



T.C

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI

**TRİGEMİNAL NEVRALJİ *İN VİTRO* MODELİ OLARAK SIÇAN
TRİGEMİNAL SİNİR HÜCRELERİ ÜZERİNE BEVACİZUMABIN
TEDAVİ EDİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. KAAN KIRIMLI

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

TRABZON

2023



T.C

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI

**TRİGEMİNAL NEVRALJİ *İN VİTRO* MODELİ OLARAK SIÇAN
TRİGEMİNAL SİNİR HÜCRELERİ ÜZERİNE BEVACİZUMABIN
TEDAVİ EDİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. KAAN KIRIMLI

TEZ DANIŞMANI

DR. ÖĞRETİM ÜYESİ ALİ RIZA GÜVERCİN

TRABZON

2023

TEŞEKKÜR

Tez çalışması sırasında bana tecrübesi ve yardımlarıyla destek olan aynı zamanda mesleki eğitim süresince desteğini her zaman hissettiğim sayın çok değerli hocam ve tez danışmanım Dr. Öğretim Üyesi Ali Rıza GÜVERCİN' e sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım. Uzmanlık eğitimim süresince bilimsel, mesleki ve sosyal deneyimlerini benimle paylaşan, cerrahi prensip ve mesleki özgüvenimin oluşmasında büyük emeği olan, yanlarında çalışmaktan onur duyduğum Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Süleyman BAYKAL ve değerli öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Kayhan KUZEYLİ, Sayın Prof. Dr. Haydar USUL, Sayın Prof. Dr. Ertuğrul ÇAKIR, Sayın Prof. Dr. Erhan ARSLAN ve özellikle tezimde katkılarından dolayı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Uğur YAZAR'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca eğitimim boyunca birlikte bir aile sıcaklığında çalıştığım ve çalışmaktan mutluluk duyduğum bütün araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim. Beyin cerrahi kliniğinde çalışan tüm personel arkadaşlara teşekkür ederim. Tez çalışmam esnasında bana yardımlarını esirgemeyen ve fizyoloji hakkında birçok yeni bilgi edinmemi sağlayan ve kendi zamanından ayırıp laboratuvar deneyleri esnasında bana yardımlarını esirgemeyen Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ahmet AYAR' a teşekkür ederim.

Tüm asistanlık hayatım boyunca hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, yaşadığım tüm zorluklarda her zaman yanımda olan hayatıma değer katan, çoğu zaman mesleğim gereği yanında olamadığım çok sevgili eşim Dr. Esma Nilay KIRIMLI ve çok sevgili kızım Mihre Nehir KIRIMLI'ya destekleri için sonsuz teşekkürler ediyorum. Bana ikinci bir ailem sıcaklığıyla davranan eşimin ailesine teşekkür ederim. Tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve yapmış olduğum meslekten dolayı her zaman mutluluk duyan annem Ayşe KIRIMLI'ya, kardeşim Atakan KIRIMLI'ya ve merhum babam Mehmet KIRIMLI'ya destekleri için sonsuz saygı ve sevgi ile teşekkür ediyorum.

Dr. Kaan KIRIMLI

ÖZET

Trigeminal Nevralji İn vitro Modeli Olarak Sıçan Trigeminal Sinir Hücreleri Üzerine Bevacizumabın Tedavi Edici Etkisinin Araştırılması

Giriş-Amaç

Trigeminal nevroalji (TGN), kişinin yaşam kalitesini düşüren şiddetli ağrılar ile karakterize nöropatik hastalıktır. Teşhisinin zor olması ve bulguların farklı hastalıklarla karışması sebebiyle, hastalığın görülme oranlarının raporlananlara göre yüksek olduğu düşünülmektedir. Trigeminal nevroalji (TGN) günümüzde halen büyük bir sorun teşkil etmekte ve tedavisinde en çok zorlanılan hastalıklardan biri olmaya devam etmektedir. Bu durum hem hastalar hem de toplum için hem psikolojik hem de maddi bir sorundur. Bu yüzden günümüzde yeni çıkan moleküller Trigeminal nevroalji tedavisinde denenmekte ve umut olabilmektedir.

Trigeminal nevroaljiye nedenler kesin olmamakla beraber başlangıçta primer olarak herhangi bir lezyonun ya da yapının sinire bası yapması sonucunda trigeminal sinir hücreleri ve etrafındaki nöronlar hasarlanır. Bu durum hücresel düzeydeki inflamatuvar kaskadları başlatır. Trigeminal sinirin ihtiyaç duyduğu perfüzyonu bozar ve bu hipoksik durum nöronlarda yapısal hasar meydana getirir. Primer hasardan sonra başlayan ve zamanla devam edebilen bir dizi hücresel değişiklikler oluşur ve genellikle birbirini ardına gelişir. Bu süreçler sonunda trigeminal sinir beslenmesi ve miyelinizasyonu bozulur, ödem gelişir. Demiyelinizasyon sonucu nöronlarda aşırı uyarılabilirlik meydana gelir ve bunun sonucunda ağrı gelişir. Sinir hücrelerinde yenilenme için çalışmalar başlar ancak zayıftır.

Genel olarak deneysel tedaviler sekonder hasarı engelleme ve nörorejenerasyona katkı sağlamaya yöneliktir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki sekonder hasar ve iyileşme dönemindeki en önemli durumlardan bir tanesi basının, ödemin azaltılması bir diğeri de revaskülarizasyon ile hem hasarlı bölgedeki yeniden kanlanmayı ve hücresel düzeyde beslenmeyi sağlamak hem de hasarlı alanındaki serbest radikalleri ve zararlı maddeleri uzaklaştırmaktır. Hedef trigeminal sinirin mikrosirkülasyon bozukluğunu ortadan kaldırmak ve perinöral perfüzyonu geliştirmek yani dolaşım bozukluğunu düzeltmektir. Ancak bu

dönemde meydana gelen revaskülarizasyonun belirli bir dengede olması gerekir, hasarlı alanda yeterli perfüzyonun olmaması da gereğinden fazla olması da bir sorundur.

VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü) türündeki ilaçlar bu hasar modellerinde daha önce deneysel olarak kullanılmış ve vaskülarizasyonu arttırarak sekonder hasarı azaltıcı etkileri, hasarlanan nöral dokularda nöroprotektif yönde etkileri de gösterilmiştir. Ancak son zamanlarda Anti VEGF türündeki ilaçların da gereğinden fazla olan vaskülarizasyonu engelleyerek iyileşme üzerinde pozitif yönde etki edebileceği düşünülmüştür. Bu etkilerini basitçe hasar sonrası ödemi azaltarak oksijenin ve enerji kaynaklarının hücrelere iletimini kolaylaştırarak yaptığı, limitli bir anjiyogenez sağlayarak sinir hücrelerinin beslenmesinde verimliliği arttırarak yaptığı, böylece nöroprotektif etkilerinin olabileceği düşünülmüştür ancak literatürde bu konuda yeterli bilgi ve yayın bulunmamaktadır.

Gereç&Yöntem:

Deneyde 10 adet sıçan kullanılmıştır. Dekapitasyon sonrası trigeminal ganglionları (TG) çıkartıldıktan sonra hücre kültür protokolleri yapılmıştır. Hücreler ayrıştırıldıktan sonra steril şekilde normoglisemik (NG), hiperosmolar (HPO) ve hiperglisemik (HPG) ortamlar oluşturulup xcelligence sisteminde pleytlere 100-200 hücre olacak şekilde yerleştirilmiş ve hücrelerin adhezyonu, büyümesi ve proliferasyonu için RTCA (Real Time Cell Analysis) yazılımına göre 24 saate kadar biyosensör elektrotlar aracılığı ile empedans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. 24 saat sonunda NGF (Nerve Growth Faktör) verilmiş ve empedans ölçümleri 24 saat daha devam etmiştir. 48.saat sonunda her ortama bevacizumab doz 1 (0.025 mg/ml), bevacuzimab doz 2 (0,25 mg/ml), bevacuzimab doz 3 (1 mg/ml), bevacuzimab doz 4 (2.5 mg/ml) şeklinde tedavi dozları verilmiş ve her 15 dakikada bir empedans ölçümleri RTCA yazılımıyla 160 saat sonuna kadar devam edilmiştir.

