Trelless, F., and Hidalgo, A., Effects of some inhibitors of arachidonic acid metabolism in rat uterus in vitro , *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, **13(3)**: 187-192,1991.
- Carp, H.J.A., Fein, A., and Nebel, L., Effect of diclofenac on implantation and embryonic development in the rat, *Europ. J. Obstet, Gynecol. Reprod. Biol.*, **28**:273-277,1988.
- Chang, J.K., Wang, G.J., Tsai, S.T., Ho, M.L., Non-steroidal anti-inflammatory drug effects on osteoblastic cell cycle, cytotoxicity, and cell death, *Connect Tissue Res.*, **46**: 200-210, 2005.
- Chentanez, V., Cha-oumphol, P., Kaewsema, A., Agthong. S., Huanmanop, T., Accuracy of the three-window sampling method in morphometric analysis of human sural nerve, *Journal of Neuroscience Methods*, **157**:154-157, 2006.
- Collins, E., and Turner, G., Maternal effects of regular salicylate ingestion in pregnancy, *Lancet*, **2**: 335-337, 1975.
- Collins, E., and Turner, G., Aspirin during pregnancy (latter), *Lancet*, **2**: 797-798, 1976.
- Collins, E., Maternal and fetal effects of acetaminophen and salicylates in pregnancy, *Obstet. Gynecol*, **58**,Supple., 57s-62s,1981.
- Dawood, M.Y. Nonsteroidal antilnflammatory drugs and reproduction, *Am. J. Obstet. Gynecol*, **169**: 1255-1265, 1993.
- Ertaş, M., *Periferik Sinir Sistemi Anatomisi ve Fizyoloji, Zararlanmaları*, 2000.
- Flaming, D.E., Anderson, R.H., Rhees, R.W., Kinghom, E., Bakatis, J., Effects of prenatal stress on sexually dimorphic asymmetreis in the cerebral cortex of the female rat, *Brain Res. Bull*, **16** : 395-398, 1986.

- Fontan, P.A., Amura, C.R., Sordelli, D.O., Treatment with nonsteroidal anti-inflammatory agent delays the growth of spontaneous pulmonary metastases of a mammary adenocarcinoma of non-detected immunogenicity, *Br. J. Cancer*; **66**:800-804. 1992.
- Galanova, I.V., Skosyeva, A.M., Sharava, S.A., Gus'kova, T.A., Tolerance for nonsteroidal antiinflammatory agents by experimental animals during pregnancy, *Farmakol Toksikol*, **48**:66-69,1985.
- Gartner, P. L., Hiatt, J. L., *Color Text Of Histology, Second Edition*, 2001.
- Geuna, S., Tos, P., Battison, B., Guglielmone, R., Verification of the twodimensional disector , a method for the unbiased estimation of density and number of myelinated nerve fibers in peripheral nerves, *Ann. Anat.*, **182**: 23-34, 2000.
- Ghodgaonkar, R.B., Dubin, N.H., Blake, D.A., King, T.M., 13, 14-Dihydro-15-keto Prostaglandin F2a concentrations in human plasma and amniotic fluid, *Am. J. Obstet. Gynecol.* **134**: 265-269, 1979.
- Gokçimen, A., Rağbetli, M.Ç., Baş, O., Tunc, A.T., Aslan, H., Yazıcı, A.C., Kaplan, S., Effect of prenatal exposure to an anti-inflammatory drug on neuron number in cornu ammonis and dentate gyrus of the rat hippocampus: A stereological study, *Brain Research*, **1127**: 185-192, 2006.
- Goldyne, M.E., Prostaglandins and other Eicosanoids. In: Katzung, B.G., (Eds), *Basic and Clinical Pharmacology*, a large medical book, **3th Edition** California, 211, 1987.
- Hecker, M., Foegh, L.M., Ramwell, P.W., Eicosanoids, In: Katzung, B.G., *Basic and Clinical Pharmacology*, **Fourth edition**, A Lange Medical Book, Chapter 18: 228-441, 1989.
- Hertting, G., and Seregi, A., Formation and function of eicosanoids in the central nervous system, *Annals. N. Y. Acad. Sci.*, 559:84-99,1989.
- Hickok, D.e., Hollenbach, K.A., Reilley, S.F., and Nyberg, D.a., The association between decreased amniotic fluid volume and treatment with nonsteroidal antiinflammatory agents for preterm labor, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **160**: 1525-1531, 1989.
- Hount, J.C., Goldenberg, R.L., Perker, R., Philips, J.B., Copper, R.L., DuBard, M.B., Cutter, G.K., Low-dose aspirin therapy to prevent preeclampsia, *Am. J. Obstet. Gynecol*, **168**: 1083-1093, 1993.
- Horan, A.H., The suppression of inflammatory edema at the nidation site by sodium salicylate and nitrogen mustard in the rat, *Fertil Steril*, **22**: 392-397, 1971.
- Junqueira, L. C., Carneiro, J., Kelley, R. O., *Basic Histology*, **Eighth Edition**, 1995.
- Junqueira, L. C., Carneiro, J., *Temel Histoloji Text and Atlas*, 2009

