



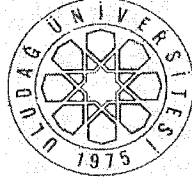
**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**

**PERİFERİK SİNİR KESİLERİNDE PRİMER SÜTÜR SONRASI TOPİKAL
SİTİKOLİN UYGULANMASININ AKSONAL REJENERASYON VE EPİNÖRAL
SKAR DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Dr. Rafet ÖZAY

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2005



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

**PERİFERİK SİNİR KESİLERİNDE PRİMER SÜTÜR SONRASI TOPİKAL
SİTİKOLİN UYGULANMASININ AKSONAL REJENERASYON VE EPİNÖRAL
SKAR DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİ**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Rafet ÖZAY

Danışman: Doç. Dr. AHMET BEKAR

BURSA – 2005

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i-ii
SUMMARY	iii-iv
GİRİŞ	1-15
GEREÇ VE YÖNTEM	16-22
BULGULAR	23-52
TARTIŞMA	53-61
KISALTMALAR	62
KAYNAKLAR	63-66
ÖZGEÇMİŞ	67
TEŞEKKÜR	68

ÖZET

Periferik sinir hasarının aksonal tamiri ve tam fonksiyonel geri kazanım halen ulaşılamamış bir ideal olarak durmaktadır. Çalışmamızda, siyatik sinirde kesi sonucu oluşturulan hasar ve primer anastomoz sonrası topikal CDP-kolin (Sitikolin) uygulanmasının perinöral skar dokusu, aksonal rejenerasyon ve fonksiyonel bozukluğun geri kazanımı üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlandı. Değerlendirme histomorfolojik, elektrofizyolojik ve siyatik fonksiyon indeksi (SFİ) temel alınarak yapıldı.

Çalışmada, 70 adet Spraque-Dawley tipi dişi yetişkin sıçan kullanıldı. Posterior longitudinal cilt insizyonu ile sağ siyatik sinir ortaya konuldu ve mikromakas ile kesildi. Oluşturulan lezyon sonrası hemen 8/0 monoflaman sütün ile primer anastomoz yapıldı. Tamir alanı çevresine deney grubunda (n=35) sitikolin (100 microM – 4 diziem), kontrol grubunda (n=35) ise serum fizyolojik (4 diziem) topikal olarak uygulandı.

4. hafta sonunda her gruptan 10 sıçan perinöral skar dokusunun incelenmesi amacıyla sakrifiye edildi. Kontrol grubunda bulunan 3 sıçan 4. hafta sonunda, EMG için verilen genel anesteziyi takiben öldü. Yine kontrol grubunda yer alan 1 sıçan 10. haftanın sonunda kafesinde ölü olarak bulundu. 12. hafta sonunda uygulanan yürüme yolu analizi ve elektro myografi (EMG) sonrasında hayatta kalan sıçanlar sakrifiye edildi ve enblok olarak çıkartılmış ve %10 formalinde fikse edilmiş siyatik sinirler histomorfolojik değerlendirmeye tabi tutuldu.

4. ve 12. haftada yapılan makroskopik değerlendirmede, serum fizyolojik uygulanan grupta hasar oluşturulmuş ve tamir edilmiş siyatik siniri çevre dokulara yapıştıran ve sinir ayrılabilirliğini zorlaştıran kalın ve sert bir konnektif doku olduğu görüldü. Skar formasyon indeksi değerleri sitikolin uygulanan grupta daha düşüktü ($p<0,001$). Myelin boyası ile transvers kesitlerde yapılan değerlendirmede akson sayısı ve akson çapı sonuçlarının sitikolin uygulanan grupta anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu (akson sayısı için $p<0,001$, akson çapı için $p<0,01$). EMG ve SFİ ile takip edilen fonksiyonel geri kazanımın da sitikolin uygulanan grupta daha yüksek olduğu görüldü. SFİ değerleri 4. haftadan itibaren,

EMG değerleri ise 12. haftadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdi (SFİ için $p<0,001$, EMG için $p<0,05$).

Çalışmamızda topikal olarak uygulanan sitikolinin perinöral skar oluşumunu azalttığı ve aksonal rejenerasyonu artırarak fonksiyonel geri kazanımı sağladığı sonucuna varılmıştır. Uygulanan tedavinin; periferik sinir cerrahisinde uygulanan diğer deneysel tedavi yöntemleri ve seçenekleri ile kombine edilmesi ve sonuçlarının daha da detaylı araştırılması gerektiği kanısındayız.

SUMMARY

Axonal regeneration and complete functional recovery still remains as an unreached ideal in peripheral nerve injury. The aim of this study was to investigate the effects of topical administered CDP-cholin (citicolin) on perineural scar tissue, axonal regeneration and functional recovery after sharp incision injury and primer anastomosis on the rat sciatic nerve. Assessment was made on the basis of histomorphology, electrophysiology and sciatic function index.

Seventy Sprague Dawley female adult rats were used in this study. The right sciatic nerve was exposed via a posterior longitudinal skin incision and cut with microscissors sharply. Thereafter primer anastomosis was made promptly with 8/0 monofilament suture. Adjacent to the lesion citicolin (100 microM- 4 diziem) in the experiment group (n= 35) and serum physiologic (4 dzm) in the control group (n=35) were administered topically. At the end of the fourth week 10 rats per group were sacrificed in order to investigate the perineural scar tissue. Three rats of the control group died after fourth week during anesthesia for electromyelography (EMG). One rat in the control group was found dead in its cage after 10. week. At the end of the 12. week after the walking track and EMG analysis the survivors were sacrificed; the sciatic nerves removed en-bloc and fixed in 10 % formaline were assessed hystomorphologically.

On the macroscopic assessment performed at the fourth and twelfth week, there was a thick connective tissue around the sciatic nerves in the control group. Scar formation index was lower in the citicolin group ($p < 0.001$). Analysis of myelin stained transverse nerve sections revealed statistically higher axon number and diameters in the citicoline group (for the number of axons $p < 0.001$, the diameter of the axons $p < 0.01$). Also the functional recovery assessed with EMG and SFI was better in the citicolin group. SFI values after 4. week and EMG values after the 12. week showed statistically significant difference ($p < 0.001$ for SFI, $p < 0.05$ for EMG).

In our study we found that topical administered citicolin reduced the perineural scar formation and provided functional recovery by increasing the

axonal regeneration. We think that this therapy should be combined with the other treatment modalities and the results should be investigated more precisely.

GİRİŞ

Terzis ve ark.'larının, periferik sinir cerrahisinin tarihçesi ile ilgili yaptıkları çalışmada, periferik sinir sisteminin yazılı olarak ilk tanımlanması MÖ. IV. yüzyılda Hipocrates ve MS. III. yüzyılda Herophilus tarafından, yapıldığı ilk sinir tamirinin ise İran'lı Rhazes (850-932) ve İbn-i Sina (980-1037) tarafından gerçekleştirildiği belirtilmiştir (1). Yine aynı yazarlara göre, 13. yüzyılda Parmalı Roger tarafından periferik sinir hasarı tamirinde topikal olarak yumurta albumini uygulanmış ve bunun yapıştırıcı özelliğinden faydalandığı belirtilmiştir (1). Frances Glisson (1597- 1677) sinirlerin uyarılabilir olduğunu bulmuştur. Leewenhoek A.V. (1632-1723); periferik sinirin mikroskopik yapısını tarif etmiştir (1). Periferik sinirde aksonların ve myelin kılıfın tanımlanması Fontana (1730-1805) tarafından yapılmıştır (1). Galvani (1737-1798) kurbağalarda yaptığı bir çalışmada sinirlerin elektrik sitümülasyona verdiği yanıtı göstererek fonksiyonel bir bakış açısı kazandırmıştır (1). Sir Charles Bell (1774-1842) motor liflerin ventral root'lar ile olan ilişkisini, Francois Magendie (1783-1855) ise, sensoriyal liflerin dorsal rootlar ile olan birlikteliğini tarif etmişlerdir (1). Theodore Schwann (1810-1897) kendi adıyla tarif edilen schwann hücrelerini tanımlamıştır (1). Gustus Waller 1850'de kesiye uğratılmış sinirin distal ucundaki hasarı Wallerian dejenerasyon olarak tarif etmiştir (1). 1873'de Hueter, periferik sinirde epinöral onarım metodunu tanımlamıştır (1). 1964'de Kurze ve Smith birbirlerinden habersiz olarak operasyon mikroskobunun periferik sinir cerrahisindeki önemini vurgulamışlardır (1). Hakstian ve ark., 1968'de elektrostimülatör kullanarak motor lifleri sensorial liflerden ayırmış ve bunların ayrı ayrı dikilmesinin birlikte dikilmesinden daha yararlı olduğunu göstermişlerdir (1). Terzis ve ark., 1975'te periferik sinir lezyonunda uygulanan uç-uca anastomoz modelinde gerilimsiz uygulanan tekniğin yararlarını da elektrofizyolojik parametreler ile göstermişlerdir (2). Sadece motor liflerde olan asetil kolin esterazın boyanması yöntemiyle sensöriyal ve motor liflerin ayrımının mümkün olduğu gösterilmiş ve 1976'dan itibaren operatif bir teknik olarak kullanabileceğini kanıtlamışlardır (3). Williams ve

Terzis, 1976'da fasiküllerden tek tek intraoperatif kayıt alıp liflerin fonksiyonel kapasitelerini ortaya çıkararak inkomplet sinir lezyonunda oluşabilecek iatrojenik hasarlanmayı engellemişler ve komplet lezyona dönüştürme komplikasyonunun engellenmesindeki kullanımını bildirmişlerdir (4).

Seddon, periferik sinir hasarını nöropraksi, aksonotmezis ve nörotmezis olmak üzere üç aşamalı fonksiyonel klasifikasyon ile tanımlamıştır. Nöropaksi, kompresyon hasarı sonrası meydana gelen akut bir demyelizasyon durumudur. Bu durum yeni myelin yapımına kadar (haftalar ve aylar içerisinde) mevcut klinik yansımaları korur (5). Komplet motor paralizi mevcuttur, duysal ve sempatik fonksiyonlar genellikle korunmuştur. Aksonotmezis endonöral tüplerin intakt kaldığı ancak aksonal devamlılığın kaybolduğu ve Wallerian dejenerasyon ile sonuçlanan transseksiyon hasarıdır, ancak uzamış kompresyon hasarında da meydana gelebilir. Fonksiyonel geri kazanım için geçmesi gereken süre, aksonal rejenerasyon ve hedef dokudaki reinnervasyon sürecine bağlıdır. Nörotmezis ise sinir bütünlüğünün tamamen bozulduğu total dezorganizasyon durumudur. Bu kesilerde spontan rejenerasyon oluşmaz ve cerrahi tamir gerektirir (5). Lundborg ve ark.'ları tarafından bildirildiğine göre, klinik pratikte sinir hasarlanması genellikle miks karakterdedir ve her zaman Seddon klasifikasyonundaki tanımlamalardan birine karşılık gelmeyebilir. Bu nedenle Sunderland., yeni bir klasifikasyon ile Seddon klasifikasyonunu modifiye etmiştir (6). 1- Seddon klasifikasyonunda tanımlanan nöropraksiye karşılık gelir. 2- Seddon klasifikasyonunda tanımlanan aksonotmezise karşılık gelir. 3- Aksonotmezis ile birlikte endonörium hasarlanması mevcuttur. 4- Aksonotmezis ile birlikte endonöral ve perinöral hasarlanma mevcuttur. 5- Nörotmezis (6).

Doku hasarından sonra ortaya çıkan skar oluşumu yara iyileşmesinin önemli bir komponentidir. Periferik sinir hasarından sonra ortaya çıkan epinöral skar oluşumu sinirin komşu dokulara yapışmasına neden olmaktadır. Periferik sinirin normal longitudinal kayma hareketini engelleyerek mobilitesini azaltan epinöral skar dokusu, aynı zamanda sinir komşuluğundaki damarlarda vazospazm ve retraksiyon oluşturarak, sinirde iskemiye ve geri

dönüşümsüz hasarlanmaya neden olmaktadır (7, 8, 9, 10). Fleksiyon ve ekstansiyon hareketleri sırasında retraksiyona ve sekonder olarak iskemiye bağlı gelişen geri dönüşümsüz sinir hasarlanmasını engellemek ve aksonal rejenerasyonu arttırmak amacıyla kesiye uğratılmış periferik sinir etrafına jelatinize maddelerin topikal uygulanmasının olumlu makroskopik, histomorfolojik ve fonksiyonel sonuçlar verdiği gösterilmiştir (7, 8, 9, 11). Ekstranöral skar oluşumunun makroskopik değerlendirilmesinde Petersen ve ark., tarafından tanımlanan skala önemli bir değerlendirme parametresidir. Bu skala ile hem cilt ve adele fasyasının cerrahiye sekonder iyileşmesi takip edilebilmekte, hem de lezyona uğratılmış periferik sinirin çevre dokulara yapışıklığı ve bu yapılardan ayrılabilirliği makroskopik olarak değerlendirilmektedir (8) (Tablo-1).

Tablo-1: Petersen ve ark., tarafından tanımlanan makroskopik değerlendirme için sayısal değerlendirme şeması (8).

Doku	Grade	Tanımlama
Cilt ve adele fasyası	1	Tamamen kapanmış
	2	Kısmen açık
	3	Tamamen açık
Sinir yapışıklığı ve ayrılabilirliği diseksiyon	1	Diseksiyon yok veya hafif künt
	2	Biraz kuvvetli künt diseksiyon
	3	Keskin diseksiyon

Periferik sinir lezyonunda, bağ dokusu proliferasyonuna bağlı olarak gelişen skar dokusuna, rejenere olan sinir lifleri ulaştığından nöroma gelişir. Bu durum distal sinir güdüğüne ulaşan akson sayısında azalmaya ve dolayısı ile fonksiyonel geri kazanımın kaybına neden olmaktadır (12).

Terzis ve ark.'nın bildirdiğine göre, nörotropizm ilk olarak 1898'de Frossman tarafından ortaya atılmış, sinirin endojen veya diğer uca doğru olan atraksiyonu şeklinde tanımlanmıştır (1). Politis, 1982'de trofik faktör

konsantrasyon gradienti kullanarak sinir liflerinin distal sinir ucuna doğru bir kanal içerisinde ilerlediklerini göstermiştir (13).

Rejenere olan aksonun Schwann hücresi yüzeyi boyunca ilerlemesi; nörotrofik faktörlerin sinir hücre gövdesi boyunca retrograd olarak taşınması ve kendilerine ait olan yüksek affiniteli tirozin kinaz (trkA, trkB, trkC) ve düşük affiniteli p75 reseptörlerine bağlanması ile açıklanmaktadır (14). Aksotomi distal aksonda Wallerian dejenerasyona neden olmakta ve bu durum nöronal elemanların myelin artıklarını fagosite eden Schwann hücrelerinin proliferasyonuna neden olmaktadır (14).

Normal periferik sinir lifinin sellüler ve asellüler elemanları arasındaki ilişkinin travma ile hasar görmesini takiben, fasiküler rekonstrüksiyonun oluşabilmesi için gerekli olan en önemli etken hasarın distalindeki endonöriumun sağlam kalmasıdır. Schwann hücreleri ve bazal laminadan oluşan Bugner bantları önderliğinde proksimal uçtan nörit uzanımı (rejenerasyon) gerçekleşmektedir (15). Wallerian dejenerasyonun Schwann hücre proliferasyonunu indüklediği, yaşayan Schwann hücreleri içeren sinir greftleri sadece bazal lamina içeren sinir greftleri ile kıyaslandığında aksonal rejenerasyon üzerine daha etkili olduğu bilinmektedir (14, 15, 16). Schwann hücreleri periferik sinir hasarını takiben aksonal rejenerasyon ve matürasyonun sağlanması amacıyla "Nerve Growth Factor" (NGF), "İnsulin-like Growth Factor-1" (IGF-1), "Ciliary Neurotrophic Factor" (CNTF) ve "Brain-Derived Neurotrophic Factor" (BDNF) sentez ve salınımında görev alırlar. Schwann hücre kültürleri üzerinde spesifik antikolar kullanılarak yapılan bir çalışmada, NGF, BDNF, CNTF gibi nörotrofik faktörler gösterilmiştir (17, 18, 19). Major nörotrofik faktörler; nörotrofinler [NGF, BDNF, Neurotrophin-3 (NT3), Neurotrophin-4/5 (NT4/5)], nöropoetik stokinler [CNTF, Interleucin-1 (IL-1), Interleucin-3 (IL-3), Interleucin-6 (IL-6)] ve fibroblast growth faktörleri [acidic Fibroblast Growth Factor (FGFa), basic Fibroblast Growth Factor (FGFb)] ile diğerleri [Glial-cell-line-Derived Neurotrophic Factor (GDNF), Endotelial Growth Factor (EGF), Transforming Growth Factor- β (TGF- β)] şeklinde sınıflandırılmıştır (20).

Schwann hücreleri kendi üzerlerinde yerleşmiş olan NGF reseptör ekspresyonunu 1 hafta içerisinde maksimal düzeye ulaştırmaktadırlar. Aksonal rejenerasyon Schwann hücre yüzeyine ulaştığında, NGF reseptör ekspresyonu baskılanmaktadır (14). Normalde NGF-mRNA'ın sağlıklı sinirlerde düşük konsantrasyonlarda bulunduğu halde periferik sinir hasarını takiben intrasellüler yoğunluğu arttığı ve NGF sentezi ve yoğunluğunun artmasına neden olduğu bildirilmiştir. Bu değişiklik hasara uğramış sinirin distal segmentinde meydana gelmektedir (21, 22). NGF üretiminin makrofajlardan salgılanan IL-1 β tarafından tetiklendiğine inanılmaktadır. Makrofajlar sinir hasarından sonra myelin degradasyonu yanısıra, nörotrofik faktörlerin sentezine de katılan multipotent hücrelerdir (18, 20, 22). NGF'ün yüksek affiniteli olduğu trkA reseptörü motor nöronlar üzerinde düşük yoğunlukta bulunduğundan NGF'ün motor nöronların üzerine olan rejeneratif potansiyeli düşüktür, NGF ve kendisine ait reseptör yoğunluğundaki artışın hasara uğramış sinirde sensoriyal ve sempatik nöron rejenerasyonu için trofik destek ve kemotaktik rehberlik yaptığı ileri sürülmektedir (20). Chen ve ark., tavşan fasiyal sinirinde yaptıkları bir çalışmada, kesiye uğratılmış sinirde oluşturulan lezyon aralığında silikon tüp içerisine konulan NGF solüsyonunun, kontrol grubuna göre; aksonal rejenerasyon ve matürasyonu potansiyalize ettiğini göstermişlerdir (23).

Sıçan siyatik sinirinde hasar oluşturularak yapılan bir çalışmada, periferik sinir hasarını takiben BDNF-mRNA seviyelerinde çok hızlı bir artış gözlenmiştir (18). Hasarlı periferik sinirde 3. günde başlayan BDNF ekspresyonu 3. ve 4. haftalarda en yüksek seviyelerine ulaşmaktadır (18, 22). Hem invitro şartlarda hem de reaktif periferik sinirde Schwann hücreleri tarafından üretildiği gösterilen NGF ve BDNF, düşük affiniteli P75 reseptörlerine bağlanırlar. BDNF bağlandığı bu reseptörden NGF'e oranla daha yavaş ayrılır. Ayrıca BDNF'ün etkinliği yüksek affiniteli trkB ve trkC reseptörleri üzerinden de olmaktadır. Motor nöronlar üzerinde trkB reseptörleri üzerine bağlanması hücrede otofosforilasyona ve böylelikle direkt olarak aktive olan proteinler sayesinde hücre büyümesi ve farklılaşmasına neden olmaktadır (22, 24).