Bulgular:

NG ortamda tüm bevacizumab tedavi dozlarının negatif etkinliğinin olmadığı gösterilmiş ancak bunun yanında doz 4 de hücre indeksinde pozitif yönde anlamlı farklılık olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Her ne kadar istatistiksel olarak sadece doz 4 ile diğer gruplar arasında anlamlı farklılık olsa da doz arttıkça hücre indeksinde pozitif yönde bir artış olduğu görülmüştür.HPO ortamda bevacizumab tedavisinin tüm tedavi şekillerinde negatif etkisinin

olmadığı gösterilmiş ancak hücre indekslerinde doz bağımlı olarak anlamlı farklılık saptanmış olup pozitif etkinliği gösterilmiştir. Her ne kadar istatistiksel olarak tüm dozlar arasında anlamlı farklılık olmasa da doz arttıkça hücre indeksinde pozitif yönde bir artış olduğu görülmüştür. HPG ortamda bevacizumab tedavisinin tüm tedavi şekillerinde negatif etkisinin olmadığı gösterilmiş ancak hücre indekslerinde doz bağımlı olarak anlamlı farklılık saptanmış olup pozitif etkinliği gösterilmiştir. Her ne kadar istatistiksel olarak tüm dozlar arasında anlamlı farklılık olmasa da doz arttıkça hücre indeksinde pozitif yönde bir artış olduğu görülmüştür.

Sonuç:

Anti VEGF tedavisinin trigeminal nevraljide nöronal rejenerasyona katkı sağlayabileceği, fonksiyonel nöronları koruyarak sekonder hasarı azaltıcı ya da sınırlayıcı etkisinin olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Trigeminal nevralji, Bevacizumab, Anti VEGF, Nörorejenerasyon, xcelligence

ABSTRACT

Investigation of Therapeutic Effect of Bevacizumab on Rat Trigeminal Nerve Cells as an In vitro Model of Trigeminal Neuralgia

Introduction&Goal:

Trigeminal neuralgia (TGN) is a neuropathic disorder characterized by severe pain that reduces the quality of life. It is estimated that the incidence in the community is quite high compared to the reported one, since its diagnosis and differential diagnosis are difficult. Trigeminal neuralgia (TGN) is still a major problem today and continues to be one of the most challenging diseases to treat. Therefore it creates both a psychological and financial burden for the individual as well as the society. For this reason, molecules that are newly released and are in the experimental stage can be hope in the treatment of trigeminal neuralgia.

The causes of trigeminal neuralgia, although it is not certain, are primarily damage to the trigeminal nerve cells and surrounding neurons as a result of the compression of any lesion or structure on the nerve. This initiates inflammatory cascades at the cellular level, disrupting the perfusion and the resulting hypoxic state creates structural damage to the neurons. A series of cellular changes that begin after primary injury and continue over time. At the end of these processes, the myelination of the trigeminal nerve is impaired and edema develops. As a result of demyelination, hyperexcitability occurs in neurons and as a result, pain develops. Attempts to regenerate nerve cells begin, albeit weakly.

In general, experimental treatments are aimed at preventing secondary damage and contributing to neuroregeneration. Studies have shown that one of the most important conditions in the preventing secondary damage and recovery period is to reduce the pressure and edema, and providing revascularization and nutrition to the cell as well as removing free radicals and harmful substances in the damaged area. The goal is eliminating the microcirculation disorder of the trigeminal nerve and improving perineural perfusion to eliminate the circulatory disorder. However, the revascularization that occurs during this period must be in a certain balance, and insufficient or excessive perfusion is also an issue.

VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) type drugs have been previously used experimentally in these damage models, and their effects on reducing secondary damage by increasing vascularization. Additionally neuroprotective effects on damaged neural tissues have been shown. However, it has recently been thought that anti-VEGF drugs may also have a positive effect by preventing excessive vascularization. It is thought that it does these effects simply by reducing the post-damage edema and facilitating the transmission of oxygen and energy resources to the cells. Furthermore it may have neuroprotective effects by providing a limited angiogenesis, and increasing the efficiency in the nutrition of nerve cells; however in the literature, there is not enough scientific data.

Material&Methods:

Ten rats were used in the experiment. Cell culture protocols were performed after trigeminal ganglia (TG) were removed after decapitation. After the cells were separated, sterile normoglycemic (NG), hyperosmolar (HPO) and hyperglycemic (HPG) environments were created and placed on the plates in the xcelligence system with 100-200 cells. For the adhesion, growth and proliferation of cells, impedance measurements were carried out using biosensor electrodes for up to 24 hours according to RTCA (Real Time Cell Analysis) software. After 24 hours, NGF (Nerve Growth Factor) was given and impedance measurements continued for the next 24 hours. At the end of the 48th hour, treatment doses as bevacizumab dose 1 (0.025 mg/ml), bevacuzimab dose 2 (0.25 mg/ml), bevacuzimab dose 3 (1 mg/ml), bevacuzimab dose 4 (2.5 mg/ml) and impedance measurements were continued every 15 minutes with RTCA software until the end of 160 hours.

Results:

It was shown that all bevacizumab treatment doses did not have negative efficacy in NG medium, however, there was a positive significant difference in cell index at dose 4 ($p<0.05$). Although there was a statistically significant difference between only dose 4 and other groups, it was observed that there has been a dose-dependent positive effect in cell index. It has been shown that bevacizumab treatment in HPO medium has not a harmful effect in all treatment modalities, but a significant difference was found in cell indices in a dose-dependent manner and positive efficacy was demonstrated. Although there was no statistically significant difference among all doses, it was observed that there was a dose-dependent

positive effect in cell index. It has been shown that bevacizumab treatment in HPG media has not a harmful effect in all treatment modalities, but a significant difference was found in cell indices in a dose-dependent manner and positive efficacy was demonstrated. Although there was no statistically significant difference among all doses, it was observed that there was a dose-dependent positive effect in cell index.

Conclusions:

It has been thought that anti VEGF treatment may contribute to neuronal regeneration in trigeminal neuralgia, and may have a reducing or limiting effect on secondary damage by protecting functional neurons.

Key Words: trigeminal neuralgia, trigeminal neuropathy, bevacizumab, anti vegf, neuroregeneration, xcelligence

TEŞEKKÜR

ÖZET

İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)

İÇİNDEKİLER

ŞEKİL LİSTESİ

TABLO LİSTESİ

RESİM LİSTESİ

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

1. GİRİŞ VE AMAÇ

2. GENEL BİLGİLER

2.1 TARİHÇE

2.2 TRİGEMİNAL SİNİR EMBRİYOLOJİSİ

2.3 TRİGEMİNAL SİNİR ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ

2.4 TRİGEMİNAL NEVRALJİ

2.4.1 Trigeminal Nevralji Epidemiyolojisi ve İnsidansı

2.4.2 Trigeminal Nevralji Patofizyolojisi

2.4.3 Trigeminal Nevralji Sınıflandırma

2.4.4 Trigeminal Nevralji Tanı Kriterleri

2.4.5 Trigeminal Nevralji Tedavi Trendi

2.5 BEVACİZUMAB (Anti VEGF)

2.5.1 Tanımı ve Etki Mekanizması

2.6 DENEYSEL NÖROPATİ NÖROTOKSİSİTE/NÖROMODÜLASYON MODELLERİ VE YÖNTEMLERİ

2.6.1 Santral uygulamalara bağlı modeller

2.6.2 Sistemik uygulamalara bağlı modeller

2.6.3 Total denervasyon modelleri

2.6.4 Parsiyel denervasyon modelleri

2.7 TRİGEMİNAL NÖROPATİ MODELİ OLARAK SIÇAN TG HÜCRE KÜLTÜRÜ

2.8 HÜCRE CANLILIK ANALİZLERİ

2.8.1 MTT Analizler

2.8.2 Tripan Blue (Mavi testleri)

2.8.3 Gerçek Zaman Hücre Canlılık Analiz Yöntemi (X CELLİGENCE)

2.8.3.1 Verilerin Analizi

2.8.3.2 xCELLigence Sisteminin Avantajları

2.8.3.2 xCELLigence Sisteminin Dezavantajları

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 HÜCRE KÜLTÜRÜ

3.2 HÜCRELERİN HAZIRLANMASI

3.3 xCELLİGENCE SİSTEMİNİN HAZIRLANMASI

3.4 SİTOTOKSİSİTE DENEYLERİ

3.5 VERİLERİN ANALİZİNDE KULLANILAN İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

3.5.1 Ölçüm parametresi: Hücre indeksi

4.BULGULAR

4.1 Sitotoksosite Testine Ait Hücre İndeksi (CI) Değerleri Bulguları

5.TARTIŞMA

6.SONUÇ ÖNERİ

7.KAYNAKLAR

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1- 6 ila 7 haftalık bir embriyonun lateralden görünümü.