- Kaplan, S., Çiftçi, N., Korkmaz, A., Rağbetli, M. Ç., Bilgiç, S., Balat, Ö., Erdiñç, N., Fötal Yaşamda Uygulanan Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlacın Postnatal Dönemde Akciğer Kapiller Sayısına Etkilerinin Araştırılması, *O.M.Ü. Tıp Dergisi*, **11**: 97-100, 1994.
- Kaplan, S., Çiftçi, N., Korkmaz, A., Rağbetli, M. Ç., Bilgiç, S., Erdiñç, N., Gebe Sıçanlara Uygulanan Antiinflamatuvar İlaçların Böbrek Glomerulus Sayısına Etkilerinin Araştırılması, *O.M.Ü. Tıp Dergisi*, **11**: 115-118, 1994.
- Kaplan, S., Rağbetli, M. Ç., Bilgiç, S., Balat, Ö., Çiftçi, N., Kökçü, A., The effects of diclofenac sodium on umbilical cord length, umbilical cord vessel diameters, placental weight and fetal weight, *Journal of Medical Science*, **20**:155-157, 1994.
- Kaplan, S., Canan, S., Aslan, H., Unal, B., Şahin, B., A simple technique to measure the movements of the microscope stage along the x and y axes for stereological methods, *J. Microsc.*, **203**:321-325, 2001.
- Kaplan, S., Gokyar, A., Unal, B., Tunc, A.T., Bahadır, A., Aslan, H., A simple technique for localizing consecutive fields for disector pairs in light microscopy application to neuron counting in rabbit spinal cord following spinal cord injury, *J. Neurosci. Methods*, **145**:277-284, 2005.
- Katcher, B.S., Rheumatoid Arthritis. In: Koda-Kimble, M.A., Katcher, B.S., and Young, C.Y., (Eds), *Applied Therapeutics For Clinical Pharmacists*, **2nd edition**, San Francisco, Applied Therapeutics. Inc., 336-337, 1980 .
- Kayaalp, S.O., *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, **6. Baskı**, 2. Cild, Feryal Matbaacılık Ankara, 1992.
- Kayaalp, S. O., *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, **Onuncu Baskı**, 2002.
- Kudo, C., Kori, M., Matsuzaki, K., Yamai, K., Nakajima, A., Shibuya, A., Niwa, H., Kamisaki, Y., Wada, K., Diclofenac inhibits proliferation and differentiation of neural stem cells, *Biochemical Pharmacology*, **66**:289-295, 2003.
- Ku, E.C., Lee, W., Kothari, H.V., and Scholer, D.W., Effect of diclofenac sodium on the arachidonic acid cascade, *Am. J. Med.*, 80 (suppl 4B), 18-23, 1986.
- Kunievsky, B., and Yavin, E., Regulation of eicosanoid synthesis by whole fetal rat brain ex vivo, *Molecular and Chemical Neuropathology*, **13**: 155-163, 1990.
- Larsson, K.S. and Eriksson, M., Salicylate- induced fetal death and malformations in two Mouse strains, *Acta Paediatr. Scand.*, **55**: 569-572, 1966.
- Lee, H.M., Kim, H.I., Shin, Y.K., Lee, C.S., Park, M., Song, J.H., Diclofenac inhibition of sodium currents in rat dorsal root ganglion neurons, *Brain Res.*, **992**:120-127, 2003.
- Lemaire, V., Koehl, M., Le Moal, M., Abrous, D.N., Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **97**:11032-11037, 2000.