CNTF, Schwann hücreleri ve astrositler tarafından geniş bir biyolojik aktivite ile üretilen sitozolik bir moleküldür. Aksotomi Schwann hücrelerinde CNTF seviyelerinde azalmaya neden olur. Rejenerasyon derecesi ve süresi ile CNTF seviyelerinde artış arasında bir korelasyon gösterilmiştir. CNTF hasarlı periferik sinirde rejenerasyonu potansiyalize etmenin yanı sıra, motor nöronların korunmasında da kritik bir role sahiptir. Sıçan siyatik sinirinde uçyan anastomoz tekniği uygulanarak yapılan bir çalışmada; NGF ve CNTF birlikte kullanılmış ve bu koordinasyonun aksotomiye takiben periferik sinir rejenerasyonunu artırdığı ve birbirleri üzerine sinerjik etkiye sahip oldukları gösterilmiştir (19).

IGF-1 somotomedin-C olarak da adlandırılmaktadır. Hasara uğratılmış sinirdeki reaktif Schwann hücrelerinden sentezlendiği ve rejenerasyonun ilk iki haftasında en yüksek seviyelerine ulaştığı gösterilmiştir. Hansson ve ark., tarafından, sıçan siyatik sinirinde yapılan bir çalışmada somotomedin-C'nin hasara uğratılmış sinirde aksonal rejenerasyona önemli katkı sağladığı gösterilmiş ve hasar oluşturulmamış karşı taraf siyatik sinirinde ise sentezlenmediği tespit edilmiştir (17).

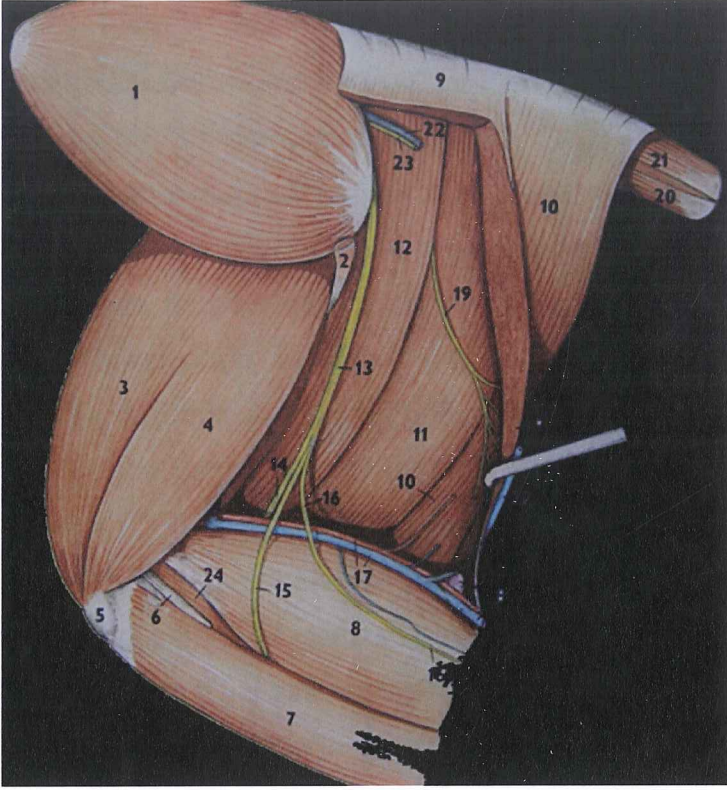
Özellikle trkC reseptörü üzerinden etki eden NT-3 sensoriyal ve parasempatik nöronlarda hayatın idamesini sağlarken, motor nöronlarda hem hayatın idamesi üzerine hem de rejenerasyon üzerine önemli bir potansiyel etkiye sahiptir. trkB reseptörü üzerinden etki eden NT-4/5 ise yine motor nöronlarda hayatın idamesi üzerine potansiyel etkiye sahiptir (20, 22, 24).

Hall ve ark., tarafından 1986'da fare siyatik sinirinde yapılan bir çalışmada; nöritlerin Schwann hücreleri tarafından desteklenmeden distal greft içine doğru büyüyecek ve reinervasyonu sağlayabilecek mi sorusuna cevap aranmıştır. Proksimal sinir güdüğüne intranöral olarak mitomisin-C enjekte edilmesi ve transseksiyon veya demyelizasyona sekonder gelişen Schwann hücre proliferasyonu engellenmiştir. Sonuç olarak nörit uzanımının yani rejenerasyonun azaldığı, proksimal güdükten olan nörit büyümesinin aktif Schwann hücre proliferasyonu ve fonksiyonuna ihtiyaç duyduğu gösterilmiştir (16). Sıçan siyatik sinirinde yapılan bir başka çalışmada, donma ve erime tekniği ile asellüler hale getirilmiş otogreftler, taze otogreftler ile

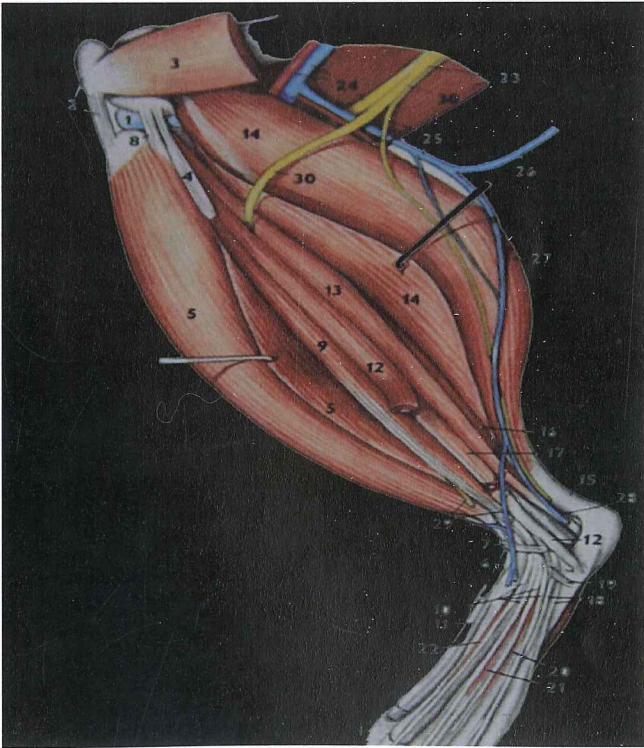
karşılaştırılmış ve nöritlerin taze otogreftte bulunan Bugner bantları üzerindeki canlı Schwann hücreleri ile fonksiyonel bir ilişkiyi hızla kurduğu gösterilmiş, ancak asellüler hale getirilmiş otogreftlere penetrasyonun son derece az olduğu gösterilmiştir (15). Komiyama ve ark.'ları tarafından yapılan diğer bir çalışmada, destekleyici yabancı materyal ve tübüler sistem olmadan, yüksek yoğunlukta yaşayan Schwann hücrelerine sahip dokudan oluşturulmuş sinir grefti kullanılmış ve bu eksojen Schwann hücrelerinin çevre dokulardan sentezlenen GF'lerin ve kendi sentez ettikleri, apoptozu engellediği gösterilmiş maddelerin yardımıyla hayatlarını devam ettirdikleri, aynı zamanda endojen Schwann hücreleri üzerinde migrasyonu artırıcı ve aksonal rejenerasyonu potansiyalize ettiren etkileri olduğu gösterilmiştir (25). Schwann hücrelerinin 1 aydan fazla süren kronik denervasyonunun, periferik sinir hasarını takiben beklenen aksonal rejenerasyonu ciddi şekilde engellediği bilinmektedir. Gordon ve ark., tarafından "Transforming Growth Factor β " (TGF β) ile kronik denerve Schwann hücreleri invitro şartlarda inkübe edilmiş ve invivo olarak test edilerek rejenerasyonu destekleyen Schwann hücre fenotipinin yeniden oluştuğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada kronik aksotomi sonrası distal uçtaki Schwann hücrelerinin proksimal uça rejenere olan motor nöron aksonlarında sayısal azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (26). Aksonal temas yokluğu tekbaşına Schwann hücre proliferasyonu için yeterli değildir. Ayrıca FGFa, FGFb, "Platelet-Derived Growth Factor-B" (PDGF-B) ve TGF- β (makrofaj ve plateletler tarafından sentezlenir) gibi mitojenik faktörlere ihtiyaç duymaktadır (27).

Sıçan periferik sinirinin histolojik sınıflandırılması insaninkine benzerdir (28). Yetiştirilmesi kolay, elde edilmesi ve anatomik yapısının iyi bilinmesinden dolayı kolay çalışılabilir canlılardır (29). Sıçan siyatik siniri L4-L5 ve L6 spinal segmentlerinden oluşur. Pelvisi terkettikten sonra trokanter major etrafından döner ve bu bölümünde daima unifasikülerdir (Resim-1). Trokanter majorün 3-5 mm distalinde 2'ye ayrılır, hemen hemen aynı noktada sinirin peroneal bölümünden çıkan ince bir dal lateral hamstring kasların ve biseps femorisin içinden geçerek baldırın proksimolateral yüzünün derisini besler. Bu dal kütanöz dal olarak tanımlanır. Tibial ve peroneal dalların

ayrıldığı noktanın biraz daha distalinden tibial dalının dorsal yüzünden sural sinir kaynaklanır. Uyluğun ortasından geçen bir kesitte 4 tane dal izlenebilir. Popliteal çukuru dolduran yağ dokusu içinde katenöz dal dışında kalan 3 dalı görmek mümkündür. Sural sinir popliteal fossanın ortasından yüzeysel olarak ilerler ve gastroknemius kasının arka yüzünde devam eder. Tibial sinir popliteal fossada derinden seyrederek ve gastroknemius kasının başları arasında kaybolarak fleksör kasları besler. Peroneal sinir ise popliteal fossada lateral ve yüzeysel bir yol izleyerek anterior kas grubuna girer (Resim-2) (30). Bu dalların akson sayısı ve tipi ışık ve elektron mikroskobu ile tanımlanmıştır. Tibial sinir 1000 motor, 3500 myelinli-5400 myelinsiz afferent ve 3700 sempatik akson içerir. Peroneal sinirde; 600 motor, 1300 myelinli-3000 myelinsiz ve 1100 sempatik akson mevcuttur. Sural sinirde; 1100 myelinli-2800 myelinsiz afferent ve 1500 myelinsiz sempatik akson mevcuttur. Katenöz dalda ise 400 myelinli ve 1800 myelinsiz afferent akson mevcuttur. Böylece tüm sıçan siyatik sinirinin 27000 aksondan oluştuğu, bunların %6'sının myelinli motor aksondan, %23'ünün myelinli-%48'inin myelinsiz sensoriyal aksondan, %23'ünün ise myelinsiz sempatik aksondan meydana geldiği rapor edilmiştir (30, 31).

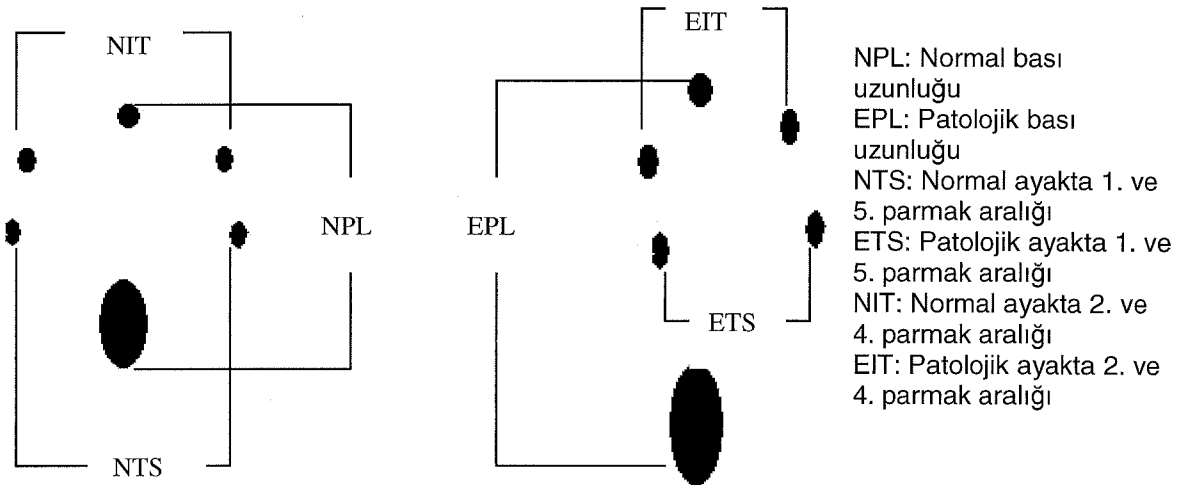


Resim 1- Sıçan siyatik siniri (28)



Resim 2- Bacak bölgesinde sıçan siyatik sinir dağılımı (28)

Hare ve ark.'nın bildirdiğine göre, 1982'de De-Medinaceli tarafından sıçanlar üzerinde tanımlanan SFİ, periferik sinir cerrahisi ile uğraşanlar için önemli bir değerlendirme metodudur (31). Yürümek; kortikal olarak integre olmuş koordineli, sensoriyal feed-back gerektiren, kompleks bir motor ünit inervasyonunu gerektirir. Bu teorik bilgi ışığında SFİ'nin; diğer değerlendirme testleri ile karşılaştırıldığında duyu ve kas integrasyonuna bağımlı olduğu için, fonksiyonun ve klinik durumun değerlendirilmesinde en iyi yöntem olduğu düşünülmektedir (32). Bu metod takip eden yıllarda tibial ve peroneal sinir içinde uygulanmış tibial fonksiyon indeksi (TFI) ve peroneal fonksiyon indeksi (PFI) şeklinde formülize edilmiştir (31). Siyatik sinir hasarı sonrası fonksiyonel kayıp yaklaşık %59, tibial sinir hasarı sonrası ise fonksiyonel kayıp yaklaşık %46 olarak bulunmuştur. Bu farklılık hasar sonrası etkilenen siyatik sinirin tibial sinire oranla rölatif olarak daha kompleks bir yapıya sahip olmasından kaynaklanır (siyatik sinir 27000, tibial sinir ise 13600 aksondan meydana gelmektedir). Tibial ve peroneal sinirin siyatik sinire oranla daha yüksek rejenerasyon potansiyeline sahip olduğu rapor edilmiştir (31). Siyatik fonksiyon indeksi hesaplanmasında: ayak bası uzunluğu, 1. ve 5. parmak aralığı, 2. ve 4. parmak aralığı değerleri kullanılmaktadır (Şekil-1). (31, 32). 1. ve 5. parmak aralığı değeri ayrıca tek başına fonksiyonel değerlendirme parametresi olarak da kullanılmıştır (33, 34).



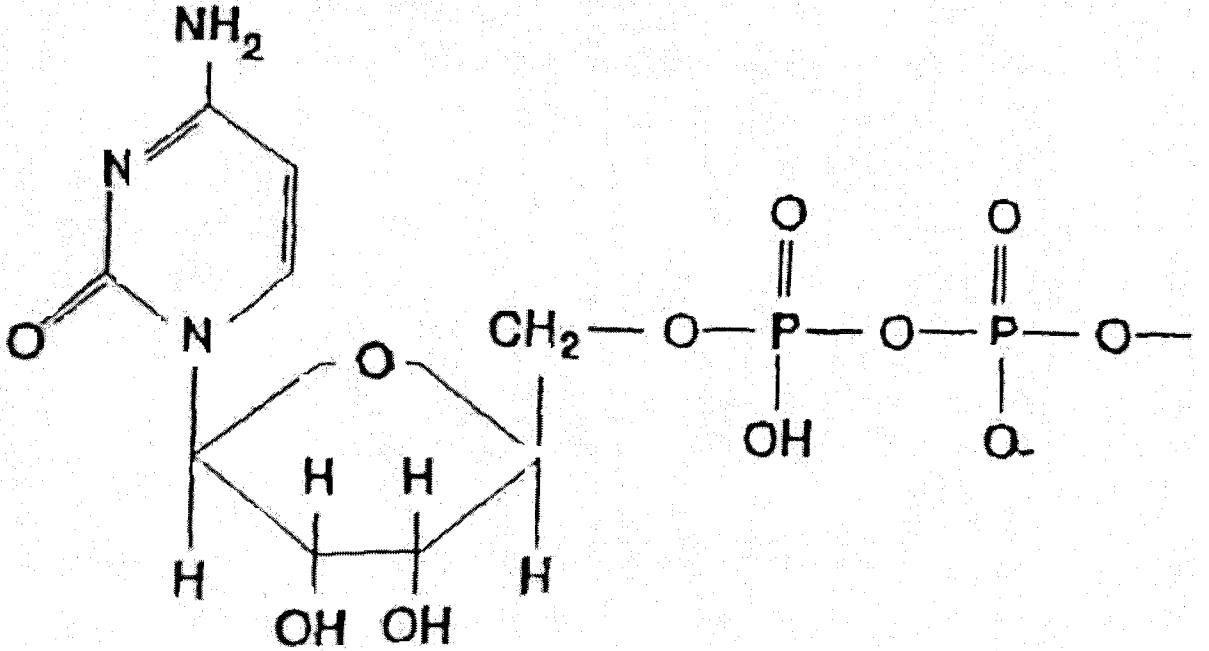
$$SFI = - 38,3 \times \left[\frac{EPL - NPL}{NPL} \right] + 109,5 \times \left[\frac{ETS - NTS}{NTS} \right] + 13,3 \times \left[\frac{EIT - NIT}{NIT} \right]$$

- 8,8

Şekil 1- Siyatik Fonksiyon İndeksi Formülü.