Şekil 2- 8 haftalık insan embriyosu görünümü.

Şekil 3-Trigeminal sinir ve dallarına genel bakış

Şekil 4- Trigeminal sinir çekirdeklerinin beyin sapında gösterimi

Şekil 5- Oftalmik sinir ve dallarının lateralden görünümü

Şekil 6- Maksiller sinirin lateralden görünümü

Şekil 7- Mandibular sinirin lateralden görünümü

Şekil 8- Trigeminal sinir üç ana dalının duyuşal dağılımı

Şekil 9- Sık kullanılan bazı siyatik sinir nöropati modelleri

Şekil 10- MTT'nin kimyasal yapısı

Şekil 11- Tripan mavisinin kimyasal yapısı

Şekil 12- Hiperglisemik Koşullardaki Trigeminal Gangliyon Nöronları Üzerine Bevacuzimabın Doz Bağımlı Etkileri

Şekil 13- Normoglisemik ortamda bevacizumab tedavisi verilmeden RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 14- Hiperglisemik ortamda bevacizumab tedavisi verilmeden RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 15- Hiperglisemik ortamda bevacizumab doz 1 (0.025 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 16- Hiperglisemik ortamda bevacizumab doz 2 (0.25 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 17- Hiperglisemik ortamda bevacizumab doz 3 (1 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 18- Hiperglisemik ortamda bevacizumab doz 4 (2.5 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 19- Hiperosmolar Koşullardaki Trigeminal Gangliyon Nöronları Üzerine Bevacuzimabın Doz Bağımlı Etkileri

Şekil 20- Hiperosmolar ortamda bevacizumab tedavisi verilmeden RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 21- Hiperosmolar ortamda bevacizumab doz 1 (0.025 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 22- Hiperosmolar ortamda bevacizumab doz 2 (0.25 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 23- Hiperosmolar ortamda bevacizumab doz 3 (1 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 24- Hiperosmolar ortamda bevacizumab doz 4 (2.5 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 25- Normoglisemik Koşullardaki Trigeminal Gangliyon Nöronları Üzerine Bevacuzimabın Doz Bağımlı Etkileri

Şekil 26- Normoglisemik ortamda bevacizumab tedavisi verilmeden RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 27- Normoglisemik ortamda bevacizumab doz 1 (0.025 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 28- Normoglisemik ortamda bevacizumab doz 2 (0.25 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 29- Normoglisemik ortamda bevacizumab doz 3 (1 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

Şekil 30- Normoglisemik ortamda bevacizumab doz 4 (2.5 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri

RESİM LİSTESİ

Resim 1- xCELLigence gerçek zamanlı hücre analizi sistemi (ACEA Biosciences, Inc., San Diego, CA, ABD)

Resim 2- Nano teknoloji ile üretilmiş altın elektrod ağı esaslı bir zemine sahip E-plakalar

Resim 3- (A) Trigeminal ganglionun dekapitasyon ve her iki hemisferin çıkarılması sonrası bilateral görünümü, (B) Trigeminal ganglion bilateral çıkarıldıktan sonrası

Resim 4-Petri kabı içerisindeki örneklerin UV ile sterilizasyonu.

TABLO LİSTESİ

Tablo 1- Trigeminal sinir liflerinin bileşenleri, işlevi, merkezi bağlantıları, hücre gövdelerinin konumu ve periferik dağılımının özeti

Tablo 2- Oftalmik sinirin (V1) dalları ve dağılımı

Tablo 3- Maksiller sinirin (V2) dalları ve dağılımı

Tablo 4- Mandibular sinirin (V3) dalları ve dağılımı

Tablo 5- Trigeminal nevraljide ilaç tedavisi için kanıtların, ilk ve ikinci sıra tedavi önerileriyle birlikte sınıflaması

Tablo 6- Trigeminal nevraljide çoğunlukla kullanılan ilaçların etki mekanizması, dozları ve yan etkileri

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

TGN	Trigeminal nevralji
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
IASP	Uluslararası Ağrı Çalışmaları Birliği
V1	Oftalmik sinir
V2	Maksiller sinir
V3	Mandibular sinir
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
ICHD-3	The International Classification of Headache Disorders 3rd Edition
TG	Trigeminal ganglion
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid
DMSO	Dimetil sülfoksit
RTCA	Real-Time Cell Analyzer
CI	Hücre indeksi
Efferent	Motor lifler
Afferent	Duyu lifleri
NBA	Nörobazal A
NGF	Nerve Growth Faktör
MS	Multiple Skleroz

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Trigeminal nevralji (TGN), hastanın yaşam kalitesini oldukça düşüren beşinci kraniyal sinirin bir veya birden çok dalının dağılımında meydana gelen, tekrarlayan şiddetli ağrılar ile karakterize nöropatik bir hastalıktır. Teşhisinin zor olması ve bulguların farklı hastalıklarla karışmasından dolayı hastalığın görülme oranlarının raporlananlara göre yüksek olduğu düşünülmektedir (1, 2, 4).

Trigeminal nevralji (TGN) günümüzde halen büyük bir sorun teşkil etmekte ve tedavisinde zorlanılan hastalıklardan biri olmaya devam etmektedir. Bu durum hem hastalar hem de toplum için hem psikolojik hem de maddi bir yükür. Bu yüzden günümüzde yeni çıkan moleküller Trigeminal nevralji tedavisinde denenmekte ve umut olabilmektedir.

Trigeminal nevralji (TGN) bir ya da iki taraflı trigeminal sinirin duysal dallarının tutulumuyla karakterizedir. Trigeminal sinirin üç dalından biri, ikisi veya hepsi tutulabilir (1). En sık maksiller ve mandibular dallar tutulurken, daha az ise oftalmik dal tutulur. Yüzün sağ tarafı sol tarafına göre daha fazla tutulur (2). Hastalık hastanın yüzü, dudaklar, kulak, burun, göz, alın, kafa derisi, çeneler ve dişler gibi bölgelerin birinde veya birkaçında ağrılara yol açabilir (3).

Trigeminal nevraljide nedenler halen daha kesin olmamakla beraber başlangıçta primer olarak herhangi bir lezyonun ya da durumun sinire bası yapması sonucunda trigeminal sinir hücreleri ve etrafındaki nöronlar hasarlandığı ve bu durum hücresel düzeyde ki kaskadları başlattığı, trigeminal sinirin ihtiyaç duyduğu perfüzyonun bozulduğu ve bu gelişen hipoksik durumun nöronlarda yapısal hasar meydana getirdiği düşünülmüştür. Primer hasardan sonra başlayan ve zamanla devam edebilen bir dizi hücresel değişiklikler sonunda trigeminal sinir beslenmesi ve myelinizasyonu bozulur, ödem gelişir. Demyelinizasyon sonucu nöronlarda aşırı uyarılabilirlik meydana gelir ve ağrı gelişir. Sinir hücrelerinde yenilenme için çalışmalar başlar ancak zayıftır (5, 6, 7, 8).