- Levin DL., Fixler DE., Morriss FC., etal. Morphologic analysis of the pulmonary vascular bed in infants exposed in utero to prostaglandin synthetase inhibitors, *The Journal of Pediatrics*, **92**: 478-483, 1978.
- Levin, D.L., Mills, L.J., Wienberg, A.G., Hemodynamic, pulmonary vascular, and myocardial abnormalities secondary to pharmacologic constriction of fetal ductus arteriosus, *Circulation*, **60**: 360-364. 1979.
- Lewis, R.Gb. and Schulman, J.D., Influence of acetylsalicylic of human gestation and labour, Labour, *Lancet*, **2**:1159-1161, 1973.
- Li, D. K., Odouli, R., Exposure to non-steroidal anti-inflammatory drugs during pregnancy and risk of miscarriage: population based cohort study, *BMJ*, 327, 2003.
- Lubbe, W.F., Liggins, G.C., Lopus anticoagulant and pregnancy, *Am. J. Obstet Gynecol*, **153**:322-327, 1985.
- Magavi, S.S., Macklis, J.D., Induction of neuronal type-specific neurogenesis in the cerebral cortex of adult mice: manipulation of neural precursors in situ, *Development Brain Research*, **134**: 57-76, 2002.
- Manchester, O., Margolis, H.S. and Sheldon, R.E., Possible association between maternal indomethacin therapy and primary pulmonary hypertension of the newborn, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **126**: 467-469, 1976.
- Mc Laughlin, M.K., Brennan, S.C. and Chez, R.A., Vazoconstrictive effects of protaglandins in sheep placental circulations, *Am, J. Obstet. Gynecol*, **130**: 408-413, 1978.
- Moise, Jr, K.J., Huhta, J.C., Sharif, D.S., Ou, C.N., Kirshon, B., Wasserstrum, N., Cano, L., Indomethacin in the treatment of premature labor effects on the fetal ductus arteriosus, *N. Engl. J. Med.*, **319**: 327-331, 1988.
- Moore, K.L, Developing Human , **3rd. Edition**, *Philadelphia*, W.B. Saunders, 1893.
- Moore, Sa., Voder, E., Murphy, S., Duuton, G.R. and Spector, A.A., Astrocytes not newronss, produce de cosahexaenoic acid and arachidonic acid, *J. Neurochemistry*, **56**:518-552, 1991.
- Nielsen, G. L., Sorensen, H. T., Laursen, H., Pedersen, L., Risk of adverse birth outcome and miscarriage in pregnant users of non-steroidal anti-inflammatory drugs: population based observational study and case –control study, *BMJ*, **322**: 266-270, 2001.
- Odacı, E., Korkmaz, A., Ayas, B., Rağbetli, M. Ç., Çiftçi, N., Effects Of Prenatal Diclofenac Sodium Exposure On Thearticular Cartilage Of The Rat In The Postnatal Period , *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Science*, **21**:278-281, 2001.
- Odacı, E., Cihan, O. F., Aslan, H., Rağbetli, M. Ç., Kaplan, S., Prenatal diclofenac sodium administration increases the number of Purkinje cells in female rats : A stereological study, *Int. J. Devl. Neuroscience*, 2009.