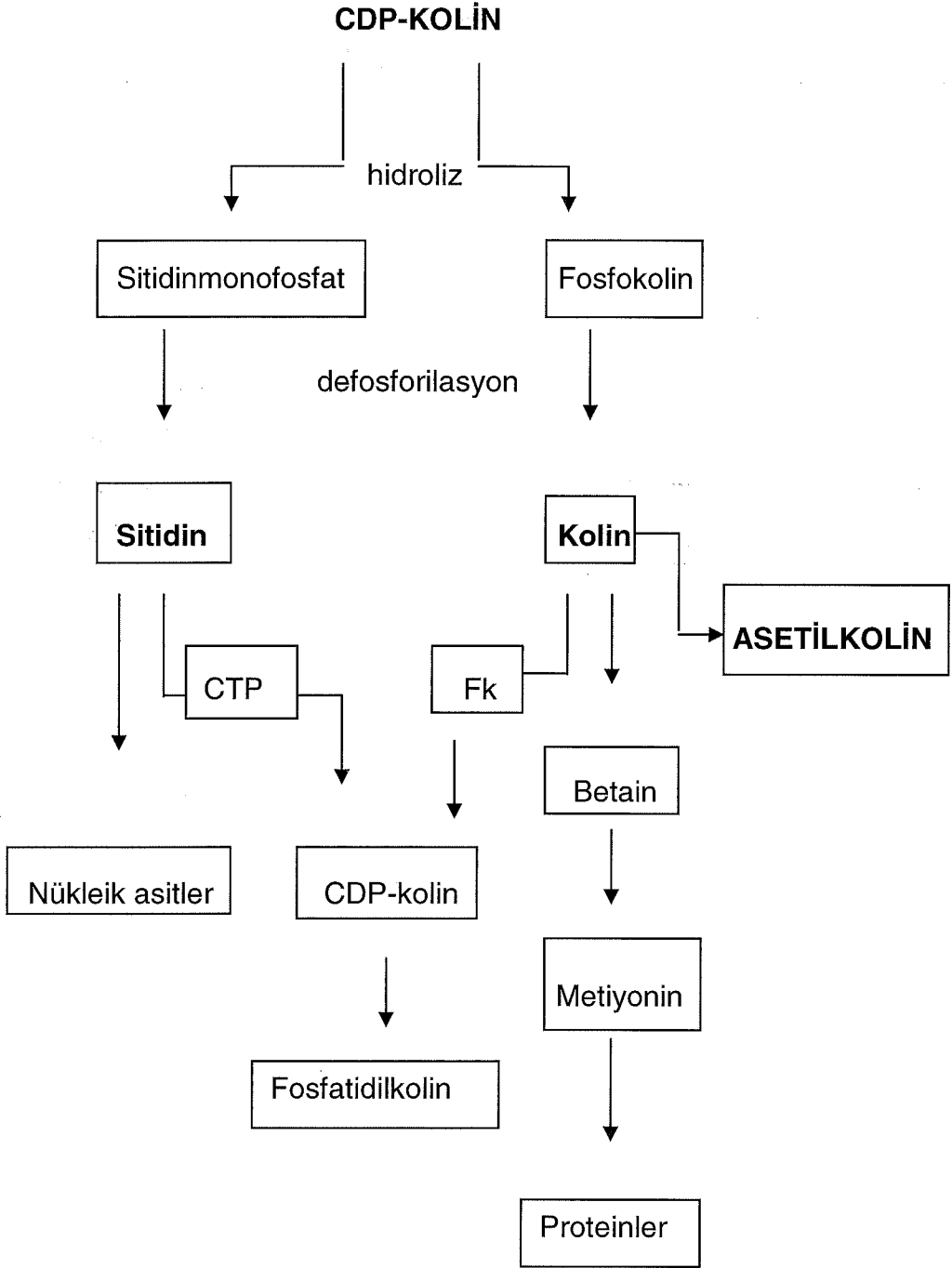
Periferik sinir hasarını takiben ortaya çıkan fonksiyonel kayıp ve tamir edilen periferik sinirde fonksiyonel geri kazanımın elektrofizyolojik parametreler ile yapılan takibinde; sensoriyal uyarılmış potansiyel (SEP), motor uyarılmış potansiyel (MEP), sinir ileti hızı, latansı ve sinir aksiyon potansiyel amplitüdü gibi değerlendirme parametreleri kullanılmıştır (8, 19, 35, 36, 37, 38, 39).

CDP-kolin (sitikolin) ; riboz, sitozin, profosfat ve kolin'den oluşan bir mononükleotiddir ve kimyasal yapısı 2- oxy- 4 - amino pyrimidine karşılık gelir (40) (Şekil-2).



Şekil-2: CDP-kolin'in moleküler yapısı (40)

CDP-kolin; 488,33 molekül ağırlığında ve vücudumuzda endojen olarak sentezlenebilen polarize bir bileşiktir. Monosodyum tuzu; beyaz-kristalize ve süngerimsi yapıdadır, suda çözünüp alkolde çözünmeme özelliğine sahiptir. Sitikolin eksojen bir CDP-Kolin'dir (41). Oral alımı sonrasında sitikolin ince bağırsakta hidrolize olur ve takiben kolin ve sitidine dönüşür. Buradan absorbe edilir ve geniş bir şekilde hücresele dağılım göstererek yeniden CDP-kolin'e dönüştürülür. Sinir sisteminde membran fosfolipidlerinin sentezinde kullanılır. Hücresele devamlılığın dinamik regülasyonunda membran fosfolipidlerinin sentezi en önemli olaylardan biridir. Yüksek lipid içeren sinir sisteminde nöronal fonksiyonun devamlılığı için fosfolipidlerin rolü çok önemlidir (41). Sitikolin; hücre membranlarında fosfotidilkolin sentezinin başlıca prokürsörlerinden biridir. Fosfotidilkolin sentez basamakları Kennedy yolağı olarak isimlendirilmiştir. Kennedy yolağı, fosfatidilkolin sentezindeki tek yol olmamakla beraber hakim olan ve sentez edilen fosfotidilkolinin büyük kısmından sorumlu olan yoldur. Bu sentetik basamakların ilkinde kolin, kolin kinaz enziminin katelize ettiği bir reaksiyon ile fosforile olur. Sentezlenen fosfokolin, 2. basamakta sitidin trifosfat (CTP) ile reaksiyona girer ve CDP-kolin sentezlenir. Bu basamak fosfotidilkolin sentezinde hız kısıtlayıcı basamaktır. CDP-kolin takip eden basamakta diaçil griserol ile birleşerek fosfotidilkolini oluşturur (40, 41, 42). CDP-kolin hidrolizi ile oluşan sitidin monofosfat, defosforilasyona uğrayarak sitidin oluşmakta buda, ya tekrar CDP-kolin oluşturmak üzere Kennedy yolağına katılmakta ya da, nükleik asitlerin yapısına katılmaktadır. Sitidin monofosfat ile birlikte oluşan fosfokolin ise koline dönüşmekte bu da yine Kennedy yolağına katılıp tekrar CDP-kolin oluşturmakta veya iki ayrı sentez aşamasından geçip asetil kolin ve metiyonine dönüşmektedir (Şekil-3) (40, 41, 42).



Şekil 3- CDP-Kolin'in Metabolizması. Kısaltmalar: CTP: sitidin trifosfat, Fk: Fosfokolin (40)

İnsanlarda sirkülasyondaki kolin konsantrasyonları 10 microM gibi dar bir aralıkta seyrederek. Sirkülasyondaki kolin seviyelerindeki artış asetil kolin sentezini ve kolinerjik transmisyonu artırır. Kolin birçok gıdada bulunan bir

bileşkedir ve kolinin özellikle fetal gelişim esnasında, organizma hızla büyürken yeterli miktarda alınması önemlidir (43).

Santral sinir sisteminde nöronal membranlardaki yapısal fosfolipitler düzenli serebral olgunlaşma için gereklidirler. Travmatik hasarlanma veya iskemik serebral patolojilerde, serebral ödemin patofizyolojisinde hücre membranı ve bunun en önemli yapı taşı olan fosfolipidlerin üzerindeki değişikliklerin önemi bilinmektedir (40). Sitikolin; geçici serebral iske mi ve travmaya sekonder hücre membran bütünlüğünün bozulduğu patolojilerde, fosfotidilkolin ve sfingomyelin sentezini arttırmakta ve aynı zamanda fosfolipaz A2 inhibisyonu ile destrüktif süreci engellemektedir (44). Nöron koruyucu bir ajan olan sitikolin birçok çalışmada, deneysel iske mi modellerinde yararlılığı daha önceden kanıtlanmış olan çeşitli tedavi seçenekleri ile kombine edilmiştir. Antitrombotik tedavi (45), nimodipin (46) ve FGFb (47) bunlardan birkaçıdır. Yapılan bu deneysel çalışmalarda, sitikolin ile diğer tedavi seçeneklerinin kombine edildiği deney gruplarında enfarkt alanının göreceli olarak daha da küçüldüğü ve nörolojik defisit azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca histopatolojik olarak iske mi de oluşan nörodejenerasyon ve apoptozisi azalttığı rapor edilmiştir (45, 46, 47). Klinik çalışmalarda Alzheimer hastalığında mental performansı iyileştirdiği (48), yaşlılarda hafıza performansını ve serbest çağrışımı arttırdığı (49) bildirilmiştir.

Sitikolinin nöron koruyucu etkinliği; iç mitokondrial membran yapıtaşı olan kardiolipin-sfingomyelin, hücre membranının en önemli fosfolipid komponentini oluşturan fosfotidil kolin ve fosfotidil etonolamin sentezlenmesinde kullanılması, lipid peroksidasyonunu azaltması, membran Na^+-K^+ ATP' ase aktivitesini restore etmesi, asetil kolin ve katekolamin (noradrenalin, dopamin, serotonin) sentezinde bulunması ve ayrıca bir antioksidan olan glutatyon sentezini artırması gibi etkilerine bağlıdır (40, 41, 42, 43, 44, 50).

Özarda ve ark., kolinin insan amniyon sıvısında anlamlı düzeyde bulunduğu, 16. ve 20. haftalarda amniyon sıvısında serbest kolin ve fosfolipid bağlı kolin düzeylerinin, gestasyon süresince yükseldiği bildirilmiştir (43). Özgenel ve ark., sıçan siyatik sinirinde yaptıkları deneysel çalışmada,

oluşturulan periferik sinir hasarında topikal olarak insan amniyon sıvısı uygulamışlar ve amniyon sıvısının perinöral skar dokusunu azalttığını ve aksonal rejenerasyonu arttırdığını rapor etmişlerdir (7). İnsan amniyon sıvısının bu etkisinin, içerdiği hyalironik asit ve büyüme faktörlerine bağlı olabileceği belirtilmiştir. İnsan amniyon sıvısında anlamlı derecelerde bulunan kolin varlığının bu etkinlikte rolü olabileceğine ilişkin bir fikir belirtilmemiştir. Literatürde periferik sinir hasarını takiben perinöral skar dokusu ve aksonal rejenerasyon üzerine sitikolinin etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada; sıçan siyatik sinirinde oluşturulan hasarı takiben 8/0 monoflaman sütür ile yapılan primer anastomoz hattına 100 microM konsantrasyonunda topikal sitikolin uygulanmasının perinöral skar dokusu, aksonal rejenerasyon ve fonksiyonel geri kazanım üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nde Mayıs-Ağustos 2004 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada kullanılan ağırlıkları 200 ile 300 gram arasında değişen, 70 adet erişkin Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan, projenin, U.Ü.T.F. Deney Hayvanları Bakım ve Kullanım Komitesi'nin onayını takiben, U.Ü.T.F. Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi.

Tarafsız bir görevli tarafından rastgele belirlenen sıçanlardan, 2 grup oluşturuldu.

1. Deney grubu (DG) (n:35) oluşturulan periferik sinir hasarı ve tamirini takiben sütür hattına 0,4 ml (100 mikroM) sitikolin emdirilmiş 1x2x4 mm boyutlarında absorbe olabilen jelatine sünger (Spongostan, Johnson&Johnson Medical Ltd., Skipton, UK) tübüler olarak sarıldı.

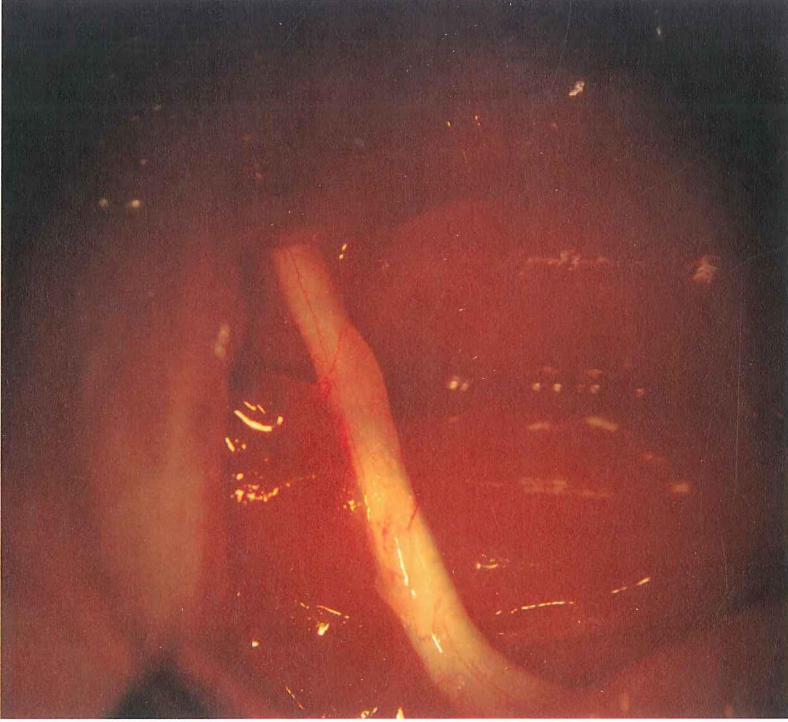
2. Kontrol grubu (KG) (n:35) oluşturulan periferik sinir hasarı ve tamirini takiben 0,4 ml serum fizyolojik emdirilmiş 1x2x4 mm boyutlarında absorbe olabilen jelatine sünger (Spongostan, Johnson&Johnson Medical Ltd., Skipton, UK) tübüler olarak sarıldı.

Çalışmada, 1-3 ml'lik tüpler içerisinde, 100 mikroM konsantrasyonunda hazırlanmış sitikolin solüsyonu kullanıldı.

Tüm sıçanlarda, Tiopental sodyum (Pental^R Sodyum 0,5 flakon: İ.E. Ulagay, İstanbul) 30 mg/kg/ intraperitoneal uygulamasıyla anestezi sağlandı. Sıçanlar prone pozisyona getirildi ve tüm ekstremiteler operasyon masasına tespit edildi. Sağ uyluk ve inguinal bölge altına yerleştirilmiş 1 cm kalınlığında rulo gazlı bez ile operasyon sahasına yükseklik kazandırıldı.

Operasyon sahası povidone Iodine (Glividon, Bikar İlaç San, İstanbul) solüsyonu ile temizlendikten sonra girişim yapılacak saha açık kalacak şekilde deneklerin üzeri steril olarak örtüldü. Cerrahi girişim mikroskop (ZEISS Opmi I, Oberkochen, Germany) altında, mikrocerrahi yöntemler kullanılarak yapıldı. Tüm deneklerde sağ gluteal bölgeden uyluk posterioruna uzanan 3 cm uzunluğunda posterior longitudinal cilt insizyonu yapıldı.

M.gluteus superficialis ile m.biceps femoris kaslarının bileşke hattı ve üzerini çevreleyen fasya künt diseksiyon ile açılarak siyatik sinir ortaya konuldu. Siyatik sinir siyatik foramenden tibial ve peroneal dalların ayrıldığı noktaya kadar olan ünifasiküler olduğu bölümünde, üzerindeki membranöz yapılar ayrıştırılarak çevre dokulardan izole edildi (Resim-3).



Resim-3: Eksplere edilen sıçan siyatik siniri x 4.

Siyatik sinir, siyatik foramenden 10 mm uzaklıkta, rot hook'u ile hafifçe kaldırıldı ve mikro makas kullanılarak, tek hamlede, düzgün sınırlı tam kat sinir kesisi oluşturuldu. Takiben epinöral suture tekniği kullanılarak, proksimal ve distal sinir güdükları 8-0 polypropylene suture (Prolene, Ethicon, Ltd., Somerville, NJ) ile aralarında 180° bulunan iki ayrı noktadan suture edildi ve primer anastomoz sağlandı. Siyatik sinirde oluşturulan kesi ve takiben hemen yapılan primer anastomoz işlemleri esnasında gerginlik oluşturulmamasına dikkat edildi. Yine bu işlemler esnasında meydana gelen küçük kanamalar koagülasyon ile değil kompresyon ile durduruldu. Primer anastomoz uygulanmış deney grubunda (n=35), tamir alanı çevresi 0,4 ml sitikolin emdirilmiş 1x2x4 mm boyutlarında absorbe olabilen jelatine sünger

(Spongostan, Johnson&Johnson Medical Ltd., Skipton, UK) ile tübüler olarak sarıldı. Primer anastomoz uygulanmış kontrol grubunda (n=35) ise tamir alanı çevresi, 0,4 ml serum fizyolojik emdirilmif 1x2x4 mm boyutlarında absorbe olabilen jelatine sünger (Spongostan, Johnson&Johnson Medical Ltd., Skipton, UK) ile tübüler olarak sarıldı. Künt diseksiyon ile ayrıştırılan fasya ve kas dokusunun uygulanan traksiyon serbestleştirildiğinde spontan olarak siyatik sinirin üzerini yeniden kapladığı görüldü, bu nedenle sütüre edilmedi. Cilt 4-0 polypropylene (Prolene, Ethicon, Ltd., Somerville, NJ) ile primer sütüre edildi. Tüm denekler deney sonunda spontan olarak uyandırıldı ve serbest hareket edebilmeleri için kafeslerine bırakıldı.

Sıçanların bakımı ve takibi:

Tüm sıçanlar cerrahi girişim öncesi ve sonrasında her bir kafese 4 sıçan düşecek şekilde kafeslerde barındırıldı. Her kafes numaralandırıldı ve sıçanlar kulaklarına konulmuş işaretler ile birbirinden ayrılarak numaralandırıldı. Cerrahi işlem sonrasında tüm sıçanlar standart sıçan yemi ve su ile beslendi, mobilize olmalarına izin verildi.

Değerlendirme Metodları

a- Makroskobik Değerlendirme: Bütün sıçanlar oluşturulan periferik sinir hasarı ve yapılan cerrahi işlem sonrasında kendilerine yönelik zarar verici davranışları açısından takip edildi. Sağ ayak parmaklarında oluşan hiperemi,  dem ve ülser şeklinde gözlenen bulgular kaydedildi. Postoperatif 4. hafta sonunda her gruptan 10 denek, perinöral fibrozisi değerlendirmek amacıyla Tiopental sodyum (Pental^R Sodyum 0,5 flakon: İ.E. Ulagay, İstanbul) 30 mg/kg/ intraperitoneal uygulamasıyla oluşturulan genel anesteziyi takiben tekrar opere edildi. Eski cilt insizyonu açıldı ve siyatik sinirin evre dokuya olan yapışıklığı ve bu dokulardan ayrılabilirliği değerlendirildi. Değerlendirmede cilt ve adale fasyasının kapanmasını, sinirin evre kas kavitesine yapışıklığını ve bu yapılardan ayrılabilirliğini belirleyen

kriterler, Petersen ve ark., tarafından tarif edilen numerik grade'leme şeması kullanılarak kantitatif skorlara dönüştürüldü (8).

Siyatik sinirler başlangıcı, çevreleyen dokusu ve tamir edilen segmentini içerecek şekilde enblok olarak çıkartıldı ve %10 nötral formaline konuldu. Aynı cerrahi işlemler ve değerlendirme metodları 12. hafta sonunda sakrifiye edilen deneklere de uygulandı. 4. hafta ve 12. hafta sonunda incelemeye alınan deneklerin tamamı uygulanan yüksek doz (150 mg/kg/i.p.) Tiopental sodyum (Pental^R Sodyum 0,5 flakon: İ.E. Ulagay, İstanbul) i.p. ile öldürüldü.

b- Histomorfolojik Değerlendirme: Cerrahiden sonra 4. haftada enblok olarak çıkartılmış ve %10 nötral formalinde fikse edilmiş siyatik sinirlere parafin blok hazırlandı. Tamir sahasından 5 mikron kalınlığında longitudinal ve 1,5 mikron kalınlığında transvers seri kesitler elde edildi. Transvers kesitler Masson trichrome boyası ile, longitudinal kesitler ise Hematoxylin Eosin (H&E) boya ile boyandı. Hem longitudinal ve hem de transvers kesitlerde sinir dokusunu çevreleyen fibroz doku görülebildi. Işık mikroskobu altında, Masson trichrome ile muamele edilmiş transvers kesitlerde, koyu olarak boyanmış konnektif dokunun siniri saran yapısı oldukça belirgin seçilebiliyordu. Epinöral skar dokusunun ve sinir dokusunun kalınlığı oküler mikrometre (Olympus Eyepiece micrometer, Ax-0026) ile ölçüldü. Epinöral skar dokusunun kalınlığı sinir dokusunun kalınlığına bölünerek Skar Formasyon İndeksi elde edildi. H&E ile boyanmış longitudinal kesitlerde, beşli değerlendirme skalası ile aksonal rejenerasyon değerlendirildi (7) (Tablo-2).

Tablo-2: Aksonal organizasyonun beşli değerlendirme skalası (7).