Genel olarak deneysel tedaviler sekonder hasarı engelleme ve nörorejenerasyona katkı sağlamaya yöneliktir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki sekonder hasar ve iyileşme dönemindeki en önemli durumlardan bir tanesi baskının, ödemin azaltılması bir diğeri de hem hasarlı bölgedeki yeniden kanlanmayı ve hücresel düzeyde beslenmeyi sağlamak hem de hasarlı alanındaki serbest radikalleri ve zararlı maddeleri uzaklaştırmaktır. Hedef trigeminal sinirin mikrosirkülasyon bozukluğunu ortadan kaldırmak ve perinöral perfüzyonu geliştirmek

yani dolaşım bozukluğunu dñzeltmektir. Ancak bu dñnemde meydana gelen revaskularizasyonun belirli bir dengede olması gerekir, hasarlı alanda yeterli perfüzyonun olmaması da gereğinden fazla olması da bir sorundur (9, 10, 11).

Cerrahi tedaviler uygulansa da TGN tedavi sürecinde tek başına yeterli değildir ve sinir yenilenmesine yardımcı olabilecek destekleyici tedavi protokolleri sürekli aranmaktadır. Birçok farklı molekül trigeminal nevrалji hasarlarını azaltabileceği düşñncesi ile denenmeye devam edilmektedir (12).

VEGF türündeki ilaçlar bu hasar modellerinde daha önce deneysel olarak kullanılmış ve vaskularizasyonu arttırarak sekonder hasarı azaltıcı etkileri, hasarlanan nöral dokularda nöroprotektif yönde etkileri de gösterilmiştir. Son zamanlarda Anti VEGF türündeki ilaçların vaskularizasyonu normalleştirerek iyileşme üzerinde pozitif yönde etki edebileceği düşün÷lm÷ştür. Bu etkilerini basitçe hasar sonrası ödemi azaltarak oksijenin ve enerji kaynaklarının hücrelere iletimini kolaylaştırarak yaptığı ve bu sayede sinir hücrelerinin beslenmesinde verimliliği arttırdığı böylece nöroprotektif etkilerinin olabileceği düşün÷lm÷ştür ancak literatürde bu konuda yeterli bilgi ve yayın bulunmamaktadır. Yakın zamanda santral sinir sistemi ve periferik sinirler üzerinde pozitif etkileri olabileceği düşñncesi ile Anti-VEGF molekülü çeşitli çalışmalara konu olmuştur (13, 14).

Günümüzde Anti-VEGF ilaçlar gözde dejenerasyona bağlı hastalıklarda aktif olarak kullanılmaktadır. Tedavideki etkililiğini ise skar dokusunu azaltarak, vaskularizasyonu düzenleyerek, doku etrafındaki ödemi azaltarak ve dejenerasyonu engelleyerek yaptığı düşün÷lmektedir (15).

Ancak literatürde bu konuda yeterli bilgi ve yayın bulunmamaktadır. Biz de bu hipotezden yola çıkarak çalışmamızı şekillendirdik ve deneysel modelimiz ile elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda Anti-VEGF in trigeminal nevrалji deki etkileri ile ilgili olarak literatüre katkı yapabileceğimizi düşñndük.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 TRİGEMİNAL NEVRALJİ TARİHÇE

Trigeminal nevroj (TGN) uzun yıllardır bilinen ancak patofizyolojisi hala tam ortaya konulamamış ve tedavisinde konsensus sağlanmamış bir hastalıktır. IASP (Uluslararası Ağrı Çalışmaları Birliği)'nin tanımlamasına göre "TGN, trigeminal sinirin bir veya birden fazla dalının dağılım alanında ani, çoğunlukla tek taraflı, çok kısa süreli batıcı ve tekrarlayan ağrı olması durumudur" (16). Son derece mutsuz ve rahatsız edici ağrının sebeplerini anlamak ve ağrıyı azaltmak amacıyla yıllardır devam eden çalışmalar yapılmıştır.

Ransahah ve Stookey'e göre TGN'ye benzer ilk bilgiler milattan sonra II. yy. da Aretaeus tarafından yazılmıştır (17). Yazdığı iki eseri (Akut ve Kronik hastalıkların sebepleri ile Akut ve Kronik hastalıkların tedavisi) vefatından çok sonra anlaşılabilmiştir (18). Bu kitapların baş ağrısı bölümünde TGN'nin günümüzdeki tanımına yakın semptomlardan bahsetmektedir. Aretaeus bu durumu "yüzde spazm ve şekil bozukluğunun olması" şeklinde tanımlamıştır (19).

Aretaeus' dan 800 yıl sonra İbni Sina "el-Kanun fi't-Tib" isimli kitabında benzer klinik durumlardan bahsetmiştir (20). Yüzdeki ağrıyla süren bu duruma Lekvet ismini vermiştir.

TGN tarihinde enteresan bölümlerden birisi de Cürcani'ye aittir. İbni Sina'nın takipçilerinden olan ve kaleme aldığı eseri "Zahire-i Harzemşahi" Selçuklu tıp okullarında da okutulan Cürcani bu eserinde TGN durumunu anlatmaktadır (21). Cürcani hastalığın sebebi olarak bir atardamarın bir sinire olan yakınlığından bahsedip onu mesul tutmuştur. Bu bilgi o zamanki anatomi bilgisiyle değerlendirilecek olursa ilginçtir. Ancak Curcani'nin hangi atardamardan ve sinirden bahsettiği bilinmiyor.

Süregelen yıllarda Rönesans sonrası trigeminal sinir ve TGN hakkındaki bilgilerin çoğunlukla avrupadan ortaya çıktığını görmekteyiz. İlk kez 16.yy. da Gabriel Fallopius trigeminal siniri tanımlamıştır (17). Gerçekte bundan çok önce Galen kraniyal sinirleri tanımlarken tabî ki de bu sinirden de bahsetmiştir. Ancak trigeminal sinirin dallarını ayrı kraniyal sinirler diye anlatmıştır. Fallopius'dan hemen hemen yüzyıl sonra anatomist Vieussens semilunar gangliona bahsetmiştir (20). Hirsch hocası Johann Ludwig Gasser'in hatırasına bu gangliona Gasserian ganglionu ismini vermiştir. Meckel, 1748'de bu ganglionun dural kılıfı ile ilgili çalışmalarını yayınlamıştır (20).

Anatomideki gelişmeler sonucunda, bu hastalığın tanımlaması yazılı belgelerde çok daha fazla yapılmaya başlanmıştır. Preul'e göre, filozof ve tıp bilgini John Locke Northumberland kontesinin yüzündeki ağrıları meslektaşına yazdığı 1677 tarihli mektupta ayrıntılı bir şekilde açıklamıştır. Hastalığın tanımının ayrıntılı olarak yapıldığı ilk belgeler bu mektuplar olarak kabul edilebilmektedir (22).

Literatürdeki TGN hususunda ilk yayın 1727'de Johann Jakob Wepfer tarafından yayınlanan eserdir (20). Kraniyal hastalıklardan bahseden bu eserde Wepfer TGN' den bahsetmiştir. Nicolaus Andre ise 1756'da beş vakasını yayınlamıştır (23). Aslında bu olgulardan sadece ikisi tipik TGN'dir. Bu hastalığı konvülsif bir durum olarak değerlendirdiğinden dolayı Andre, "Tic douloureux" olarak isimlendirmiştir. Bu hastalığın sebebi olarak fasiyal duysal sinirlerin kompresyonu olduğunu söylemiştir. Bu sorunu çözmek için de ağrı hissedilen alanlara koterize edici taşlarla açtığı yaraları civalı su ile yıkamıştır. Sinire tekrar bası olmasını engellemek amacıyla yaraları açık bırakmıştır (23, 24).

TGN'yi günümüzdeki şekliyle ilk defa tarifleyen İngiliz John Fothergill' dir (17, 25). 1773 yılında yayımladığı makalesinde hastalığı "paroksizmal ve tek taraflı olması, konuşmak, yemek ve dokunmak gibi eylemlerle artış göstermesi, ani ortaya çıkıp sonlanması" gibi özellikleri ile tarif etmiştir (19). Bu sebeple bu hastalık uzun süre "Fothergill hastalığı" ismiyle anılmıştır (20).