- Ostensen, M., Nonsteroidal anti-inflammatory drugs during pregnancy Scand, *J.Rheumatol. Suppl.* **107**:128-132, 1998.
- Parer, J.T. and Espinoza, M.I., Fetal Circulation . In: Scierra, J.J., Depp, R., Eschenbach., D.a., (Eds.) *Gynecology and Obstetrics*, Philadelphia, J.B., Lippincott Company, Vol.3, Chapter 59, 1991.
- Parisi, V.M. and Wlsh, S.W., Fetal vascular response to prostacyclin, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **160**: 871-879, 1989.
- Pater, J.T., Espinoza, M.I., Fetal circulation. In: Sciarra JJ. Depp R. Eschenbach DA. (Eds.), *Gynecology and Obstetrics*, Philadelphia. JB Lippincott Company.; Vol 3 Chapter 59, 1991
- Perkin, R.M., Levin, D.L., Clark, R., Serum salicylate levels and right-to-left ducts shunts in newborn infants with persistent pulmonary hypertension, *J. Pediatr.*, **6**:721-726, 1980.
- Rağbetli, M.Ç., Kaplan, S., Korkmaz, A., Prenatal Dönemde Uygulanan Diklofenak Sodyumun 20 Haftalık Erkek Sıçan Dorsal Hipokampusunun Piramidal Hücre Sayısına Etkisi, *Journal of Biology*, **21**: 307-315, 1997.
- Rağbetli, M.Ç., Kaplan, S., Korkmaz, A., Albayrak, D.,Fötal Yaşamda Uygulanan Diklofenak Sodyumun Postnatal 20 Haftalık Erkek Sıçan Hipokampusunun Tabaka Kalınlığına Etkisi, *Journal of Biology*, **21**:299-305, 1997.
- Rağbetli, M.Ç., Ozyurt, B., Aslan, H., Odacı, E., Gökçimen, A., Şahin, B., Kaplan, S.,Effect of prenatal exposure to diclofenac sodium on purkinje cell numbers in rat cerebellum: A stereological study, *Brain Research*, **1174**: 130-135, 2007.
- Roubenoff , R., Hoyt. J., Petri, M., Hochbegr, M.C., and Hellmann, D.R., Effect of antiinflammatory and immunosuppressive drugs on pregnancy and fertility, *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, **18**: 88-110, 1988.
- Rubaltelli, F.F., Chiozza, M.L., Zanardo, V. and Cantrutti, F., Effect on neonate of maternal treatment with indomethacin, *J. Pediatr.*, **94**: 161, 1979.
- Russel, J.G., Antirheumatic medication in prograny (letter), *Br. J. Rheumatol.*; **25** :229,1986
- Sadler, T. W., *Langman's Medikal Embriyoloji*, **Yedinci Baskı** , 1996.
- Samuelsson, B., Dahlen, S.E., Lindgren, J.A., Rouzer, C.A., and Serhan, C.N., Leukotriens and Lipoxins: Structures, biosynthesis, *Science*, **237**: 1171-1176, 1987.
- Sarsılmaz, M., Kaplan, S., Songur, A., Colakoglu. S., Aslan, H.,Tunc, A.T., Ozen. O.A., Turgut, M., Bas. O., Effects of postnatal formaldehyde exposure on pyramidal cell number,volume of cell layer in hippocampus and hemisphere in the rat: a stereological study, *Brain Res.*, **1145**:157-167, 2007.