Grade	Tanımlama
1	Başarısız, proksimalden distalin bitimine kadar akson devamlılığı yok
2	Tamir sahasında kötü organizasyon
3	Tamir sahasında vasat organizasyon
4	Tamir sahasında iyi organizasyon; aksonal dallanma normal
5	Normalden ayırt edilemeyen mükemmel organizasyon

Cerrahi işlem sonrası 12. haftada enblok olarak çıkartılmış ve %10 nötral formalinde fikse edilmiş deney grubundan 25, kontrol grubundan 21 siyatik sinir histomorfolojik incelemeye alındı. Tamir sahasını içeren 5 mikron kalınlığında longitudinal kesitler H&E ile boyandı. Tamir sahasının 5-10 mm distalinden alınan transvers kesitlerde Weil metodu ile myelin boyaması yapıldı (7) (Weil metodu: 6 ay olgunlaşmış hematoxylin 5 cc, %4'lük Ferric Ammonium Sülfat (Iron Alum) 50 cc, ayrışım için borax ve potassium ferricyonide). Tamir sahasından elde edilen 5 mikron kalınlığındaki longitudinal kesitlerde aksonal rejenerasyonun longitudinal organizasyonu beşli değerlendirme skalası ile değerlendirildi (7). Deney grubundan 25, kontrol grubundan ise 21 sıçandan elde edilen myelin boyası yapılmış transvers kesitlerde x 400 büyütmede kare saymalı oküler mikrometre (Olympus Eyepiece Micrometer OC-M-19m/m square 10/10x10) kullanılarak akson sayıları hesaplandı. Bir oküler girid yüzey alanındaki 100 kareden 10 tanesi rastgele seçildi ve myeline olmuş aksonların sayımında kullanıldı. Elde edilen 10 ayrı değer birbiriyle toplandı ve 1 karesinin alanı 625 mikron² (10 tanesi 6250 mikron²) olan oküler metre'den yola çıkılarak 1 mm²'lik alandaki akson sayısına normalize edildi. Myelin boyası uygulanmış transvers kesitlerde aksonal maturasyonun değerlendirilmesi açısından ortalama lif çapı ve akson çapı oküler mikrometre (Olympus Eyepiece micro meter, Ax-0026) ile ölçüldü. Her preparatta 10 tane lif ve aksonun çapı ölçülüp ortalamaları alındı. Bu işlem ışık mikroskopunda ve x 400 büyütmede gerçekleştirildi.

c- Fonksiyonel Değerlendirme: Tüm sıçanlar, her iki arka ayakları mürekkebe batırıldıktan sonra, 144x10x10 cm boyutlarında oluşturulmuş bir yürüme yolu koridorunda yürütüldü. Yürüme işlemi en iyi bası uzunluğu ve parmak arası mesafeler görülene dek birkaç defa tekrarlandı. Cerrahi işlem yapılmadan önce tüm sıçanların bazal yürüyüşleri gerçekleştirildi. Cerrahi işlemi takiben 4. - 8. ve 12. haftalarda yürüme yolu analizleri tekrar edildi. Tüm sıçanlarda fonksiyonel değerlendirme, tanımlanan SFİ formülü kullanılarak kaydedildi.

d- Elektrofizyolojik Değerlendirme: Tüm EMG kayıtları, Dantec Keypoint 4 (Medtronic, Skovlunde, Denmark) marka cihazda gerçekleştirildi. Tüm sıçanlarda, Tiopental sodyum (Pental^R Sodyum 0,5 flakon: İ.E. Ulagay, İstanbul) 30 mg/kg/ intraperitoneal uygulamasıyla anestezi sağlandı. Sıçanlar prone pozisyona getirildi ve tüm ekstremiteler flaster yardımıyla EMG uygulanacak masaya fikse edildi. Kayıtlar m.gastrocnemius'tan yapıldı. Aktif kayıtlayıcı elektrod olarak kullanılan cup elektrod m.gastrocnemius karıncığının üzerine, referans cup elektrod ise ayak sırtına yerleştirildi. Toprak elektrod olarak kullanılan cup elektrod karına yerleştirildi. Uyarıcı katod elektrod olarak monopolar iğne, anod olarak ise yine cup elektrod kullanıldı. Katod ile anod uçlar arası mesafenin 2 cm olmasına dikkat edildi. Gluteal bölgede cilt üzerinde Ophthalmic Knife (MANI) ile oluşturulmuş yaklaşık 1-2 mm'lik bir delikten monopolar iğne elektrodu ile girildi. İğne elektrodu siyatik sinire en yakın noktada konumlandırıldı. Uyarılar 0,04 msn'lik sürelerle, giderek artan şiddette verildi. Klinik olarak en iyi plantar fleksiyonun gözlendiği konumda EMG'de en iyi cevap kaydedildi (Şekil-4). Cevabın izoelektrik hattan elektronegatif olarak başlamasına ve artefaktın en az olmasına dikkat edildi. Oluşan bileşik kas aksiyon potansiyelinin amplitüdü, süresi, alanı ve latansı kaydedildi. Sıçanlarda lezyon oluşturulduktan ve tamir edildikten sonra 1. ay ve 3. ayda EMG kayıtlamaları yapıldı. Yerleştirilen monopolar iğne elektrodunun lezyon proksimalinde kalmasına özen gösterildi. Tüm sıçanlarda 1. ve 3. ay arasında elde edilen anlamlı sinir aksiyon potansiyeli amplitüd değerleri deney ve kontrol grubunun karşılaştırılmasında kullanıldı.

İstatistiksel Analiz

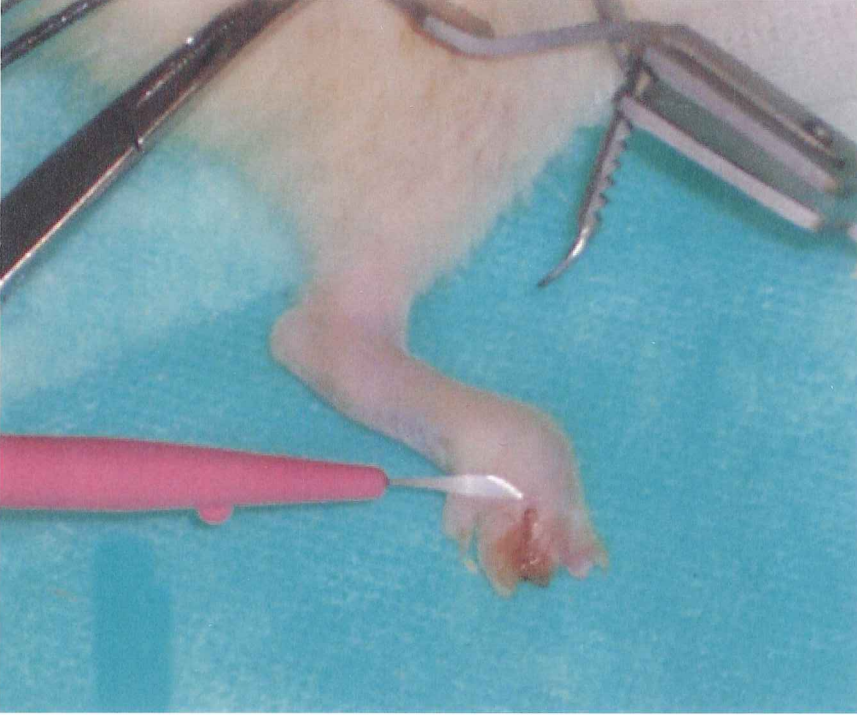
Sitikolin ve serum fizyolojik ile tedavi edilen 2 ayrı grupta, elde edilen makroskopik değerlendirme sonuçları, sinir onarım bölgesinde oluşan organizasyonun histolojik analizi, fonksiyonel değerlendirme sonuçları (SFI, EMG), akson ve lif çapı sonuçları Mann-Whitney-U testi ile değerlendirildi. Skar formasyon indeksi ve akson sayısı sonuçları ise student-t testi ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Ayrıca siyatik fonksiyon indeksi açısından 4.-8. ve 4.-12. haftalar arasındaki % değişim istatistiksel olarak analiz edildi. Kantitatif sonuçların tümü aritmetik ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi ve istatistiksel analizde $p < 0,05$ sonucu anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Cerrahi Girişim Sonuçları

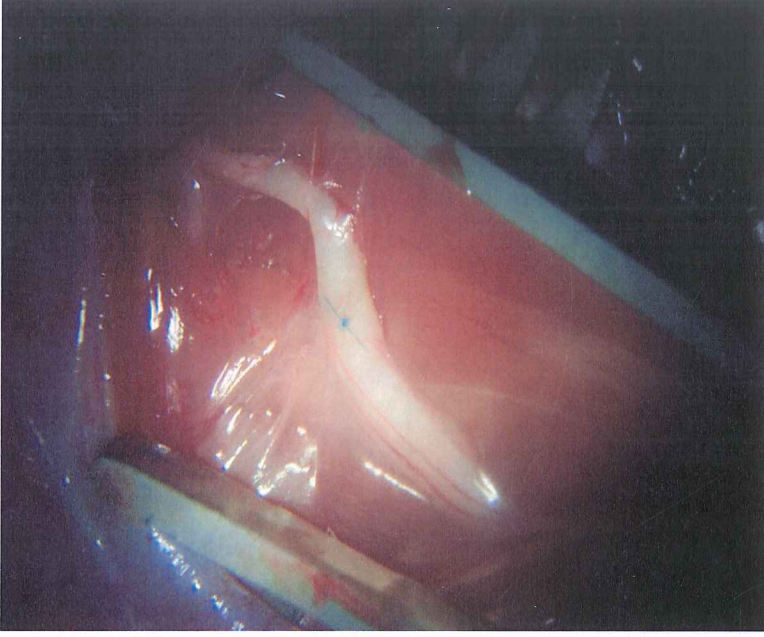
Kontrol grubundan (n=35) 3 sıçan cerrahi işlemden 4 hafta sonra yapılan EMG kayıtları sırasında, 1 diğer sıçan ise cerrahi işlem sonrası 10. haftada kaybedildi. Sitikolin tedavisi uygulanan sıçanlarda ölen olmadı.

İlk 4 haftalık süreçte DG'ndaki hayvanlardan 8'inde sağ ayak 3., 4. ve 5. parmaklarında ödem-hiperemi ve bu hayvanların 3'ünde 4 ve 5. parmaklarında kemirmeye bağlı ülser yaralar oluştu. SF ile tedavi edilen grupta ise 4 haftalık süreçte 7 hayvanda sağ ayak 3., 4. ve 5. parmaklarında ödem-hiperemi ve bu hayvanların 6'sında yine parmak uçlarında kemirmeye bağlı ülser yaralar oluştu (Resim-4).



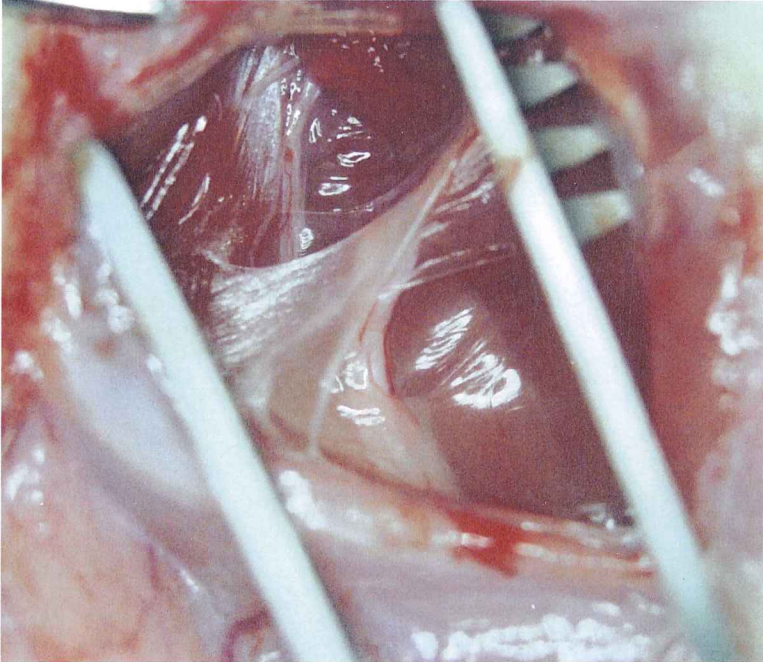
Resim-4: Nöropatik ağrıya bağlı sağ ayakta görülen self mutilasyon bulguları

Deneklerin kendilerine yönelik zarar verici davranışları ilk 4 haftalık süreçte ortaya çıktı. Sadece KG'ndan bir hayvanda 10. haftada, sağ bacak ön yüzünde yine kemirmeye bağlı yaklaşık 1 cm çapında ülser yara



Resim-5: Deney grubunda, cerrahi sahada oluşan ince membranöz dokunun makroskobik görünümü x 4.

KG'nda ise, siyatik sinir ve tamir alanı etrafında çevre dokuya yapışıklığa neden olmuş kalın bir konnektif doku tabakası mevcuttu. Sinir yapışıklığı ve ayrılabilirliği sıklıkla keskin diseksiyona ihtiyaç gösteriyordu (Resim-6).



Resim-6: Kontrol grubunda, cerrahi sahada oluşan kalın konnektif dokunun makroskobik görünümü x 4.

Değerlendirme Petersen ve ark., tarafından tarif edilen numerik değerlendirme skalasına göre yapıldı (8). DG'nda KG'na oranla daha düşük skorlar elde edildi. Sonuçlar Mann-Whitney-U testi ile analiz edildi ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu (4.hafta: DG;1,7±0,21 KG;2,7±0,17 p< 0,05, 12.hafta: DG;1,76±0,15 KG;2,36±0,14 p<0,001) (4.Hafta: Tablo-3-4, 12.Hafta: Tablo-5-6).

Tablo-3: 4. Hafta sonunda, Petersen ve ark. Tarafından Tarif Edilen Makroskopik Değerlendirme Skalası: Sitikolin İle Tedavi Edilen Sıçanlar ve Serum Fizyolojik İle Tedavi Edilen Sıçanların Karşılaştırılması

Sıçan No	Cilt Kapanması		Adele fasya kapanması		Sinir yapışıklığı		Sinir ayrılabilirliği	
	Deney Grubu	Kontrol Grubu	Deney Grubu	Kontrol Grubu	Deney Grubu	Kontrol Grubu	Deney Grubu	Kontrol Grubu
1	1	1	1	1	2	3	2	3
2	1	1	1	1	1	3	1	3
3	1	1	1	1	1	3	1	3
4	1	1	1	1	2	3	2	3
5	1	1	1	1	1	3	1	3
6	1	1	1	1	2	2	2	2
7	1	1	1	1	2	3	2	2
8	1	1	1	1	3	3	3	3
9	1	1	1	1	2	2	2	2
10	1	1	1	1	1	2	1	2

Tablo-4: 4. Hafta sonunda Makroskopik Değerlendirme Sonuçlarının İstatistiksel Analizi *

	Deney Gurubu (Ortalama \pm standart hata)	Kontrol Grup (Ortalama \pm standart hata)	P Değeri	Anlamlılık Düzeyi	Uygulanan Test
Cilt Kapanması	1	1	1	$p > 0,05$	Mann-Whitney-U
Adale Kapanması	1	1	1	$p > 0,05$	Mann-Whitney-U
Sinir Yapışıklığı	1,7 \pm 0,21	2,7 \pm 0,17	0,011	$p < 0,05$	Mann-Whitney-U
Sinir Ayrılabilirliği	1,7 \pm 0,21	2,7 \pm 0,17	0,011	$p < 0,05$	Mann-Whitney-U

*4. Hafta sonunda sakrifiye edilen sıçanlarda, cilt ve adale fasyası kapanması açısından her iki grup arasında fark olmadığı ancak, sinir yapışıklığı ve ayrılabilirliği açısından deney grubundan elde edilen sonuçların çok daha düşük ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür.

Sıçan No	Cilt Kapanması		Adele fasya kapanması		Sinir yapışıklığı		Sinir ayrılabilirliği	
	Deney Grubu	Kontrol Grubu	Deney Grubu	Kontrol Grubu	Deney Grubu	Kontrol Grubu	Deney Grubu	Kontrol Grubu
1	1	1	1	1	2	3	2	3
2	1	1	1	1	2	3	2	3
3	1	1	1	1	3	2	3	2
4	1	1	1	1	2	3	2	3
5	1	1	1	1	2	3	2	3
6	1	1	1	1	2	3	2	3
7	1	1	1	1	1	2	1	2
8	1	1	1	1	1	2	1	2
9	1	1	1	1	1	2	1	2
10	1	1	1	1	3	2	3	2
11	1	1	1	1	1	2	1	2
12	1	1	1	1	2	2	2	2
13	1	1	1	1	2	3	2	3
14	1	1	1	1	1	3	1	3
15	1	1	1	1	1	3	1	3
16	1	1	1	1	1	3	1	3
17	1	1	1	1	2	3	2	3
18	1	1	1	1	2	2	2	2
19	1	1	1	1	1	3	1	3
20	1	1	1	1	3	3	3	3
21	1	1	1	1	2	2	2	2
22	1	1	1	1	1	3	1	3
23	1	1	1	1	1	2	1	2
24	1	1	1	1	1	3	1	3
25	1	1	1	1	2	2	2	2

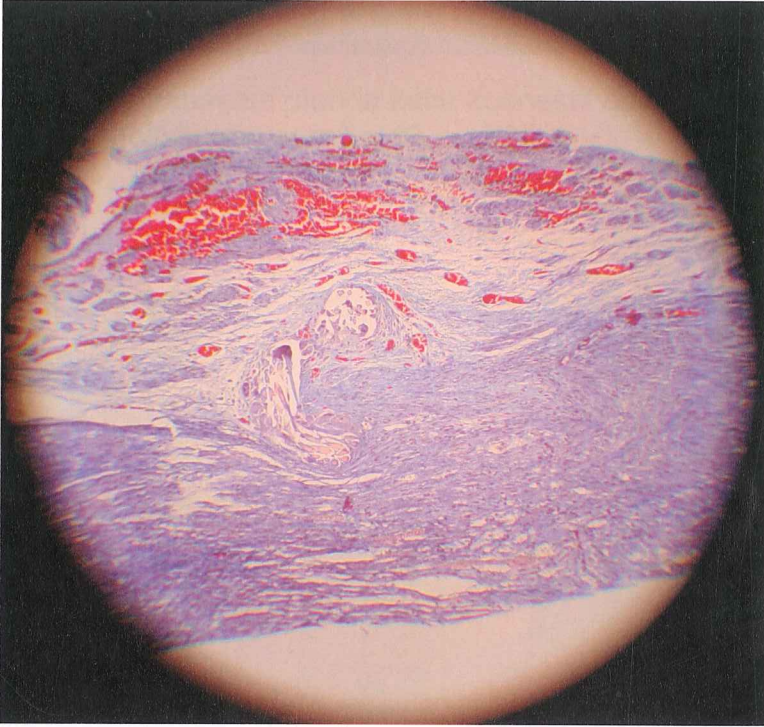
Tablo-6: 12. Hafta Sonunda Makroskopik Değerlendirme Sonuçlarının İstatistiksel Analizi *

	Deney Grubu (Ortalama ± standart hata)	Kontrol Grup (Ortalama ± standart hata)	P Değeri	Anlamlılık Düzeyi	Uygulanan Test
Cilt Kapanması	1	1	1	p > 0,05	Mann-Whitney-U
Adale Kapanması	1	1	1	p > 0,05	Mann-Whitney-U
Sinir Yapışıklığı	1,76±0,15	2,36±0,14	0,007	p < 0,01	Mann-Whitney-U
Sinir Ayrılabilirliği	1,76±0,15	2,36±0,14	0,007	p < 0,01	Mann-Whitney-U

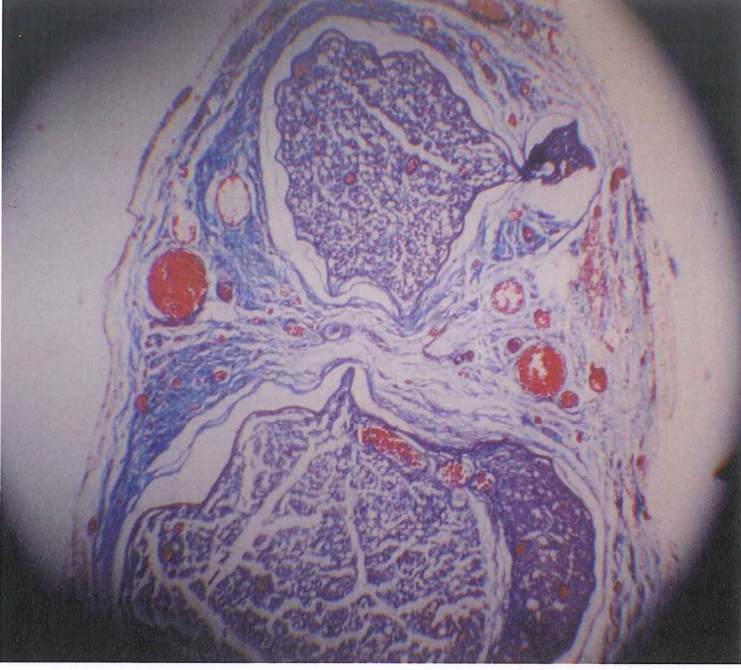
* 12. Hafta sonunda sakrifiye edilen sıçanlarda, cilt ve adale fasyası kapanması açısından her iki grup arasında fark olmadığı ancak, sinir yapışıklığı ve ayrılabilirliği açısından deney grubundan elde edilen sonuçların çok daha düşük ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür.