19. yy. ın başlarında anatomi bilgisinde gelişmeler olmaya başlamıştır. Charles Bell trigeminal ve fasiyal sinirlerin tamamen ayrı olduğunu söylemiştir (17). Yaptığı çalışmalarda tic douloureux'nun aslında trigeminal sinir ile alakalı durum olduğunu söylemiştir. Bu zamandan sonra ise hastalık "Trigeminal nevralji" olarak isimlendirilmeye başlanmıştır. Hastalığın isminin tam olarak bugünkü şeklini alması yaklaşık olarak 1600 yıl almıştır.

Cutter 1874'de trigeminal sinirden trifasiyal sinir olarak bahsetmektedir. Spinal sinirlere benzer şekilde burada da bir ganglion bulunduğunu söylemiştir. Bu sebeple de bu siniri "kraniyal spinal sinir" diye isimlendirmiştir (26).

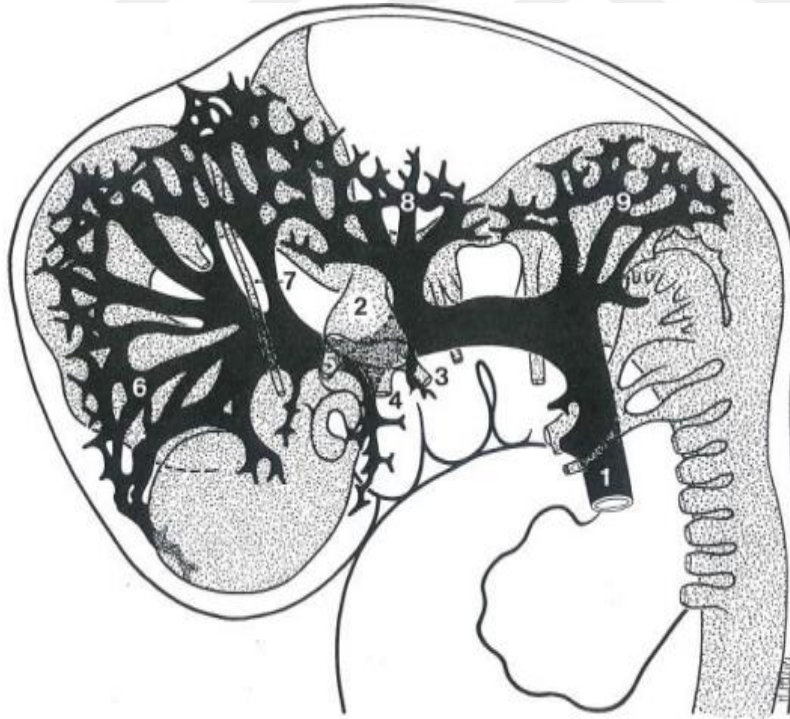
18. ve 19. yüzyılda Tiffany, Pujol ve Chapman'ın gözlemleri TGN'yi diş ağrısı gibi sık görülen yüzdeki ağrılardan ayırt edecek bilgileri edinmeye çok yardımcı olmuştur. 20. yüzyılın başlarında Oppenheim, multiple skleroz (MS) ile TGN arasındaki ilişkiyi; Patrick ise TGN'nin ailevi özelliği olduğunu söylemiştir (27).

Şimdiye kadar bu hastalık tic douloureux, epileptiform nöraljia, hemikrania idiopatika, trisma dolorificans, idiopatik nöraljia, la grande neuralgia, trigeminal nöraljia, trifasiyal neuralgia majör gibi farklı adlarla anılmıştır (17, 24).

2.2 TRİGEMİNAL SİNİR EMBRİYOLOJİSİ

Ektodermden gelişen trigeminal sinir, nöral plağın şekillenerek kalınlaşması ile nöral oluktan oluşur. Nöral oluğun kenarları ortaya doğru gelişir, birleşerek nöral tüpü oluştururlar. Bütün sinir oluşumları bu nöral tüpten oluşurlar. Nöral plağın dış kenarında bulunan şerit şeklindeki yapılara krsta nöralis ismi verilir. Krsta nöralis'ler birleşerek tek şerit halinde bir yapı oluştururlar. Bu yapılar spinal ganglionların pseudounipolar hücrelerini oluşturur. Bütün periferik duysal hücreler ve sinirleri krsta nöralis'ten oluşurlar (28, 29, 30).

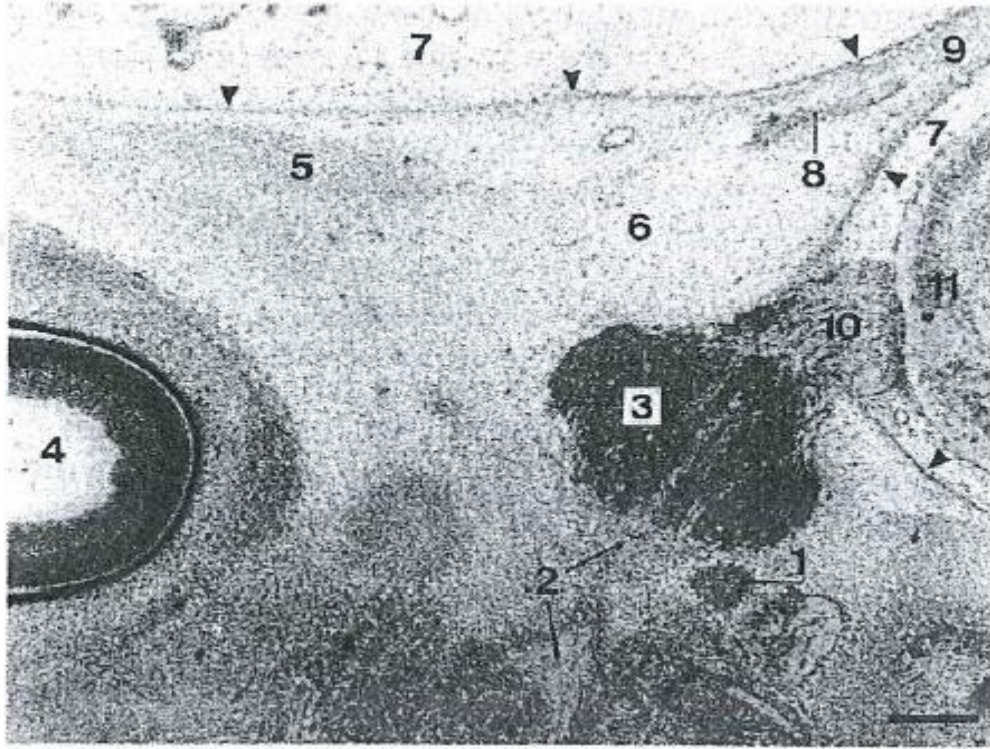
Embriyogenezin 6. haftasında, trigeminal sinir ve dalları iyi gelişmiş ve zengin pial vasküler ağlarla çevrelenmiştir (Şekil 1). Trigeminal gangliyon mezenşim ile çevrili göze dorsal olarak yerleşmiştir (31, 29).



Şekil 1- 6 ila 7 haftalık bir embriyonun lateralden görünümü (31).

1: primer kafa veni, 2: trigeminal sinir, 3: mandibular sinir, 4: maxillar sinir, 5: oftalmik sinir, 6: ön dural pleksus, 7: trohlear sinir, 8: orta dural pleksus, 9: arka dural pleksus

Embriyogenezin 8. haftasında, trigeminal sinir mezenşim ile çevrelenmiştir. Meninksler çok daha iyi gelişmiş haldedir. Pial vasküler ağ görülebilir. Subaraknoid boşluk da farklılaşmıştır. Hücreler, “dural sınır tabakası” diye isimlendirilen periferik çok hücreli bir tabaka ile sınırlanmış olan geniş boşluklara dağılmıştır (Şekil 2) (31).