- Satar, M., Kozanoğlu, M.N., Atilla, E., Identical twins with an autosomal recessive form of spondylocostal dysostosis, *Clin. Genet.*, **41**: 290-2, 1992.
- Schiff, E., Barkai, G., Ben-baruch, G., and Mashiach, S., low-dose aspirin does not influence the clinical course of women with mild pregnancy-induced Hypertension, *Obstetrics and Gynecology*, **76**: Part 1, 74-75, 1990.
- Schmit, C., Bultmann, E., Gube, M., Korr, H., Neuron loss in the Mouse hippocampus following prenatal injection of tritiated thymidine or saline, *Int. J. Dev. Neurosci*, **17**:185-190, 1999.
- Shaad, N.C., Magistretti, P.J., and Schorderet, M., Prostanoids and their role in cell-cell interaction in the central nervous system, *Neurochem. Int.*, **18**:303-322, 1991.
- Shapiro, N., Manson, R.R., Kaufman, D.W., Siskind, V., Heinonen, O.P., and Slone, D., Prenatal mortality and birth-Weight in relation to aspirin taken during pregnancy, *Lancet*, **1**:1375-1376, 1976.
- Sharpe, G.L., Krous, H., and Altshuler, G., Perinatal use of indomethacin, *Lancet*, **2**:87, 1977.
- Sheild, M.J., Anti-inflammatory drugs and their effects on cartilage synthesis and renal function, *European J. Rheumatol. and Inflammation*, **13** :7-16, 1993.
- Sibai, B.M., Mirro, R., Chesney, C.M., and Leffler, C., Low-dose aspirin in pregnancy, *Obstet. Gynecol.*, **74**:551-556, 1989.
- Siu, K., Lee, W., Maternal diclofenac sodium ingestion and severe neonatal pulmonary hypertension, *J. Paediatr. Child Health*, **40**: 152-153, 2004.
- Skoutakis, V.A., Carter, C.A., Mickle, T.R., Smith, V.H., Arkin, C.R., Alissandratos, J., and Petty, D.e., Review of diclofenac and evaluation of its place in therapy as a nonsteroidal antiinflammatory agent, *Drug Intelligence and Clinical Pharmacy*, **22**:850-859, 1988.
- Slone, D., Heinonen, O.P., Kaufman, D.W., Siskind, V., Manson, R.R., Shapiro, S., Aspirin and congenital malformations, *Lancet*, **1**: 1373-1375, 1976.
- Smith, W.L., DeJwitt, D.L., Shimokawa, T., Kraemer, S.a., and Meade, E.A., Molecular basis for the inhibition of prostanoid biosynthesis by nonsteroidal antiinflammatory agents, *Storke*, **21** (suppl. IV), 24-28, 1990.
- Stuart, M.J., Gross, S.J., Elread, H., Greaber, J.E., Effects of acetylsalicylic acid ingestion on maternal and neonatal homeostasis, *N. Engl. J. Med.*, **307**:909-1012, 1982.
- Theiler, K., Vertebral malformations, *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.* **112**:1-99, 1998.
- Thorp, J.A., Walsh, S.W., Brath, P.C., Low-dose aspirin inhibits thromboxane, but not prostacyclin, production by human placental arteries, *Am. J. Obstet Gynecol.*, **159**: 1381-1384, 1988.



- Torco, S., Stoebner, P., Usson, Y., D'Aubigny, G.D., Saxod, R., There is no simple adequate sampling scheme for estimating the myelinated fibre size distribution in human peripheral nerve: a statistical ultrastructural study, *J. Neurosci. Methods*, **27**: 149-164, 1989.
- Trundiger, B.J., Cook, C.M., Thompson, R.S., Et al. Low dose aspirin therapy improves fetal weight in umbilical placental insufficiency, *Am. J. Obstet Gynecol.*, **159**:681-685, 1988.
- Turner, G., and Collins, E., Fetal effects of regular salicylate ingestion in pregnancy, *Lancet*, **2**: 338, 1975
- Türker, R.K., Kayaalp, S.O., Eikozanoidler (Araşidonik asit metabolitleri ve diğer otyokoidler): Kayaalp, S.O., *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, **6.Baskı**, 3.cilt, Feryal Matbaacılık, Ankara, 1993.
- Unal, B., Tan, H., Orbak, Z., Kiki, I., Bilici, M., Bilici, N., Aslan, H., Kaplan, S., Morphological alterations produced by zinc deficiency in rat sciatic nerve: a histological, electron microscopic, and stereological study, *Brain Res.*, **1048**, 228-234, 2005.
- Uysal, İ. İ., Nervus medianus'un klinik anatomisi ve varyasyonları, *Genel Tıp Dergisi*; **13**:89-93, 2003.
- Uzan, S., Beaufilet, M., Breart, G., Bazin, B., Capitant, C., and Paris, J., Prevention of fetal growth retardation with low-dose aspirin: Findings of the EPREDA trial, *Lancet*, **337**:127-131, 1991.
- Wallenburg, H.C.S., Makovitz, J.W., Dekker, G.A., Rotmans, O., Low-dose aspirin prevents pregnancy induced hypertension and preeclampsia in angiotension sensitive primigravida, *Lancet*:**1-3**, 1986.
- Wallenburg, H.C.S., Rotmans, N., Prevention of recurrent idiopathic fetal growth retardation by low-dose aspirin and dipyridomole, *Am. J. Obstet Gynecol.*, **1567**:1230-1235, 1987.
- Walsh, S.W., Prostaglandins in pregnancy. In: Sciarra, J.J., Speroff, and Simpson, J.L., (Eds), *Gynecology and Obstetrics. Philadelphia, J.B., Lippincott Company*, Vol. 5, chapter 43, 1989.
- Watts, C., McConey, H., Anderson, L., Caldwell, M., Anatomical perspectives on adult neural stem cells, *J. Anat.*, **207**:197-208, 2005
- Weismann, G., Vossball, L.B., Bayer, C.A., and Dunhan, P.B., Marina sponge aggregation: a model for effects of NSAIDS on the calcium movement of cell activation, *Semin arthritis Rheum.*, **15**:42-53, 1985.
- Werkanky, J., and Tacacs, E., Experimental production of congenital malformasyon in rats by salicylate poisoning, *Am. J. Pathol.*, **35**:315-319, 1959.