Histolojik Değerlendirme

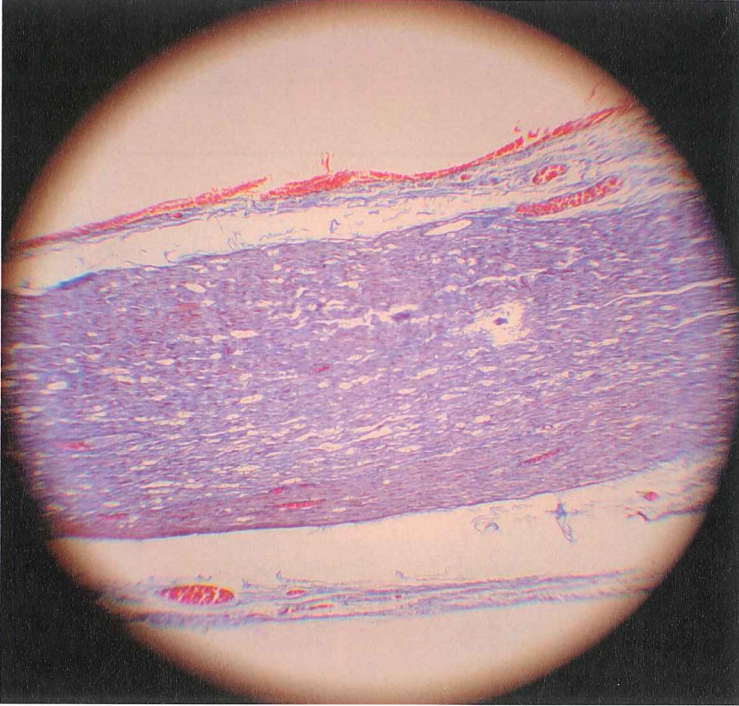
Perinöral skar dokusunun kantitatif histolojik analizi Masson-Trichrome ile boyanmış preparatlarda hesaplanan skar formasyon indeksi kullanılarak yapıldı. KG'nda siniri saran, koyu boyanmış, kalın konnektif dokunun (Resim-7-8); DG'nda ince ve koyu boyanmış bantlar şeklinde olduğu görüldü (Resim-9-10). Skar formasyon indeksi sonuçları student-t testi ile analiz edildi ve DG'nda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük bulundu (DG; $0,177\pm 0,014$, KG; $0,280\pm 0,018$ $p < 0,001$) (Tablo-7-8).



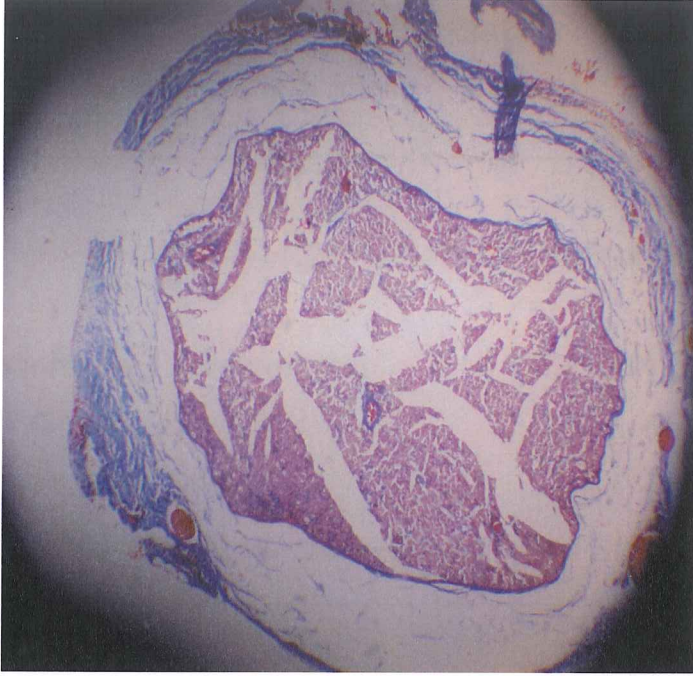
Resim-7: Longitudinal planda kalın konnektif dokunun histomorfolojik görünümü x 40.



Resim-8: Transvers planda kalın konnektif dokunun histomorfolojik görünümü x 40.



Resim-9: Longitudinal planda ince membranöz dokunun histomorfolojik görünümü x 40.



Resim-10: Transvers planda ince membranöz dokunun histomorfolojik görünümü x 40.

Tablo-7: Epinöral Skar Dokusunun Kantitatif Histolojik Analizi

Sıçan No	Deney Grubu	Kontrol Grubu
1	0,151	0,279
2	0,160	0,405
3	0,125	0,250
4	0,225	0,322
5	0,200	0,321
6	0,097	0,208
7	0,238	0,243
8	0,181	0,310
9	0,175	0,230
10	0,225	0,233

Tablo-8: 4. Hafta Sonunda Epinöral Skar Dokusuna Ait Kantitatif Değerlerin İstatistiksel Analizi *

	Deney Grubu	Kontrol Grubu
Ortalama ± Standart Hata	0,177±0,014	0,280±0,018
P Değeri	p = 0,000	
Anlamlılık Düzeyi	p < 0,001	
Uygulanan Test	Student-T	

* 4. Hafta sonunda sakrifiye edilen sıçanlarda, epinöral skar dokusunun kantitatif histolojik analizinde; skar formasyon indeksi değerlerinin deney grubunda, kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük olduğu saptanmıştır.

Sinir onarım bölgesinde proksimalden distale aksonal organizasyonun beşli değerlendirme skalası ile elde edilen veriler Mann-Whitney-U testi ile analiz edildi. 4. haftada sakrifiye edilen sıçanlardan elde edilen siyatik sinir longitudinal kesitlerinde yapılan değerlendirmede, DG'nda aksonal organizasyon açısından skorların daha yüksek olmasına rağmen anlamlı istatistiksel fark olmadığı görüldü (DG;2,8± 0,13 KG;2,3±0,15 p> 0,05) (Tablo-9-10)

Tablo-9: Sinir Onarım Bölgesinde Organizasyonun Histolojik Analizi (4. Hafta)

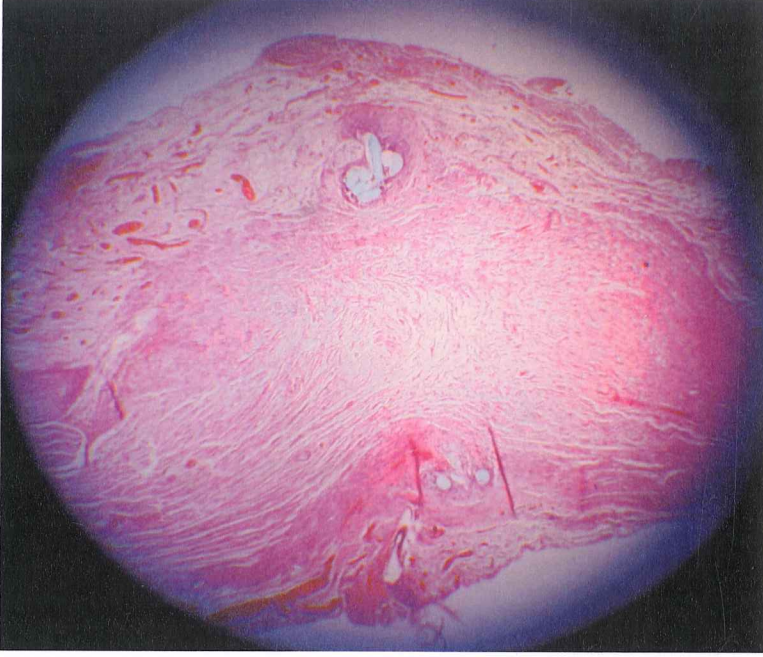
Sıçan No	Deney Grubu	Kontrol Grubu
1	3	2
2	3	2
3	3	2
4	2	3
5	3	3
6	3	2
7	3	3
8	3	2
9	3	2
10	2	2

Tablo-10: Sinir Onarım Bölgesinde Organizasyonun İstatistiksel Analizi (4.Hafta)

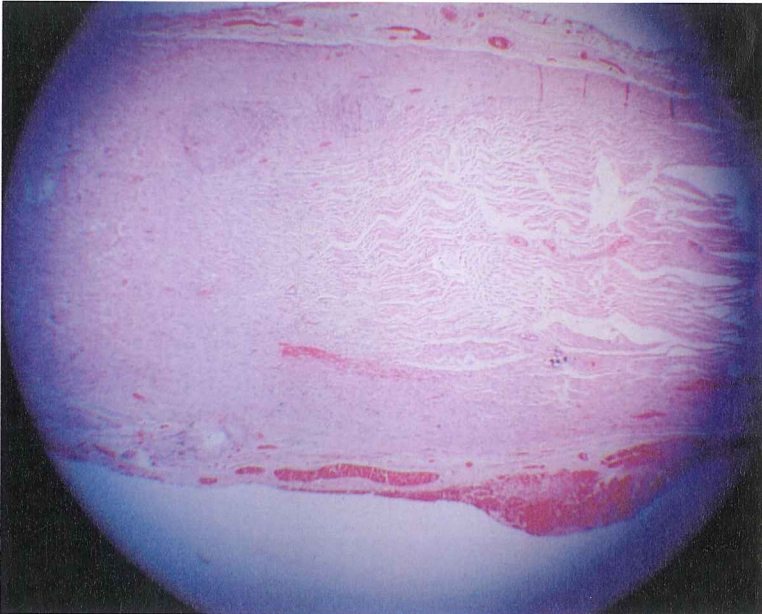
	Deney Grubu	Kontrol Grubu
Ortalama±Standart Hata	2,8±0,13	2,3±0,15
P Değeri	0,63	
Anlamlılık Düzeyi	p > 0,05	
Kullanılan Test	Mann-Whitney-U Testi	

* 4. hafta sonunda sakrifiye edilen sıçanlarda, proksimalden distale, gelişen aksonal organizasyon açısından, her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı.

12. haftada sakrifiye edilen sıçanlarda ise Sitikolin ile tedavi edilen DG'nda proksimalden distale aksonal organizasyon daha belirgindi ve 5'li değerlendirme skalası değerleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (Resim-11-12) (DG;3,4±0,12, KG;2,62±0,33, $p < 0,001$) (Tablo-11-12).



Resim-11: Proksimalden distale, kötü aksonal organizasyonun histomorfolojik görünümü x 40.



Resim-12: Proksimalden distale, iyi aksonal organizasyonun histomorfolojik görünümü x 40.

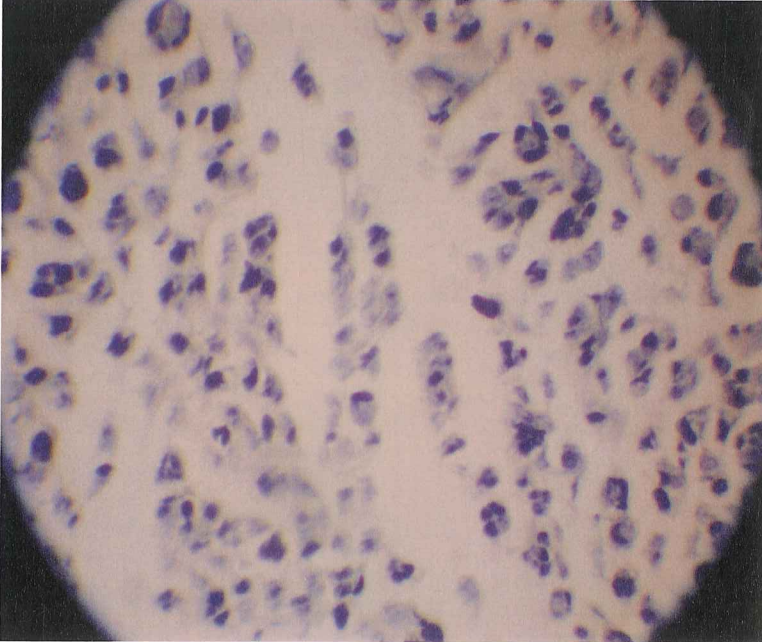
Tablo-11: Sinir Onarım Bölgesinde Organizasyonun Histolojik Analizi
(12. Hafta)

Sıçan No	Deney Grubu	Kontrol Grubu
1	4	3
2	3	3
3	3	3
4	4	1
5	3	3
6	3	2
7	3	2
8	3	3
9	2	3
10	3	3
11	4	3
12	4	3
13	3	2
14	3	3
15	4	2
16	4	3
17	3	3
18	3	3
19	4	2
20	3	2
21	4	3
22	4	
23	4	
24	4	
25	3	

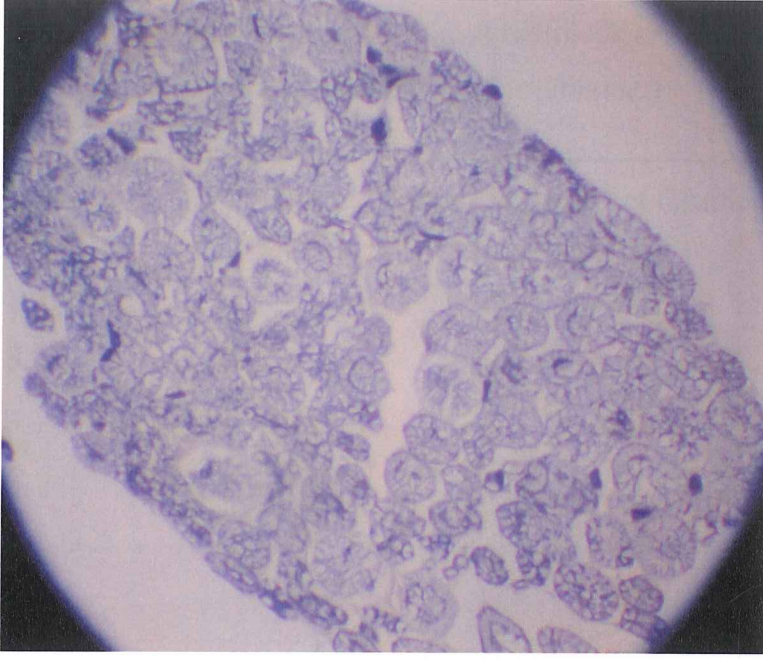
Tablo-12: Sinir Onarım Bölgesinde Organizasyonun İstatistiksel Analizi *
(12.Hafta)

	Deney Grubu	Kontrol Grubu
Ortalama±Standart Hata	3,4±0,12	2,62±0,33
P Değeri	0,000	
Anlamlılık Düzeyi	p < 0,001	
Kullanılan Test	Mann-Whitney-U Testi	

* 12. hafta sonunda sakrifiye edilen sıçanlarda, proksimalden distale, gelişen aksonal organizasyon açısından, deney grubundan elde edilen kantitatif sonuçların kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha iyi olduğu saptandı.



Resim-13: Az sayıda, immatür aksonun histomorfolojik görünümü x 400.



Resim-14: Çok sayıda, matür aksonun histomorfolojik görünümü, orijinal magnifikasyon x 400.

12. hafta sonunda myelin boyası ile hazırlanmış transvers kesitlerde akson çapı, lif çapı ve akson sayısı hesaplamaları yapıldı. Akson sayısı sonuçları student-t testi ile analiz edildi ve DG'nda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (Resim-13-14) (DG;22246,4±658,30, KG;16396,19±595,56, $p < 0,001$) (Tablo-13-14).

Tablo-13: Aksonal rejenerasyonun histolojik analizi
(1 mm² deki akson sayısı ile değerlendirilmesi)

Sıçan No	Deney Grubu	Kontrol Grubu
1	23680	20640
2	22560	16000
3	24160	14560
4	24640	9440
5	16640	17760
6	23680	15840
7	20320	14560
8	18720	15520
9	17280	18560
10	18560	17120
11	25760	18400
12	24320	20800
13	19840	13440
14	21600	17440
15	24960	14080
16	19360	15520
17	23680	19360
18	18400	19360
19	27520	13920
20	19360	14560
21	26880	17440
22	27680	
23	23840	
24	24000	
25	18720	

Tablo-14: Akson Sayımı Değerlerinin İstatistiksel Analizi *

	Deney Grubu	Kontrol Grubu
Ortalama±Standart Hata	22246,4±658,30	16396,19±595,56
P Değeri		0,000
Anlamlılık Düzeyi		p < 0,001
Kullanılan Test		Student-T

* 1 mm² alanda normalize edilmiş akson sayısı değerlerinin, deney grubunda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu.

Akson çapı ve lif çapı Mann-Whitney-U testi ile analiz edildi ve akson çapı sonuçları DG'nda anlamlı düzeyde yüksek bulundu (DG;6,65±0,28, KG;5,47±0,25, p< 0,01) (Tablo-15-16). Lif çapı sonuçları DG'nda daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamlılık taşııyordu (DG;13,43±2,59, KG;10,39±0,45, p> 0,05) (Tablo-15-17) (Resim-13-14).

Tablo-15: Aksonal matürasyonun histolojik analizi *
(Akson çapı ve lif çapı ile değerlendirilmesi)

Sıçan No	Deney Grubu		Kontrol Grubu	
	Akson Çapı	Lif Çapı	Akson Çapı	Lif Çapı
1	10	12,5	5	10
2	5	11,5	3,75	7,5
3	7,5	10	6,25	10
4	7,5	12,5	6,25	11,25
5	5	7,5	5	11,25
6	6,25	10	3,75	7,5
7	6,25	10	7,5	15
8	7,5	10	5	7,5
9	6,25	10	7,5	12,5
10	6,25	10	7,5	15
11	5	10	5	10
12	6,25	12,5	5	10
13	10	15	5	10
14	7,5	12,5	5	10
15	6,25	10	7,5	12,5
16	7,5	11,25	5	10
17	5	10	5	10
18	6,25	12,5	5	8,25
19	7,5	10	5	10
20	7,5	12,5	5	10
21	7,5	12,5	5	10
22	5	12,5		
23	5	10		
24	7,5	12,5		
25	5	7,5		

* Birim olarak mikron kullanılmıştır.