Şekil 2- 8 haftalık insan embriyosu görünümü (31)

1: anterior dural pleksus drenaj damarının bir kısmı, 2: mandibular sinir, 3: trigeminal ganglion, 4: göz; 5: mezenşimin yoğunlaşmış kısmı, 6: tentorium serebelli tabanı, 7: subaraknoid boşluk, 8: troklear sinir, 9: tentorium serebelli, 10: trigeminal sinir, 11: metensefalon

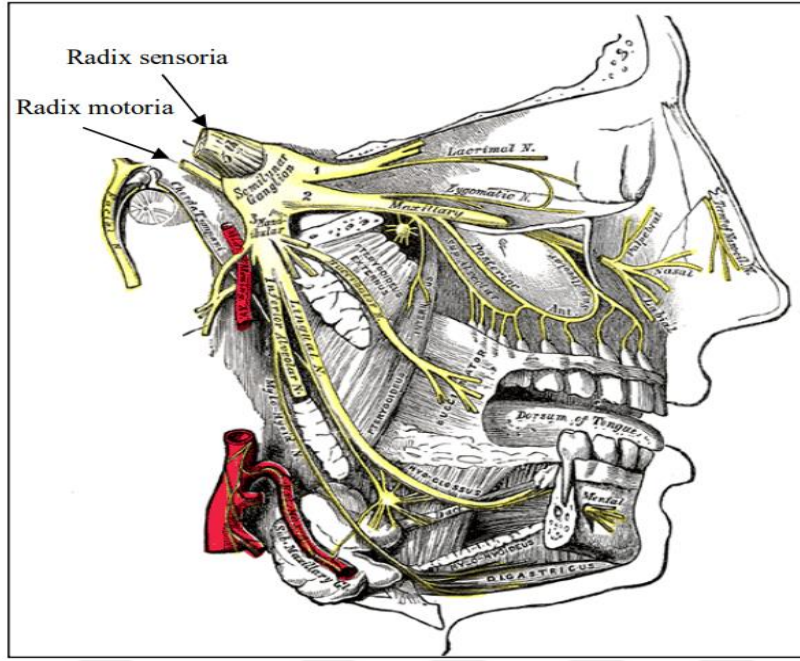
Meckel boşluğunu oluşturan dural kese 12. haftada, arka kısmında iç kulak kıkırdakları tarafından yükselerek yetişkin şeklini oluşturur. Petroz kemiği oluşturacak olan kıkırdakların büyümesi sebebiyle, trigeminal sinirin oryantasyonu değişerek posterior fossada yükselir ve daha sonra kavum trigeminaleye inmektedir. Dural sınır tabakasının altında mezenşimal hücreler farklılaşarak ona paralel lifli demetler oluşturur. Sonra öne ve mezenşimal boşluğun derinliklerine doğru devam eder. Bu yoğunlaşma, trigeminal

ganglionun lateral kısmına yapışır ve mezenşimal gevşek doku bu iki yapıyı birbirinden ayırır. Subaraknoid boşluk, trigeminal ganglion arka bölümünde görülür. Trigeminal sinirin dallarının mezenşime gömülü olduğu ön bölümde bir boşluk bulunmamaktadır (30, 31). Mezenşimal yoğunlaşma bu aşamada önemlidir. 30 haftalık gelişimde, trigeminal sinir ve dallarını çevreleyen lifli doku arasındaki ilişki için aynı şey görülmektedir. Maksiller ve mandibular sinir ile karşılaştırıldığında, oftalmik sinirin fasikülleri, gangliona girmeden önce ayrılmış gibi görünmektedir (30, 31, 32).

Trigeminal sinirin embriyolojisini bilmek değerlidir. Örneğin; birinci brankial arkus'tan gelişen orta kulak kemikçiklerinin kası musculus tensor timpaninin innervasyonunu mandibular sinir yapar. Aynı yerlerde motor dalları olsa da trigeminal sinirin birinci brankial arkustan gelişen musculus temporalis, musculus masseter, musculus pterygoideus lateralis, musculus pterygoideus medialis, musculus tensor timpani, musculus tensor veli palatini, musculus mylohyoideus ve musculus digastricus venter anterior'un da innervasyonunu sağlamaktadır (28, 30, 32).

2.3 TRİGEMİNAL SİNİR ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ

Trigeminal sinir, beşinci kraniyal sinirdir ve Trifasiyal sinir olarak da adlandırılır. Kraniyal sinirlerin en büyüğü ve aynı zamanda geniş bir dağılım alanına sahiptir. Hem motor hem de motor liften daha büyük olan duyu liflerine sahip bir sinirdir (Şekil 3). Sinir, beyin sapından (pons) kaynaklanır ve başın ve yüzün çeşitli alanlarına dağılır. Çift halde bulunan bir sinirdir ve her sinir başın ve yüzün aynı tarafına dağılır. Trigeminal sinirin üç ana dalı vardır ve bu nedenle Trigeminal adı Latince üç,üçlü manasına gelen “tria” ve çok manasına gelen “geminus” terimlerinden üretilmiştir. Yüzün duysal alanları, vücudun diğer alanlarından daha özel ve karışıktır. Trigeminal sinirin yoğun innervasyon alanları vardır. Trigeminal sinir diğer sinirlere kıyasla çok daha fazla nörona sahiptir.



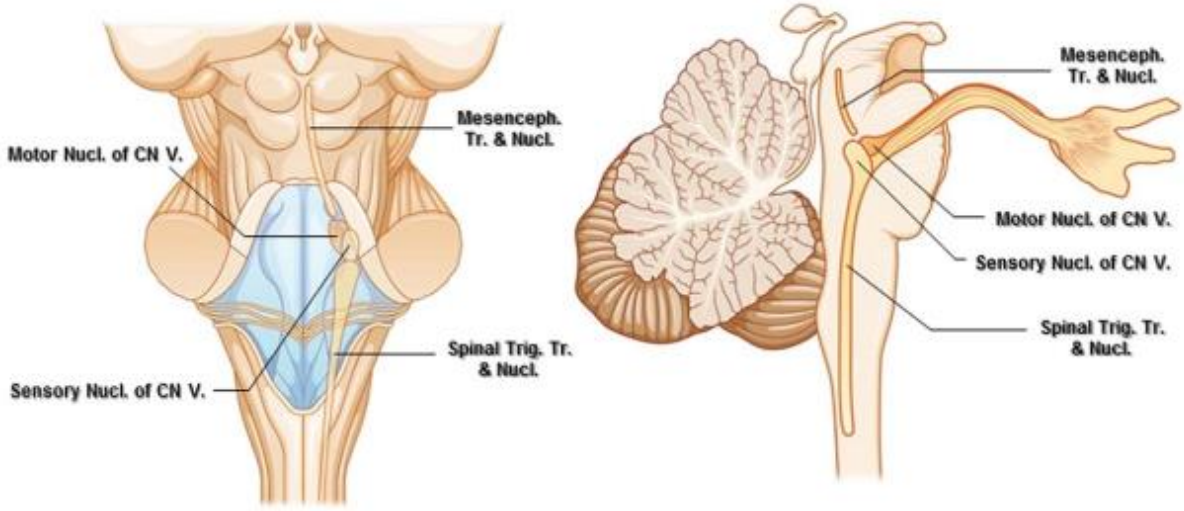
Şekil 3-Trigeminal sinir ve dallarına genel bakış (Gray's Anatomy'den alınmıştır).

Trigeminal sinirin iki ana bileşeni vardır: birinci brankial veya faringeal arkten ortaya çıkan kaslara dağılan özel visseral veya brankial efferent (motor lifler) ve baş ve yüzdeki genel duyuları taşıyan genel somatik afferent (duyu lifleri) olarak ikiye ayrılır. Trigeminal sinir liflerinin bileşenleri, fonksiyonu, santral bağlantıları, hücre gövdelerinin konumu ve periferik dağılımı Tablo 1 'de özetlenmiştir (33).