- Werler, M.M., Mitchell, A.A., and Shapiro, S., The relation of aspirin use during the first trimester of pregnancy to congenital cardiac defects, *N. Engl. J. Med.*, **321(24)**:1639-1684, 1979.
- Whelton, A., Hamilton, J.W., Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Effects on kidney function, *J. Clin. Pharmacol.*, **31**:588-598, 1991.
- Wlodek, M.E., Harding, R., Thorburn, G.D., Effect of inhibition of prostaglandin synthesis on flow and composition of fetal urine, lung liquid, and swallowed fluid in sheep, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **170**: Part 1, 186-195, 1994.
- Wolf, L.S., Eicosanoids Prostaglandins, Tromboxanes, Leukotrienes, and other derivatives of carbon-20 unsaturated fatty acids, *J. Neurochem.*, **38**: 1-14, 1982.
- Zuckerman, H., Reiss, U., and Rubinstein, I., Inhibition of human premature labor by indomethacin, *Obstet. Gynecol.*, **44**: 787-792, 1974.

## EKLER

### EK-1. Hayvan Etik Kurulu Onay Kararı



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


Sayı : HADYEK/27  
Konu : Araştırma projeniz hk.

27/04/2009

Prof. Dr. Süleyman KAPLAN  
Histoloji – Embriyoloji Anabilim Dalı

2009/22 numaralı “Prenatal dönemde uygulanan diklofenak sodyumun 4 haftalık erkek ve dişi sıçanların Nervus Medianusuna etkisinin stereolojik yöntemler ile araştırılması.” konu başlıklı Projeniz; Hayvan Etik Kurulu’nun 27.04.2009 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 6 aylık Rapor verilmesi şartıyla çalışmanıza başlamanız uygun görülmüştür.

  
Prof. Dr. Feriŕat KOLBAKIR  
Hayvan Etik Kurulu Baŕkanı

**EK-2. Proje Kabul Bildirimi**

T.C.  
**ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ**  
**Tıp Fakültesi Dekanlığı**



Sayı : B.30.2.ODM.0.20.88. A 132)

9 / 09 / 2009

Sayın Prof.Dr.Süleyman KAPLAN

İLGİ: 07.09.2009 tarih ve 058- 0001643 sayılı Rektörlük yazısı.

Rektörlük Makamı tarafından desteklenmek üzere hazırladığınız projenizin kabul edildiği Rektörlük Makamınca bildirilmiştir.

Bilgilerinizi ve proje kapsamındaki isteklerinizin Dekanlığımıza yapılmasını rica ederim.

4

Ek: 2

  
Prof.Dr.A.Haydar ŞAHİNOĞLU  
Dekan

## ÖZGEÇMİŞ

14. 09. 1980, Amasya doğumlu olan Ebru AYRANCI İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini Samsun'da tamamlayarak; Lisans eğitimini 1997-2001 yılları arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesinde yapmıştır. 2001 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitime başlayan AYRANCI halen sözü edilen programda lisansüstü eğitimini sürdürmektedir.