Tablo-16: Akson Çapı Değerlerinin İstatistiksel Analizi *

	Deney Grubu	Kontrol Grubu
Ortalama±Standart Hata	6,65±0,28	5,47±0,25
P Değeri	0,004	
Anlamlılık Düzeyi	p < 0,01	
Kullanılan Test	Mann-Whitney-U	

* Oküler mikrometre kullanılarak ölçülen akson çapı değerlerinin, deney grubunda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde büyük olduğu bulundu.

Tablo-17: Lif Çapı Değerlerinin İstatistiksel Analizi *

	Deney Grubu	Kontrol Grubu
Ortalama±Standart Hata	13,43±2,59	10,39±0,45
P Değeri	0,148	
Anlamlılık Düzeyi	p > 0,05	
Kullanılan Test	Mann-Whitney-U	

* Oküler mikrometre kullanılarak ölçülen lif çapı değerlerinin istatistiksel analizinde, deney ve kontrol grupları arasında fark olmadığı saptandı.

Fonksiyonel Değerlendirme

4. hafta sonunda yapılan yürüme yolu analizi sonuçları Mann-Whitney-U testi ile analiz edildi ve DG'nda fonksiyonel geri kazanımın anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptandı (DG;-83,51±1,3, KG;-89,95±1,01, $p < 0,001$) (Tablo-18-19). Bu nedenle 8. ve 12. haftalarda iki grup arasındaki SFİ farklarının sadece uygulanan tedaviden değil 4. haftada ortaya çıkan bu farktan kaynaklanabileceği düşünülerek 4.-8. ve 4.-12. haftalar arasındaki % değişim oranları kullanılarak istatistiksel analiz yapıldı. Hem 4.-8. hem de 4.-12. haftalar arasında iki grup arasındaki yapılan karşılaştırmada DG'nda % değişim açısından anlamlı fark saptandı (4.-8.hafta:DG; %28±0,028, KG;%16±0,039, $p < 0,001$, 4.-12.hafta:DG;%46±0,028, KG; %27±0,020, $p < 0,001$) (Tablo-20). Değerlendirme Mann-Whitney-U testi ile yapıldı.

Tablo-18: Siyatik Fonksiyon İndeksi Değerlerinin Karşılaştırılması
(4-8-12. Haftalar)

Sıçan No	Deney Grubu			Kontrol Grubu		
	4. Hafta	8. Hafta	12. Hafta	4. Hafta	8. Hafta	12. Hafta
1	-68,45	-39,26	-39,26	-93,61	-69,04	-51,75
2	-81,56	-97,22	-89,02	-60,94		
3	-86,24			-95,81		
4	-77,67	-64,41	-41,98	-95,89		
5	-75,12	-64,54	-35,88	-91,46		
6	-78,76	-69,06	-44,5	-90,37	-82,21	-67,18
7	-78,48			-90,37	-82,2	-80,92
8	-88,07	-55,86	-39,76	-90,37	-82,2	-60,34
9	-84,22	-75,29	-56,106	-98,49	-89,04	-79,43
10	-88,66	-51,78	-50,59	-88,32		
11	-66,16			-95,65	-76,64	-73,55
12	-85,58	-73,84	-47,76	-93,01		
13	-77,57			-92,9		
14	-95,85	-72,71	-53,97	-92,73	-84,96	
15	-77,27			-95,89	-82,02	-67,18

17	-87,16	-58,12	-34,63	-95,83	-64,52	-61,91
18	-86,14	-53,77	-48,21	-92,73	-84,96	-63,75
19	-96,77	-73,29	-70,73	-91,46	-77,25	-63,03
20	-88,85			-88,9		
21	-77,16			-91,46	-82,95	-63,62
22	-84,73			-90,31	-73,97	-67,12
23	-87,16	-78,85	-63,68	-83,69		
24	-91,64	-69,74	-42,42	-82,65	-80,13	-72,7
25	-77,25	-55,26	-33,33	-83,05		
26	-97,22	-74,03	-52,16	-97,16	-89,04	-67,18
27	-77,85	-49,74	-47,17	-83,69	-75,97	-61,75
28	-80,84	-71,37	-34,49	-78,85		
29	-85,71	-52,27	-37,48	-84,84	-62,91	-60,34
30	-84,95	-44,45	-29,85	-84,06		
31	-91,46	-29,45	-9,91	-92,57	-75,89	-63,00
32	-89,24	-57,68	-50,83	-91,97	-77,62	-69,69
33	-83,91	-53,11	-51,83	-75,36		
34	-89,71	-74,03	-70,53	-85,02	-85,02	-77,25
35	-66,57			-77,03		

Tablo-19: Siyatik Fonksiyon İndeksinin İstatistiksel Analizi *

	Ortalama±Standart Hata		
	4. Hafta	8. Hafta	12.Hafta
Deney Grubu	-83,51±1,30	-61,11±2,52	-45,78±2,65
Kontrol Grubu	-89,95±1,01	-76,19±3,55	-66,21±1,59
P Değeri	0,000		
Anlamlılık Düzeyi	p < 0,001		
Kullanılan Test	Mann-Whitney-U		

* 4. hafta sonunda yapılan yürüme yolu analizinden elde edilen siyatik fonksiyon indeksi değerlerinin deney grubunda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha iyi olduğu saptandı. 8. ve 12. haftalarda %'de değişim açısından karşılaştırıldı.

Tablo-20: Siyatik Fonksiyon İndeksinin % Değişim Açısından Karşılaştırılması *

	4.-8. Hafta	4.-12. Hafta
Deney Grubu	-0,28±0,028	-0,46±0,028
Kontrol Grubu	-0,16±0,039	-0,27±0,020
P Değeri	0,000	0,000
Anlamlılık Düzeyi	p < 0,001	p < 0,001
Kullanılan Test	Mann-Whitney-U	Mann-Whitney-U

* 8. ve 12. haftalarda siyatik fonksiyon indeksinin % değişimi deney grubunda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha iyi olduğu görüldü.

Elektrofizyolojik Değerlendirme

Elde edilen elektrofizyolojik kayıtlamalardan sinir aksiyon potansiyel amplitüd değerleri istatistiksel olarak analiz edildi. 4. hafta sonunda DG ve KG arasında anlamlı fark saptanmadı (DG;2,08±0,23, KG;2,23±0,22, $p > 0,05$). 12. hafta sonunda elde edilen değerlerin istatistiksel analizinde ise DG'nda sinir aksiyon potansiyellerinin anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı (DG;4,56±0,34, KG;3,47±0,38, $p < 0,05$). Değerlendirme Mann-Whitney-U testi ile yapıldı (Şekil-4) (Tablo-21-22).

Tablo-21: 4. ve 12. Haftada Elektrofizyolojik Kayıtlar *

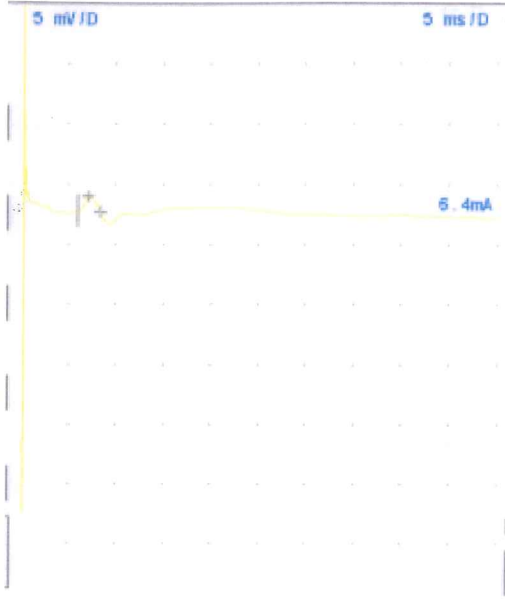
	EMG		EMG	
	4.Hafta		12.Hafta	
	Deney Grubu	Kontrol Grubu	Deney Grubu	Kontrol Grubu
1-	1,6	0,7	6,2	1,9
2-	1	1,7		2,1
3-	6,6	1,2		
4-	3	1,8		
5-	4,1	3,7	4,2	
6-	1,4	3,4	4,9	6,7
7-	1,2	1,3		3,7
8-	1,2	2,2	3,9	5,1
9-	1,3		6,4	2,5
10-	0,7	3,8	2,5	
11-	3			2,5
12-			1,9	
13-	1	2,3		
14-	1,1	3,3	5,3	
15-	2,1	2,5		4,8
16-	1,4	1,1	2,7	3,3
17-	4	1,3	4,7	2,9
18-	1,5	1,5	4	2
19-	1,6	5,4	2,9	6,1
20-	1,5	1,9		
21-	2,4	3		4,4
22-	0,8	1,5		5,9
23-		2,1	5,8	
24-		1,6	5,1	2,6
25-		0,6	3,6	
26-	1,3	3,3	3,4	
27-		1,1	4,1	2
28-	2,8	3,3	8,1	
29-	2,9		5,1	0,6
30-	1,6	3,6	7,7	
31-	3,8		6,7	3,2
32-	2,1	3,5	4,3	5,2
33-	1,7		3,5	
34-	2	1,1	2,5	1,8
35-	1,8	1		

* Sinir aksiyon potansiyeli amplitüd değeri milivolt olarak ölçülmüştür.

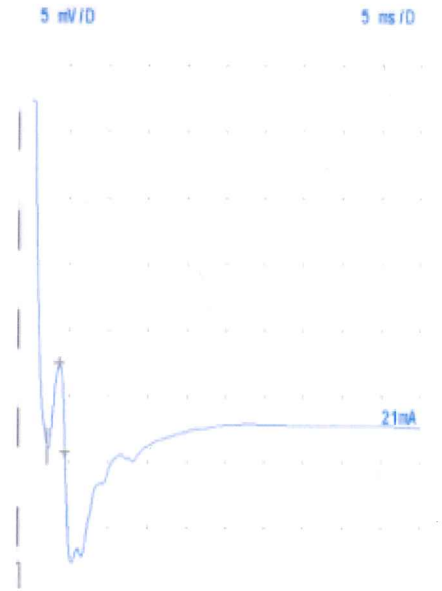
Tablo-22: Elektrofizyolojik Kayıtların İstatistiksel Analizi *

Deney Grubu	Kontrol Grubu	P Değeri	Anlamlılık Düzeyi	Kullanılan Test
4. Hafta	2,08±0,23	0,534	p > 0,05	Mann-Whitney-U
12.Hafta	4,56±0,34	0,039	p < 0,05	Mann-Whitney-U

* 4. haftada yapılan elektrofizyolojik değerlendirmelerde, deney grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı istatistiksel fark olmadığı, 12. haftada yapılan elektrofizyolojik değerlendirmelerde ise deney grubunda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde iyileşme olduğu saptandı.

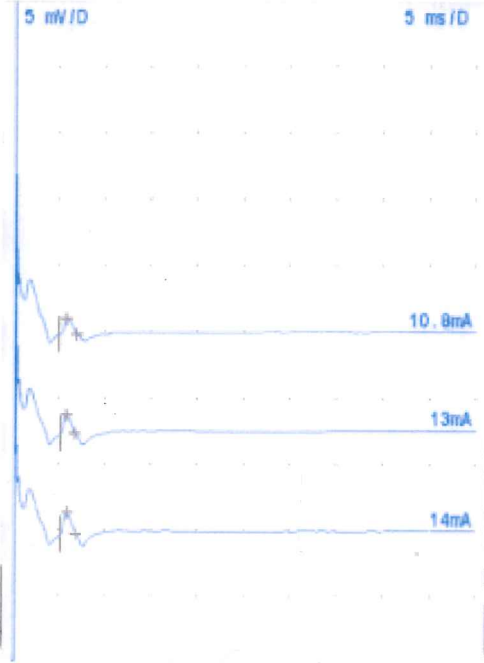


4. hafta

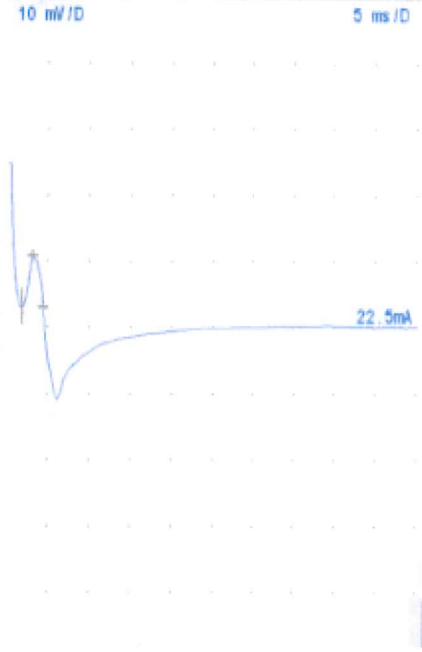


12. hafta

Deney grubundan 9 nolu sıçana ait 4. ve 12. hafta elektrofizyolojik kayıtlama sonuçları.

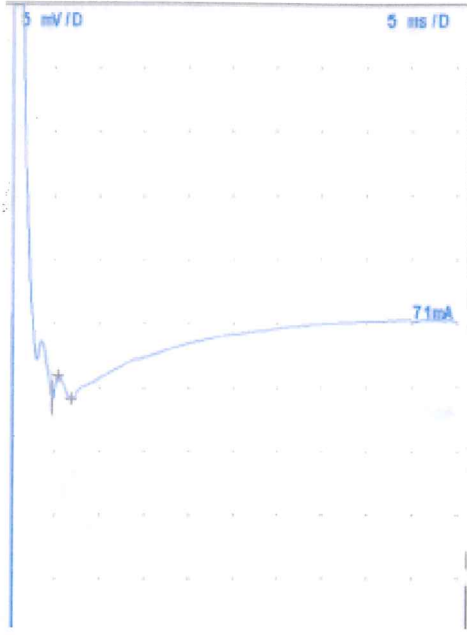


4. hafta

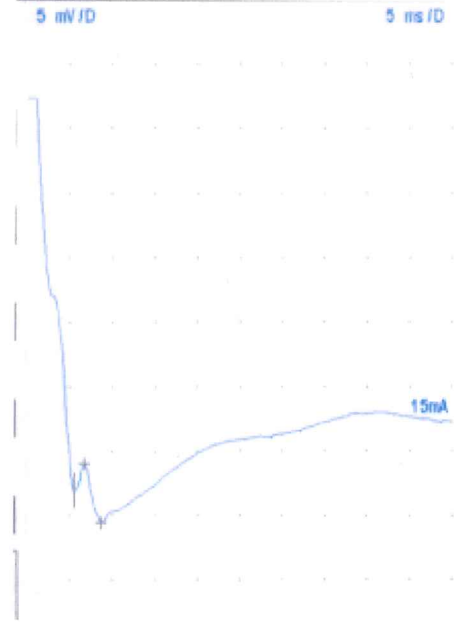


12. hafta

Deney grubunda bulunan 30 nolu sıçana ait 4. ve 12. hafta elektrofizyolojik kayıtlama sonuçları.

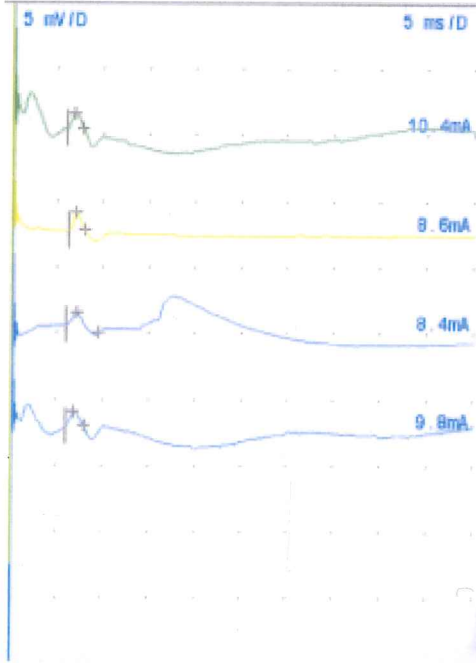


4. Hafta

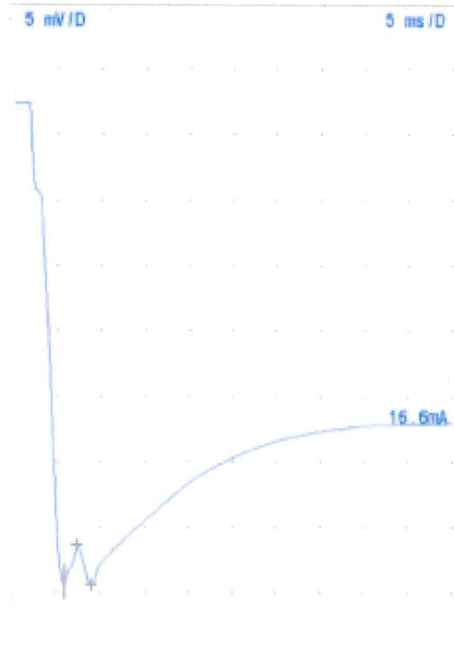


12. Hafta

Kontrol grubunda bulunan 2 nolu sıçana ait 4. ve 12. hafta elektrofizyolojik kayıtlama sonuçları.



4. Hafta



12. Hafta

Kontrol grubunda bulunan 18 nolu sıçana ait 4. ve 12. hafta elektrofizyolojik kayıtlama sonuçları.

Şekil-4: Deney ve Kontrol grubundan seçilen sıçanlardan elde edilen elektrofizyolojik kayıtlama sonuçları. Deney grubunda bulunan 8 ve 29 nolu sıçanlardan elde edilen sinir aksiyon potansiyellerinin, 4. ve 12. haftalar arasındaki değişimi oldukça belirgin olmasına karşın, kontrol grubunda bulunan 31 ve 47 nolu sıçanlardan elde edilen sinir aksiyon potansiyellerinin, 4. ve 12. haftalardaki değişimi daha düşük seviyelerdedir.

TARTIŞMA

İdeal sinir onarımında etkili olabilecek birçok faktör vardır. Bunlar arasında sinir yaranmasından sonra canlı kalan nöronların sayısı, hedef dokunun durumu, geniş sinir yaranmasından sonra kullanılacak olan greftlerin özellikleri, sinir rejenerasyon ve yönlendirilmesindeki kapasite, onarım bölgesindeki sinirlerin uygunluk ve doğruluk oranları gibi faktörler sayılabilir (32). Günümüzde anatomik olarak akson-aksona rekonneksiyon ve ciddi sinir yaranması sonrası normal fonksiyonun geri getirilmesi doğru yaklaşım olarak kabul edilmektedir (1). Aksonal filizlenme, büyüme ve reinnervasyon ile sonuçlanan aksonal rejenerasyonun sinir sistemi içine integre olması, bu kompleks sürecin önemli bir bölümüdür (32).