Tablo 1- Trigeminal sinir liflerinin bileşenleri, işlevi, merkezi bağlantıları, hücre gövdelerinin konumu ve periferik dağılımının özeti

Bileşenler	Fonksiyon	Santral Bağlantı	Hücre Gövdesi	Periferik Dağılım
Genel Somatik Afferent	Genel Duyu	Duyu Çekirdeği	Gasser Ganglionu	Oftalmik, maksiller ve mandibular sinirin yüz ve scalpe giden duyu dalları
Özel Visseral Efferent	Çiğneme	Motor Çekirdek	Motor Çekirdek	Massester, temporal, pterigoid, tensör timpani, mylohyoid, kaslarına giden dalları
Proprioseptif	Kas duyarlılığı	Mezensefalik Çekirdek	Mezensefalik Çekirdek	Çiğneme kasına giden duyu siniri sonlanmaları

Trigeminal sinirin duyu ve motor çekirdekleri beyin sapında bulunur (Şekil 4). Trigeminalin duyu çekirdeği, orta beyin, pons, medulla ve servikal kordun üst iki segmentinde bulunan üç çekirdeğin birleşimindedir. Bunlar mezensefalik çekirdek (orta beyinde), ana veya ana duyu çekirdek (ponsun üst kısmında) ve spinal çekirdek (pons, medulla ve omuriliğin üst iki servikal segmentine uzanan) çekirdeklerdir. Spinal çekirdek üç alt çekirdeğe bölünür (yani pars oralis, pars interpolaris ve pars caudalis). Trigeminal sinirin motor çekirdeği, Trigeminal sinirin ana duyu çekirdeğinin medialinde, ponsun üst ve dorsal kısmında bulunur. Mezensefalik çekirdek, çiğneme kaslarından, temporomandibular eklemden ve ekstraoküler kaslardan proprioseptif uyarılar alır. Duyusal çekirdek dokunma duyusunu alır ve spinal çekirdek, baş ve yüz derisinden, ağız boşluğunun mukozasından, burun boşluğundan ve paranasal sinüslerden ve duyu kök lifleri yoluyla meninkslerden ağrı ve sıcaklık duyusunu alır. Motor çekirdek, çiğneme kasları, digastrik ön karın, mylohyoid, tensör veli palatini ve tensör timpani kaslarını içeren birinci faringeal (mandibular) arkten oluşan yapılara motor kök lifleri yoluyla dağılır (34).



Şekil 4- Trigeminal sinir çekirdeklerinin beyin sapında gösterimi

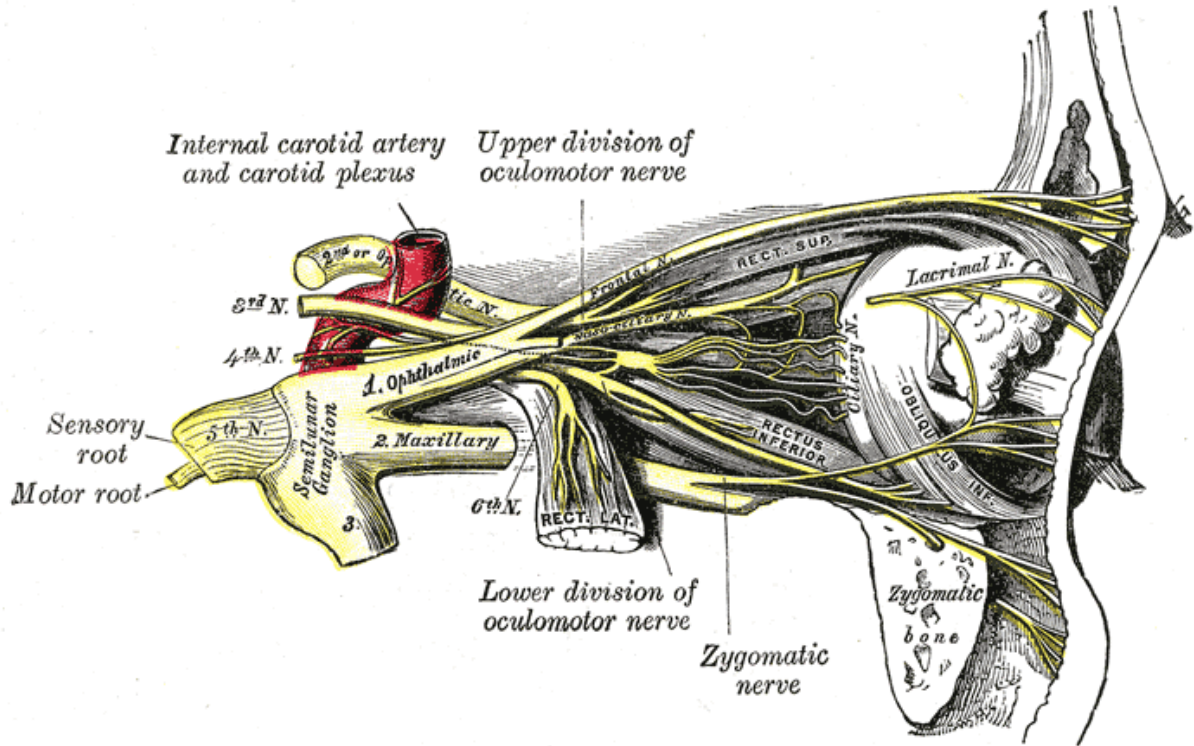
(Aaron Cohen-Gadol M.D. The Neurosurgical Atlasından alınmıştır)

Trigeminal sinir, ponsun orta serebellar pedinkül ile birleştiği yerden, ponsun ventrolateral yüzeyinden çıkar. Büyük bir lateral duysal kök ve küçük bir medial motor kök tarafından oluşturulur. Köklerin beyin sapından çıktığı nokta kök giriş bölgesi olarak bilinir. Trigeminal sinirin duysal kökünün lifleri ponsa girer ve duysal çekirdeklerde sonlanır. Motor çekirdeklerin lifleri, ponstan çıkan motor kökü oluşturur. Trigeminal sinirin duysal ve motor kökleri, spinal sinirlerin dorsal (duysal) ve ventral (motor) köklerine benzer. Motor ve duysal kökler ayrı demetler halinde bulunur ve birlikte Trigeminal siniri oluşturur. Trigeminal sinir, orta kraniyal fossa içerisinde, inferior petröz sinüsün üstünde temporal kemiğin üst yüzüne uzanır. Burada Meckel boşluğu adı verilen duramater'in dış yaprağının oluşturduğu kesenin içine girer (35, 36). Meckel boşluğunun içerisinde trigeminal sinirin duyu ganglionu olan Gasser Ganglionu yer alır. Vücudun en büyük duysal gangliyonudur ve kafa boşluğu içinde bulunan tek duysal gangliyondur. Yarım ay şekline benzediğinden dolayı Semilunar ganglion da denilmektedir. Gasser ganglionu trigeminal sinirin duysal ganglionu olup burada ağrı, ısı, temas ve basınç duyularını ileten nöronların hücre gövdeleri bulunur. Motor lifler duysal ganglionun altında yer alır ve Trigeminal gangliona girmez. Trigeminal ganglionun ön yüzünden Trigeminal sinirin üç periferik dalı çıkar: oftalmik, maksiller ve mandibular dallar (37).

Trigeminal ganglionun ön yüzünden çıkan Trigeminal sinirin üç dalı bulunur. Bunlar oftalmik (V1), maksiller (V2) ve mandibular (V3) sinirlerdir. Bu dallar Meckel oluğunu deler