Fu ve Gordon, aksotomize nöronlarda yeniden innervasyonun gerçekleşebilmesi için öncelikle nöronun hayatta kalması gerektiğini ve spinal motor nöronların hasar ile indüklenen hücre ölümüne karşı diğer nöronlara oranla daha hassas olduklarını bildirmişlerdir (27). Bu yazarlara göre, Lo ve ark., 1995'te aksotomize nöronların apoptozis ile öldüklerini, apoptozun karakteristik morfolojik değişiklikleri ile birlikte sonuçta DNA fragmentasyonunun gerçekleştiğini belirtmişlerdir (27). Alvarez ve ark., tarafından sıçanlarda yapılan bir çalışmada, β -amiloid fragman implantasyonu ve hipoperfüzyon ile indüklenen nörodejenerasyonda; sistemik olarak uygulanan sitikolinin doza bağımlı olarak apoptozisi engellediği ve nöron koruyucu olduğu gösterilmiştir (51). Adibhatla ve ark., tarafından gerbillerde yapılan bir çalışmada da intraperitoneal olarak uygulanan sitikolinin geçici serebral iskemiden sonra azalan glutatyon seviyesi ve glutatyon redüktaz aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (50). Bizde sitikolini topikal uygulayarak periferik sinir kesisi alanında yüksek konsantrasyonda bulunmasını sağlayıp, hem aksonal rejenerasyon üzerine hemde periferik sinir cerrahisine rejenerasyonun oluşmasındaki önemli engellerden birisi olan skar dokusunun önlenmesi üzerine etkilerini test etmek istedik.

Bir plazmalojen olan 1-alkenil-2-asetil-fosfotidilkolin çok güçlü kimyasal bir mediatördür ve değişik hücre tipleri üzerinde güçlü fizyolojik etkilere sahiptir. En önemli etkilerinden birisi; kan trombositlerinin agregasyonuna ve

degranülasyonuna sebep olmasıdır. Bu nedenle başlangıçta “Platelet-Activating-Factor” (PAF) olarak isimlendirilmiştir. PAF etkisini membran sinyal geçiş mekanizmasını aktifleştirerek sağlamaktadır (52). Çalışmamızda, hasarlanmış ve hemen primer sütün ile tamir edilmiş sıçan siyatik sinirinde, tamir alanı etrafına uygulanan topikal sitikolin tedavisi ile 1-alkenil-2-asetil-fosfotidilkolin sentez ve salınımı aracılığı ile platelet agregasyonunu ve degranülasyonunu arttırdığını düşünmekteyiz. Hasarlanmış sinir alanında CDP-kolin düzeyinin artması özellikle distal sinir güdüğünde Schwann hücre proliferasyonu için gerekli olan PDGF-B ve TGF- β düzeylerinin lokal olarak yükselmesine neden olabilir. Çalışmamızda elde edilen akson-lif çapı gibi aksonal matürasyon değerleri, tamir alanında aksonal organizasyonun kantitatif analizi ve akson sayısı gibi rejenerasyon kriterleri, sitikolin ile tedavi edilen deney grubunda aksonal rejenerasyonun çok daha belirgin olduğunu göstermiştir.

Sitikolinin metabolize olması sonucu ortaya çıkan kolin; S-adenosyl- L-methionine ve sonrada glutatyona dönüşebilen bir maddedir. Glutasyon antioksidan özelliği nedeniyle nöron koruyucu bir ajandır (50). Başkaya ve ark., tarafından sıçanlarda yapılan bir çalışmada sitikolinin travmatik beyin hasarı sonrası beyin ödemi ve kan beyin bariyeri yıkılımlında nöron koruyucu etkinliği araştırılmıştır. Hem hasarlı kortekste hemde travmaya duyarlı hipokampal bölgede travmatik hasar sonrası sekonder hasarın engellenmesinde efektif bir nöron koruyucu ajan olduğu gösterilmiştir (53). Alkan ve ark., tarafından yapılan deneysel çalışmada uygulanan sitikolin tedavisinin iskemik hasarlanmadan koruduğu gösterilmiştir (54). Çalışmamız sonucunda; akson sayısı, akson-lif çapı, EMG ve SFI gibi parametreler ile yapılan değerlendirmelerde; sitikolin ile tedavi edilen deney grubunda, serum fizyolojik ile tedavi edilen kontrol grubuna oranla çok daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Bu veriler ışığında periferik sinir hasarı ve primer anastomozu takiben uyguladığımız topikal sitikolin tedavisinin; aksonotmezisin neden olduğu apopitozis ile gerçekleşen nöronal ölümü engellediği ve aksonal rejenerasyonu potansiyelize ettiğini düşünmekteyiz. Fu ve Gordon, tarafından aksotomize nöronda apopitozun engellenmesinde nörotrofik ajanların

yoğunluğunun artmasının etkili olduğuna dair kanıtlar olduğu bildirilmiştir (27). Sitikolin tedavisi ile sağlanan nöron koruyucu etkinliğin yanı sıra, nörotrofik ajanların sentez ve salınımını artırarak apoptozisi engellediğini düşünmek de mümkündür. Çünkü çalışmamızda kullanılan sitikolin; hem metabolizması sonucu açığa çıkan sitidin ile nükleik asitlerin sentezinde, hemde metionin ile protein sentezinde yer almaktadır (41). Aksotomize nöronda apoptozis ile indüklenen hücrel ölümün topikal veya sistemik olarak uygulanan sitikolin tedavisi ile nasıl engellendiğini gösteren daha detaylı çalışmalar yapılması gerektiği kanısındayız.

Nöronal enerji ihtiyacı sinir hasarını takiben başlayan rejenerasyon sürecinde artmaktadır. Bu enerji ihtiyacı serbest yağ asitlerinin mitokondriye transferi ve anaerobik glikolizin desteklenmesi ile karşılanmaktadır. Rejenerasyon yüksek enerjili substrat metabolizmasının biosentetik yollarda ve aksonal transport sisteminde artırılmasıyla indüklenir. Hart ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada, periferik sinir hasarını takiben intraperitoneal (sistemik) "Acetyl - L -Carnitine" (ALCAR) tedavisi uygulanmış ve hasar sonrası 2 ay gibi geç bir dönemde uygulanmış olmasına rağmen ALCAR'ın sensorinöral ölümü önlediği, aksonal rejenerasyon potansiyelini arttırdığı gösterilmiştir. ALCAR özellikle distal uçta rejenerasyon kabiliyetini, Schwann hücre proliferasyonunu ve bu hücrelerin NGF bağlama kabiliyetini arttırdığı rapor edilmiştir. Bu fonksiyonel geri kazanımın artması şeklinde sonuçlanan terapötik etkinin, rejenerasyonda artmış enerji gereksiniminde oynadığı role bağlanmıştır. Sonuç olarak ALCAR'ın mitokondrial oksidatif enerji metabolizmasında köklü fizyolojik etkilere sahip olduğu vurgulanmıştır (55). Karnitin mekiği iç mitokondrial membran üzerindedir. Sitikolin iç mitokondrial membranda bulunan kardiolipin ve sfingomyelinin prokürsörüdür (44). Kolin; betain aracılığı ile metionine dönüşmektedir. Metionin yıkımı ile oluşan süksinil CoA glukojenik bir bileşiktir ve trikarboksilik asit döngüsü metabolitidir, sonuçta enerji açığa çıkar (56, 57). Alvarez ve ark., tarafından yaşlı insanlarda yapılan bir çalışmada, oral olarak verilen sitikolinin beyinde fosfolipid sentezi ile glükoz metabolizmasını arttırdığı, serbest yağ asit salınımını azalttığı gösterilmiştir (49). Biz,

uyguladığımız sitikolin tedavisinin; iç mitokondrial membran ve glukoz metabolizmasına olan etkileri ve ayrıca trikarboksilik asit döngüsü metaboliti olan süksinil CoA vericisi olması nedeniyle aksonal rejenerasyonda artan enerji ihtiyacına katkı sağladığı kanısındayız.

Sfingomyelin sinir dokusunun membranlarının temel yapısal lipidlerinden biridir, omurgasında bir amino alkol olan sfingozin içermektedir. Sfingozinin 1. karbonundaki alkol grubu fosforilkolin ile esterleşirse sfingomyelin meydana gelir (52). Periferik sinir hasarı ve tamirini takiben tek doz ve topikal olarak uygulanan sitikolin tedavisinin aksonal matürasyon üzerine olan etkinliğini test etmek istedik. Çalışmamızda aksonal rejenerasyon ve matürasyonun değerlendirilmesi 12. haftanın sonunda yapılmıştır. Bu süre; sıçan siyatik sinir modelinde aksonal rejenerasyonun optimal zamanını 12 hafta olarak kabul eden benzer çalışmalar örnek alınarak belirlenmiştir (7, 31, 32). Çalışmamızın sonunda sıçan siyatik siniri tamir alanı distalinden elde edilen, myelin boyası ile boyanmış transvers kesitlerde, ışık mikroskobu altında, myelinize aksonların ortalama çapları ve sayıları hesaplanmıştır. Sitikolin ile tedavi edilen grupta ortalama lif çapı daha yüksek hesaplanmış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görülmüştür. Akson çapı ölçümleri ve birim alanda hesaplanan ortalama akson sayıları ile yapılan değerlendirmede; sitikolin ile tedavi edilen grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek değerler elde edilmiştir. Biz, çalışmamızda uygulanan tek doz-topikal sitikolin tedavisinin; elde ettiğimiz sonuçlar ışığında sfingomyelin sentezine katılarak aksonal matürasyonu artırdığını ve bu sayede aksonal rejenerasyonu güçlendirdiğini düşünmekteyiz.

Fuminori ve arkadaşları., tarafından rejenera olmuş çok sayıda akson bulunmasına rağmen hedef organın uygun olmaması nedeniyle, myelinizasyonun akson hedef organa ulaşmadan meydana geldiği, akson çapı değerinin ise sinirin kaynaklandığı yere bağlı olduğu belirtilmiştir. Bu nedenlere bağlı olarak akson ve lif çapı değerlerinin aksonal matürasyon ile alakalı olduğu, akson sayısı değerinin anlamlı olabilmesi için fonksiyonel değerlendirmede altın standart olarak kabul edilen SFİ ile korele olması

gerektiği vurgulanmıştır. Bu parametrelerin fonksiyon ile ilişkili olabilmesi için uygun hedef organ ve santral sinir sistemi ile integrasyonuna ihtiyaç vardır (32). Çalışmamızda 4. - 8. ve 12. haftalarda yapılan SFİ hesaplamalarında; 4. haftadan itibaren deney grubunda anlamlı fonksiyonel geri kazanım olduğu ve 8. ve 12. haftalarda fonksiyonel iyileşmenin anlamlı derecede % değişim göstererek belirginleştiği bulunmuştur. Ayrıca elektrofizyolojik olarak 12. hafta sonunda istatikselsel olarak anlamlı derecede aksiyon potansiyel amplitüd değerleri kayıtlanmıştır. Elde ettiğimiz bulgular, aksonal rejenerasyon ile fonksiyonel değerlendirme parametreleri arasında korelasyon olduğunu ve bu veriler doğrultusunda topikal ve tekdoz olarak uyguladığımız sitikolin tedavisinin, Evans ve ark., tarafından tarif edilen (36) selektif reinnervasyonu potansiyelize ettiği fikrini desteklemektedir. Ayrıca bizim çalışmamızda, benzer diğer çalışmalardan farklı olarak (7, 8, 11), SFİ ile yapılan değerlendirmede fonksiyonel geri kazanımın istatikselsel anlamlı farkı 4. hafta sonunda ortaya çıkmıştır. Bu veri 100microM konsantrasyonunda topikal sitikolin tedavisinin, aksonal rejenerasyon için kritik kabul edilen ilk 3 günlük süreçte (58) etkin olduğu ve başlangıç gecikme zamanını kısalttığını düşündürmektedir.

Sıçanlarda posterior servikal rizotomi sonrası oluşturulan deafferantasyon sendromunun belirtileri; Lombard ve ark., tarafından n ayaklarına yönelik self mutilasyon davranışları şeklinde tarif edilmiş ve bu durum objektif ağrının spontan kanıtı olarak tanımlanmıştır (59). Hare ve ark. SFİ'nin sensitivitesi ile ilgili yaptıkları çalışmada periferik sinir hasarı oluşturulan bacakta self mutilasyon belirtileri olabileceğinden, ancak kendi çalışmalarında gözlenmediğinden bahsetmişlerdir (31). Çalışmamızda ilk 4 haftalık süreçte deney grubunda 8 hayvanda, kontrol grubunda ise 7 hayvanda; sağ ayak 3.-4.-5. parmaklarında kemirmeye bağlı hiperemi-dem ve ototomiye dönüşen ülsere yaralar şeklinde self mutilasyon davranışları saptanmıştır. Sadece kontrol grubundan bir sıçanda 10. haftada, sağ bacak n yüzünde yine kemirmeye bağlı yaklaşık 1 cm çapında ülsere yara meydana gelmiştir. Self mutilasyon davranışlarının her iki grupta ilk 4 haftalık süreçte ve eşit oranda görülmesi tedaviden bağımsız olduğunu

düşündürmektedir. Sıçan siyatik sinir çalışmalarında SFİ'nin altın standart olarak kabul edildiği düşünülürse, bu çalışmalarda; SFİ değerlerini etkileyecek olan self mutilasyon davranışlarının gözardı edilmemesi gerekmektedir.

Fuminori ve ark.'ları tarafından bildirildiğine göre, elektrofizyolojik kayıtlamada kullanılan sinir ileti hızı parametresi, aksiyon potansiyelinin çok daha hızlı ileten myelize lifleri baz aldığından bu ölçümün; akson çapı, internodal aralık ve myelinizasyon ile alakalı olduğu düşünülmüştür. Sinir aksiyon potansiyelinin amplitüd değeri, myelinize aksonların oluşturduğu toplam elektrik akımına bağlıdır (32). Kim D.H. ve ark., tavşan posterior tibial sinir üzerinde yaptıkları bir çalışmada, sinir aksiyon potansiyeli amplitüd değerinin fonksiyonel geri kazanımın değerlendirilmesinde kullanılabileceğini göstermişlerdir (38). Çalışmamıza benzer bir çalışmada Petersen ve ark., sıçan siyatik siniri modelinde Adkon-T/N etkinliğinin araştırılmasında sinir ileti hızını değerlendirmişler ve istatiksels anlamlı fark elde edemediklerinden bahsetmişlerdir (8). Çalışmamızda m.gastrocnemius'tan yapılan kayıtlamalarda oluşan aksiyon potansiyelinin amplitüdü, süresi, alanı ve latansı kaydedilmiştir. Fonksiyonel geri kazanımın değerlendirilmesinde aksiyon potansiyelinin amplitüdü kullanılmıştır. Elektrofizyolojik olarak 4. hafta sonunda her iki grup arasında anlamlı fark olmamasına rağmen, 12. hafta sonunda sitikolin ile tedavi edilen grupta aksiyon potansiyelinin amplitüd değerlerinin belirgin olarak yüksek olduğu saptanmıştır. Elde ettiğimiz bulgulara göre elektrofizyolojik kayıtlamaların; periferik sinir hasarında fonksiyonel geri kazanımın değerlendirilmesinde kullanılabileceği ve uyguladığımız topikal sitikolin tedavisinin oluşan aksiyon potansiyelinin amplitüdünü arttırdığını söylemek mümkündür.

Özgenel, tarafından 2003'te yapılan iki ayrı çalışmada hyalüronik asit ve hyalüronik asit ile birlikte yüksek yoğunlukta makromoleküller (laminin fibronektin nörotrofik faktörler ve hyaluronik asit aktivatörleri gibi) içerdiği düşünülen insan amniyon sıvısının transeksiyona uğratılmış ve tamir edilmiş sıçan siyatik siniri etrafına topikal uygulanmasıyla epinöral fibrozisin azaltıldığı ve aksonal rejenerasyonun arttırıldığı gösterilmiştir (7, 11). Yine

sıçan siyatik sinir modelinde 1996'da Adkon-T/N (8) ve 1998'de Aprotinin (9) maddelerinin topikal uygulanması ile yapılan çalışmalarda ektranöral skar oluşumunun azaltıldığı rapor edilmiştir. Epinöral sütün ile yapılan sinir anastomozlarında sütün materyeli ve tekniğine bağılı olarak perinöral fibrozis ve nöroma oluşabilmektedir. Lazer ile sinir onarımı onarım bölgesine yabancı cisimlerin gelmesini engellediğı için iyi bir alternatif yöntem olabileceğı düşünölmüştür. Ancak lazer ile oluşturulan nörorafide ihtiyaç duyulan yüksek gerilim seviyelerinde, yüksek gerilimin termal etkisine bağılı olarak nöronal hasar meydana gelmektedir. Bu nedenle henüz klinik kullanımı gerçekleştirilememiştir (60). Görgülü ve ark., tarafından 2003'te sıçan siyatik siniri üzerinde yapılan bir çalışmada oluşturulan periferik sinir hasarında düşük doz radyasyon uygulanmış ve epinöral fibrozisin kontrol grubuna göre göreceli olarak azaldığı gösterilmiştir (10). Castaneda ve ark.'ları tarafından yapılan bir başka çalışmada, periferik sinir hasarından sonra lezyona uğramış bölgenin veya lezyon bölgesinde uygulanan greftin erken revaskülarizasyonunun intra ve epinöral fibrozisi azaltıp aksonal rejenerasyonu arttıracığı düşünölerek, lezyon aralığı vaskülarize omental greft ile tedavi edilmiş ve perinöral fibrozisin azaltıldığı gösterilmiştir (12).

Periferik sinir hasarı ve tamiri sonrası meydana gelen epinöral fibrozis üzerine sitikolin etkinliğini araştıran herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Topikal sitikolin kullanımına ilişkin yan etkilerin olduğuna dair herhangi bir yayına da rastlanmamıştır. Benzer çalışmalarda cerrahi işlemde sonra ortaya çıkan epinöral fibrozisin makroskopik ve kantitatif histolojik değerlendirilmesi cerrahi işlemde sonra 4. ve 6. haftalarda yapılmış ve bu sürenin epinöral fibrozis gelişimi için yeterli olduğuna belirtilmiştir (7, 8, 9, 10, 11). Çalışmamızda 4. ve 12. haftalarda yapılan değerlendirmede, tedaviden bağımsız olarak tüm deneklerde cilt ve adale fasyasının tamamen kapandığı, cerrahi işleme veya uygulanan tedaviye bağılı herhangi bir komplikasyonun gelişmediğı görölmüştür. Serum fizyolojik ile tedavi edilen deneklerin siyatik sinirleri etrafında, çevre dokulara yapışıklığa neden olmuş, kalın ve sert bir konnektif doku saptanmıştır. Sinir yapışıklığı ve ayrılabilirliği künt veya keskin diseksiyona ihtiyaç göstermiştir. Sitikolin ile tedavi edilmiş grupta ise

siyatik sinirin etrafının ince-membranöz bir bağ dokusu ile sarıldığı ve çevre dokulardan ayrılabilirliğinin nadiren künt veya keskin diseksiyona ihtiyaç gösterdiği saptanmıştır. 4.hafta sonunda sakrifiye edilen hayvanlardan çevre dokular ile birlikte en-blok olarak çıkartılan siyatik sinirlerden yapılan longitudinal ve transvers kesitlerde, mason-tricrome ile hazırlanan preparatlarda epinöral skar dokusunun kantitatif analizi yapılmıştır. Serum fizyolojik ile tedavi edilen grupta, siniri çevreleyen, kalın ve koyu boyanan konnektif dokunun; sitikolin tedavisi uygulanan grup ile karşılaştırıldığında daha büyük bir yüzey alanına sahip olduğu görülmüştür. Çalışmamızda kullanılan topikal sitikolin tedavisinin aksonal rejenerasyonu potansiyel olarak arttırmasının yanı sıra, yara iyileşmesini bozmadan epinöral skar oluşumunu engellediği sonucuna varılmıştır. Sitikolin ile elde edilen bu yararlanım benzer tedavi seçenekleri ile kıyaslandığında; kolay elde edilebilir ve uygulanabilir olması, bilinen yan etkilerinin olmaması gibi nedenler ile daha avantajlı görünmektedir.

Özarda ve ark. tarafından, insanlarda yapılan bir çalışmada, gebelik sırasında serum serbest kolin ve fosfolipid bağımlı kolin seviyelerinin arttığı, anlamlı seviyelerde amnion sıvısında bulunduğu gösterilmiştir (43). Özgenel tarafından, sıçan siyatik sinirinde oluşturulan periferik sinir hasarında tamir alanına topikal olarak insan amnion sıvısı uygulanması; perinöral skar dokusunu azaltmış ve aksonal rejenerasyonu arttırmıştır (7). Bizim çalışmamızda da benzer sonuçların elde edilmiş olması; insan amnion sıvısı ile sağlanan bu etkinliğin, içerdiği kolin düzeylerine bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Nöroma ağrıyı tetiklemenin yanı sıra motor ve duysal açıdan fonksiyonel geri kazanımı engellediğinden nörolizis veya nöromanın bulunduğu segmentin rezeksiyonu ile birlikte greftleme uygulamalarına gidilmiştir. Shah ve ark., tarafından sıçan siyatik sinirinde oluşturulan "crush" lezyon sonrası lezyon proksimali ve distalinde oluşturulan epinöral pencereler kullanılarak uygulanan otogreft ile lezyon aralığı by-pass edilmiş ve bu şekilde de aksonal rejenerasyon ve fonksiyonel geri kazanım oluşabileceği gösterilmiştir. Bu çalışmada nöromaların bu teknik ile by-pass edilebileceği

ileri sürülmüştür (61). Çalışmamızda topikal olarak uygulanan sitikolin tedavisinin, periferik sinir lezyonunda konnektif dokunun proliferasyonuna bağlı olarak gelişen skar dokusu ve nöroma oluşumu üzerine olan etkilerini araştırdık. 4.hafta sonunda sinir tamir alanındaki histolojik organizasyonun sitikolin ile tedavi edilen grubda daha iyi olduğu görülmüştür. Ancak istatistiksel anlamlı fark 12. hafta sonunda yapılan değerlendirmede elde edilmiştir ve serum fizyolojik ile tedavi edilen bir sıçanda proksimalden distale aksonal organizasyonun olmadığı, anastomoz hattının fibrozis ile engellendiği görülmüştür. Topikal tek doz sitikolin uygulanmasının periferik sinir hasarı ve tamirinde kaçınılmaz olarak görülen nöroma oluşumunu azaltıp, proksimalden distale aksonal organizasyonun devamlılığını arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır.

Sonuç olarak; periferik sinir hasarı ve tamirinde daha önce hiç denenmemiş olan sitikolinin; primer anastomozu takiben topikal olarak, tek doz halinde uygulanmasının, yara iyileşmesini etkilemeden epinöral skar oluşumunu azalttığı ve aksonal rejenerasyonu potansiyelize ederek fonksiyonel geri kazanımı arttırdığını söylemek mümkündür. Sitikolinin etki mekanizmasının anlaşılabilmesi için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Periferik sinir hasarının diğer tiplerinde ve diğer tedavi seçeneklerinde etkinliğinin gösterilmesi ulaştığımız sonuçları anlamlı kılacaktır. Periferik sinir hasarı ve tamirini takiben sistemik ve uzun süreli kullanımının fonksiyonel geri kazanımı nasıl etkileyeceği bilinmemektedir. Bu çalışmaların ışığında başlangıç gecikme zamanı üzerine olan etkilerinin araştırılması gerektiği kanısındayız.

KISALTMALAR

Deney Grubu: DG

Kontrol Grubu: KG

Elektro myografi: EMG

Siyatik fonksiyon indeksi:SFI

Nerve Growth Factor:NGF

İnsulin-like Growth Factor-1: IGF-1

Ciliary Neurotrophic Factor: CNTF

Brain-Derived Neurotrophic Factor: BDNF

Neurotrophin-3:NT3

Neurotrophin- 4/5:NT4/5)

Interleucin-1:IL-1

Interleucin-3:IL-3

Interleucin-6:IL-6

acidic Fibroblast Growth Factor:FGFa

basic Fibroblast Growth Factor:FGFb

Glial-cell-line-Derived Neurotrophic Factor:GDNF

Endotelial Growth Factor:EGF

Transforming Growth Factor - β : TGF- β

Tibial fonksiyon indeksi: TFI

Peroneal fonksiyon indeksi: PFI

Sensorial uyarılmış potansiyel: SEP

Motor uyarılmış potansiyel: MEP

Platelet activating factor: PAF

Platelet derived growth factor-B: PDGF-B

Tirozin kinaz-A: trkA

Tirozin kinaz-B: trkB

Tirozin kinaz-C: trkC

Growth-Associated Protein-43:GAP-43

Acetyl – L –Carnitine: ALCAR

Hematoxylin Eosin: H&E

KAYNAKLAR

- 1- TERZİS J.K., SUN D.D., THANOS P.K.: Historical and Basic Science Review: Past, Present, and Future Of Nerve Repair. Journal of Reconstructive Microsurgery, Vol:13, Number 3, 1997.
- 2-TERZİS J., FAİBİSOFF B., WILLIAMS H. B.: The Nerve Gap: Suture Under Tension Vs. Graft. Plast. Reconstr. Surg. Vol. 56, No.2:166-170, 1975.
- 3-GRUBER H., FREİLİNGER G., HOLLE J., et al.: Identification of Motor and Sensory Funiculi in Cut Nerves and Their Selective Reunion. British Journal Of Plastic Surgery, 29:70-73, 1976.
- 4-WILLIAMS B. H., TERZİS J. K.: Single Fascicular Recordings: An Intraoperative Diagnostic Tool For The Management Of Peripheral Nerve Lesions. Plast. Reconstr. Surgery Vol.57. No.5, 562-569, 1976.
5. SEDDON S. H.: Clinical Phenomena: Methods of Examination, Surgical Disorders of The Peripheral Nerves, 32-56,1972.
6. LUNDBORG G., DANIELSEN N.: Injury, Degeneration and Regeneration, İN Gelberman RH (ed): Operative Nerve Repair and Reconstruction. Philadelphia: JB Lippincott, 1991, Vol 1, pp 109-131.
7. ÖZGENEL G. Y., FİLİZ G.: Effects of human amniotic fluid on peripheral nerve scarring and regeneration in rats. J. Neurosurg 98:371-377, 2003.
8. PETERSEN J., RUSSELL L., ANDRUS K., et al.: Reduction of Extraneural Scarring by Adcon-T/N after Surgical Intervention. Neurosurgery Vol.38, No.5, 1996.
9. GÖRGÜLÜ A., İMER M., ŞİMŞEK O., et al.: The Effect of Aprotinin on Extraneural Scarring in Peripheral Nerve Surgery: An Experimental Study. Acta Neurochir. 140:1303-1307, 1998.
10. GÖRGÜLÜ A., UZAL C., DOĞANAY L., et al.: The effect of low-dose extraneural scarring after peripheral nerve surgery in rats. Neurosurgery. Vol 53, No.6, 2003.
11. ÖZGENEL G. Y.: Effects of hyaluronic acid on peripheral nerve scarring and regeneration in rats. Microsurgery 23:575-581, 2003.
12. CASTANEDA F., KINNE R. K. H.: Omental Graft Improves Functional Recovery Of Transected Peripheral Nerve. Muscle Nerve 26:527-532, 2002.
- 13- POLİTİS M. J., EDERLE K., SPENCER P. S.: Tropism in Nerve Regeneration In Vivo. Attraction of Regenerating Axons by Diffusible Factors Derived from Cells in Distal Nerve Stumps of Transected Peripheral Nerves. Brain Research, 253:1-12, 1982.
14. TANIUCHI M., CLARK H. B., SCHWEITZER J. B., et al.: Expression of Nerve Growth Factor Receptors by Schwann Cells of Axotomized Peripheral Nerves: Ultrastructural Location, Suppression by Axonal Contact and Binding Properties. The Journal of Neuroscience 8(2): 664-681, 1988.
- 15- HALL S. M.: Regeneration In Cellular And Acellular Autografts In The Peripheral Nervous System. Neuropathology and Applied Neurobiology 12; 27-46, 1986.
16. HALL S. M.: The Effect of Inhibiting Schwann Cell Mitosis on the Re-Innervation of Acellular Autografts in the Peripheral Nervous System of the Mouse. Neuropathology and Applied Neurobiology 12: 401-414, 1986.

17. HANSSON H. A., DAHLIN L. B., DANIELSEN N., et al.: Evidence Indicating Trophic Importance of IGF-I in Regenerating Peripheral Nerves. *Acta Physiol Scand* 126: 609-614, 1986.
18. MEYER M., MATSUOKA I., WETMORE C., et al.: Enhanced Synthesis of Brain-Derived Neurotrophic Factor in the Lesioned Peripheral Nerve: Different Mechanisms Are Responsible for the Regulation of BDNF and NGF mRNA. *The Journal of Cell Biology*, Vol. 119, 1992.
19. MCCALLISTER W. V., TANG P., SMITH J.: Axonal Regeneration Stimulated by the Combination of Nerve Growth Factor and Ciliary Neurotrophic Factor in an End-to-Side Model. *The Journal of Hand Surgery* 26A: 478-488, 2001.
20. LUNDBORG G.: 25 th Anniversary Presentation. A25-Year Perspective of Peripheral Nerve Surgery: Evolving Neuroscientific Concepts and Clinical Significance. *The journal of Hand Surgery*, Vol:25A, No.3, 2000.
21. SAIKA T., SENBA E., NOGUCHI K., et al.: Effects of Nerve Crush and Transection on mRNA Levels for Nerve Growth Factor Receptor in the Rat Facial Motoneurons. *Molecular Brain Research* 9: 157-160, 1991
22. FROSTICK S. P., YIN Q., KEMP G. J.: Schwann Cells, Neurotrophic Factors and Peripheral Nerve Regeneration. *Microsurgery* 18: 397-405, 1998.
23. CHEN Y. S., WANG-BENNETT L. T., COKER N. J.: Facial Nerve Regeneration in the Silicone Chamber: The Influence of Nerve Growth Factor. *Experimental Neurology* 103: 52-60, 1989.
24. YIN Q., KEMP G. J., FROSTICK S. P.: Neurotrophins, Neurones and Peripheral Nerve Regeneration. *Journal of Hand Surgery* 23 B: 4: 433-437, 1998.
25. KOMIYAMA T., NAKAO Y., TOYAMA Y., et al.: Novel technique for peripheral nerve reconstruction in the absence of an artificial conduit. *Journal of Neuroscience Methods*, 134:133-140, 2004.
26. GORDON T., SULAIMAN O., BOYD G.: Experimental strategies to promote functional recovery after peripheral nerve injuries. *Journal of the Peripheral Nervous System*. 8:236-250, 2003.
- 27- FU S. Y., GORDON T.: The Cellular and Molecular Basis of Peripheral Nerve Regeneration. *Molecular Neurobiology*. Vol. 14(1):67-116, 1997.
28. POPESKO P.: A Colour Atlas of ANATOMY OF SMALL LABORATORY ANIMALS.
29. BAIN J. R., MACKINNON S. E., HUNTER D. A.: Functional Evaluation of Complete Sciatic, Peroneal, and Posterior Tibial Nerve Lesions in the Rat. *Plastic and Reconstructive Surgery*. Vol.83, No.1, 1989.
30. SCHMALBRUCH H.: Fiber Composition of the Rat Sciatic Nerve. *The Anatomical Record*. 215:71-81, 1986.
31. HARE G. M. T., EVANS P. J., MACKINNON S. E., et al: Walking Track Analysis: A long-term assessment of peripheral nerve recovery. *Plastic and Reconstructive Surgery*, Vol.89, No.2, 1992.
32. FUMINORI K., JOHN C. F., WARREN C. B.: Sciatic Function Index, Nerve Conduction Tests, Muscle Contraction, and Axon Morphometry as Indicators of Regeneration. *Plastic&Reconstructive Surgery*, Vol 98(7): 1264-1271, 1996.

33. SIEMIONOW M., ZIELINSKI M., MEIRER R.: The single-fascicle Method of Nerve Grafting. *Annals of Plastic Surgery*. Vol.52, No:1, 2004.
34. ROSEN J. M., PADILLA J. A., NGUYEN K. D., et al.: Artificial Nerve Graft Using Collagen as an Extracellular Matrix for Nerve Repair Compared with Sutured Autograft in a Rat Model. *Annals of Plastic Surgery*. Vol.25, No.5, 1990.
- 35- HENTZ V. R., ROSEN J. M., XIAO S., et al.: A comparison of suture and tubulization nerve repair techniques in a primate. *The Journal of Hand Surgery*. 16A:251-261, 1991.
36. EVANS P. J., BAIN J. R., MACKINNON S. E., et al.: Selective reinnervation: a comparison of recovery following microsuture and conduit nerve repair. *Brain Research*, 559: 315-321, 1991.
37. MAEDA T., MACKINNON S. E., BEST T. J., et al.: Regeneration across "stepping-stone" nerve grafts. *Brain Research*. 618:196-202, 1993.
38. KIM D. H., CONNOLLY S. E., ZHAO S., BEUERMAN R. W., et al: Comparison of micropore, semipermeable, and nonpermeable collagen conduits in nerve repair. *Journal of Reconstructive Microsurgery*. Vol.9, No.6, 1993.
39. WATANABE O., MACKINNON S. E., TARASIDIS G., et al.: Long-Term Observation of the Effect of Peripheral Nerve Injury in Neonatal and Young Rats. *Plastic and Reconstructive Surgery*, Vol.102, No.6, 1998.
40. SECADES J.J., FRONTERA G.: CDP-Choline: pharmacological and clinical review. *Methods Find Exp clin Pharmacol*. Vol 17:1-54, 1995.
41. WEISS G. B.: Minireview. Metabolism and actions of Cdp-Choline as an endogenous compound and administered exogenously as citicoline. *Life Sciences*, Vol.56, No.9, pp. 637-660, 1995.
42. G- COVIELLA I. L., WURTMAN R. J.: Enhancement by Cytidine of Membrane Phospholipid Synthesis. *Journal of Neurochemistry*. 59, 338-343, 1992.
43. ÖZARDA I. Y., UNCU G., ULUS I. H.: Free and Phospholipid-Bound Choline Concentrations in Serum During Pregnancy, After Delivery and in Newborns. *Arch Physiol Biochem* 110 (5): 393-9, 2002.
44. ADIBHATLA R. M., HATCHER J. F., DEMPSEY R. J.: Citicoline: neuroprotective mechanisms in cerebral ischemia. *Journal of Neurochemistry*, 80:12-23, 2002.
45. ANDERSEN M., OVERGAARD K., MEDEN P., et al.: Effects of citicoline combined with thrombolytic therapy in a rat embolic stroke model. *Stroke*. 30:1464-1471, 1999.
46. SOBRADO M., LOPEZ M. G., CARCELLER F., et al.: Combined nimodipine and citicoline reduce infarct size, attenuate apoptosis and increase BCL-2 expression after focal cerebral ischemia. *Neuroscience*. 118:107-113, 2003.
47. SCHABITZ W. R., LI F., IRIE K., et al.: Synergistic effects of a combination of low-dose basic fibroblast growth factor and citicoline after temporary experimental focal ischemia. *Stroke*. 30:427-432, 1999.
48. CACABELOS R., CAAMANO J., GOMEZ M J., et al.: Therapeutic effects of Cdp-Choline in Alzheimer's Disease. *Ann N Y Acad Sci* 17; 777:399-403, 1996.

49. ALVAREZ X. A., LAREDO M., CORZO D., et al.: Citicoline Improves Memory Performance in Elderly Subjects. *Meth Find Exp Clin Pharmacol* 19 (3): 201-210, 1997.
50. ADÍBHATLA R. M., HATCHER J. F., DEMPSEY R. J.: Effects of Citicoline on Phospholipid and Glutathione Levels in transient Cerebral Ischemia. *Stroke*. 32:2376-2381, 2001.
51. ALVAREZ X. A., SAMPEDRO C., LOZANO R., et al.: Citicoline protects hippocampal neurons against apoptosis induced by brain β -amyloid deposits plus cerebral hypoperfusion in rats. *Mehods Find Exp Clin Pharmacol*. 21(8):535-540, 1999.
52. CHAMPE P. C.: Phospholipid Metabolism, Lippincott's Illustrated Review, 1994.
53. BAŞKAYA M. K., DOGAN A., RAO M., et al.: Neuroprotective Effects of Citicoline on Brain Edema and Blood-Brain Breakdown After Traumatic Brain Injury. *J.Neurosurg* 92: 448-452, 2000.
54. ALKAN T., KAHVECİ N., GOREN B., KORFALI E., ÖZLUK K.: Ischemic Brain Injury Caused by Interrupted Versus Uninterrupted Occlusion in Hypotensive Rats with Subarachnoid Hemorrhage: Neuroprotective Effects of Citicoline. *Archives of Physiology and Biochemistry*, Vol.109, No:2, 161-167, 2001.
55. HART A. M., WİBERG M., TERENCE G.: Pharmacological enhancement of peripheral nerve regeneration in the rat by systemic acetyl-L-carnitine treatment. *Neuroscience Letters*. 334:181-185, 2002.
56. CHAMPE P. C. : Amino Acids: Metabolism of Carbon Skeletons, Lippincott's Illustrated Review, 1994.
57. CHAMPE P.C.: Citric Acid Cycle, Lippincott's Illustrated Review, 1994.
58. URABE T., ZHAO Q., LUNDBORG G., et al: Effects of Delayed Nerve Repair on Regeneration of Rat Sciatic Nerve. *Restorative Neurology and Neuroscience* 9: 1-5, 1995.
59. GUENOT M., BULLIER J., SINDOU M.: Clinical and electrophysiological expression of deafferentation pain alleviated by dorsal root entry zone lesions in rats. *J Neurosurg*. 97:142-1409, 2002.
- 60- NEBLETT C. R., MORRIS J. R., THOMSEN S.: Laser-assisted Microsurgical Anastomosis. *Neurosurgery*, Vol. 19, No:6, 1986.
61. SHAH M. H., KASABIAN A. K., KARP N. S., et al.: Axonal regeneration through an autogenous nerve bypass: An experimental study in the rat. *Annals of Plastic Surgery*, Vol.38, No.4, 1997.

ÖZGEÇMİŞ

1970, Balıkesir-Kocaören doğumluyum. İlkokul, Ortaokul ve Lise öğrenimimi Balıkesir’de tamamladım. 1997 yılında, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi’nden mezun oldum. 1997-1998 yıllarında Yozgat-Aydıncık merkez Sağlık Ocağında pratisyen hekim olarak görev yaptım. Aralık 1998’de Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladım.

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmamda her tŒrlŒ desteği veren baőta Prof.Dr.İ.Hakkı Ulus'a ve Doç.Dr.Ahmet Bekar'a, histomorfolojik değerlendirmenin elde edilmesinde yardımcı olan Doç.Dr.GŒlaydan Filiz'e ve Doç.Dr.M.Ayberk Kurt'a, elektrofizyolojik kayıtlamaların yapılmasında yardımcı olan Yard.Doç.Dr.Nejdet Karlı'ya, tez yazımında teknik konularda yardımcı olan Yard.Doç.Dr.Selçuk Yılmazlar'a, Uzm.Dr.Hasan Kocaeli'ne, Dr.ÖzgŒr Taőkapılıoęlu'na, Dr.Baőak Caner'e ve Dr.Mehmet Savran'a, Uludağ Œniversitesi Tıp FakŒltesi Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Merkezi alıőanları'na, fotoğraflama aőamasında yardımcı olan Servet Oktay'a ve tez yazımında yardımcı olan Elif Memioğlu'na yardımlarından dolayı teőekkŒr ederim.