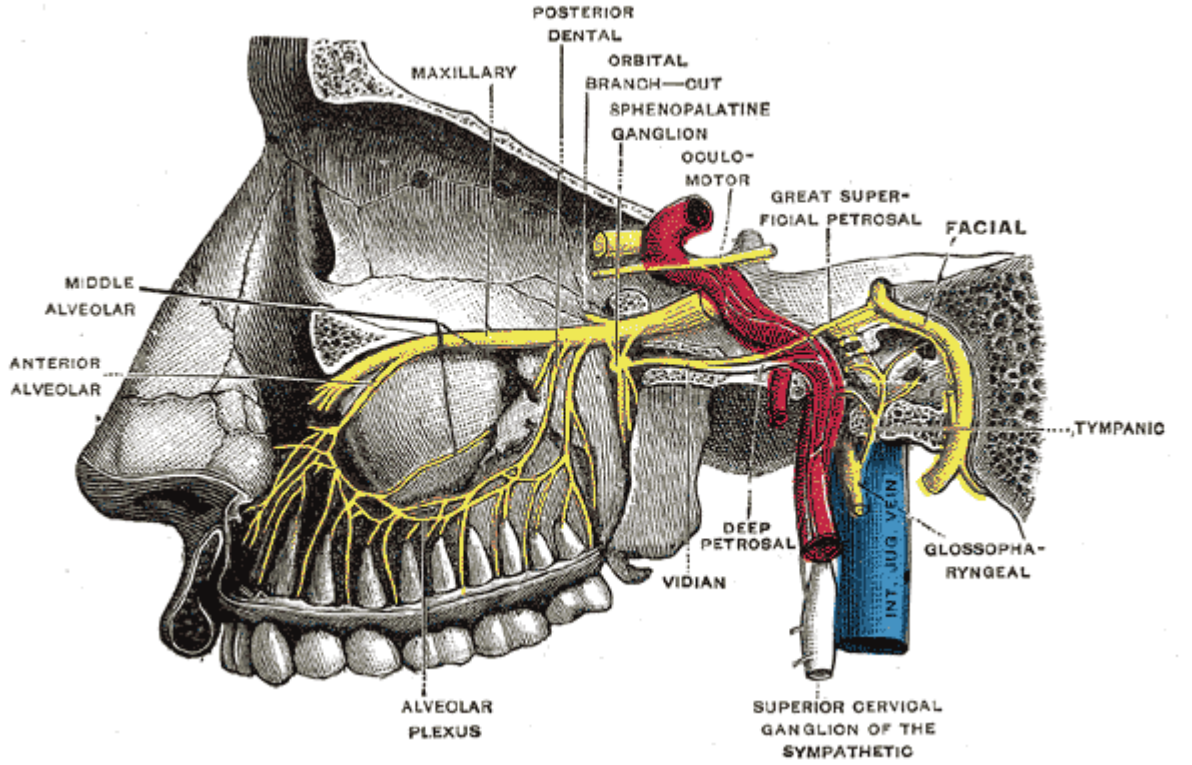
ve orta kranial fossadan foramenlerden çıkmak için ileri geçer. Bu üç bölümün her biri, çeşitli yapılar sağlamak için ufak dallara bölünür. Mandibular bölüm hem duysal hem de motor lifleri taşıırken oftalmik ve maksiller bölümler sadece duysal lifler taşırlar (38).

- Oftalmik Sinir, saf bir duyu siniridir (Şekil 5). Trigeminal sinirin üç bölümünden en küçüğüdür. Gözün motor sinirleri ile birlikte süperior orbital fissürden geçer ve göze ait yapıları, burnu, alnı ve scalp'ın bir kısmını inerve eder (39). Kavernöz sinüsün yan duvarında yer alır ve frontal, lakrimal ve nazosilier sinirlere dallanır. Her üç dal da süperior orbital fissürden orbitaya geçer. Kavernöz sinüs içinde ayrıca meningeal bir dal ve okulomotor, troklear ve abduzens sinirlerine ince dallar verir ve bu sinirlerin uyardığı ekstraoküler kaslardan duysal lifler alır.



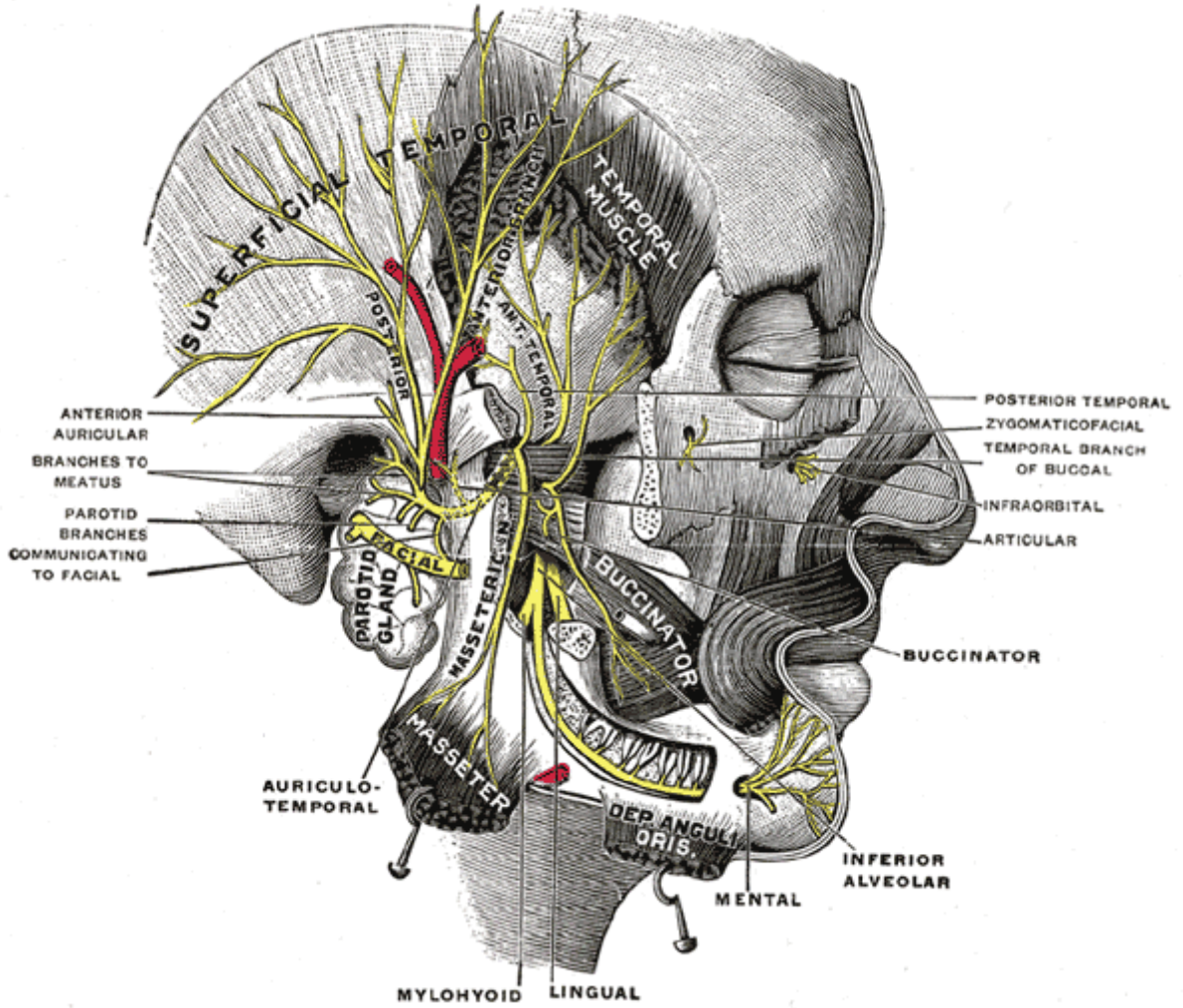
Şekil 5- Oftalmik sinir ve dallarının lateralden görünümü (Gray's anatomy'den alınmıştır).

- Maksiller Sinir, kavernöz sinüsün yan duvarında uzanan bir duyu dalıdır (Şekil 6). Foramen rotundumu geçerek orta kraniyal fossadan ayrılır ve pterygopalatin fossaya girer. Yanaktan başlayarak ağız boşluğunun üst tarafına kadar olan alanın duyu innervasyonunu sağlar (39).



Şekil 6- Maksiller sinirin lateralden görünümü (Gray's anatomy'den alınmıştır).

• Mandibular Sinir, trigeminal ganglionun en büyük dalıdır (Şekil 7). Foramen ovaleden geçerek hemen orta kranial fossadan ayrılır ve temporal fossaya girer. Foramen ovaleden geçerken trigeminal sinirin motor kökü eşlik eder ve ikisi temporal fossada birleşir. Böylece, trigeminal sinirin mandibular dalı hem duyuşal hem de motor liflere sahip karışık bir sinirdir. Alt çeneden başlayıp kulağın altına kadar yüzün ve ağız boşluğunun dil dahil alt bölgesinin duyu inervasyonunu sağlar (39).

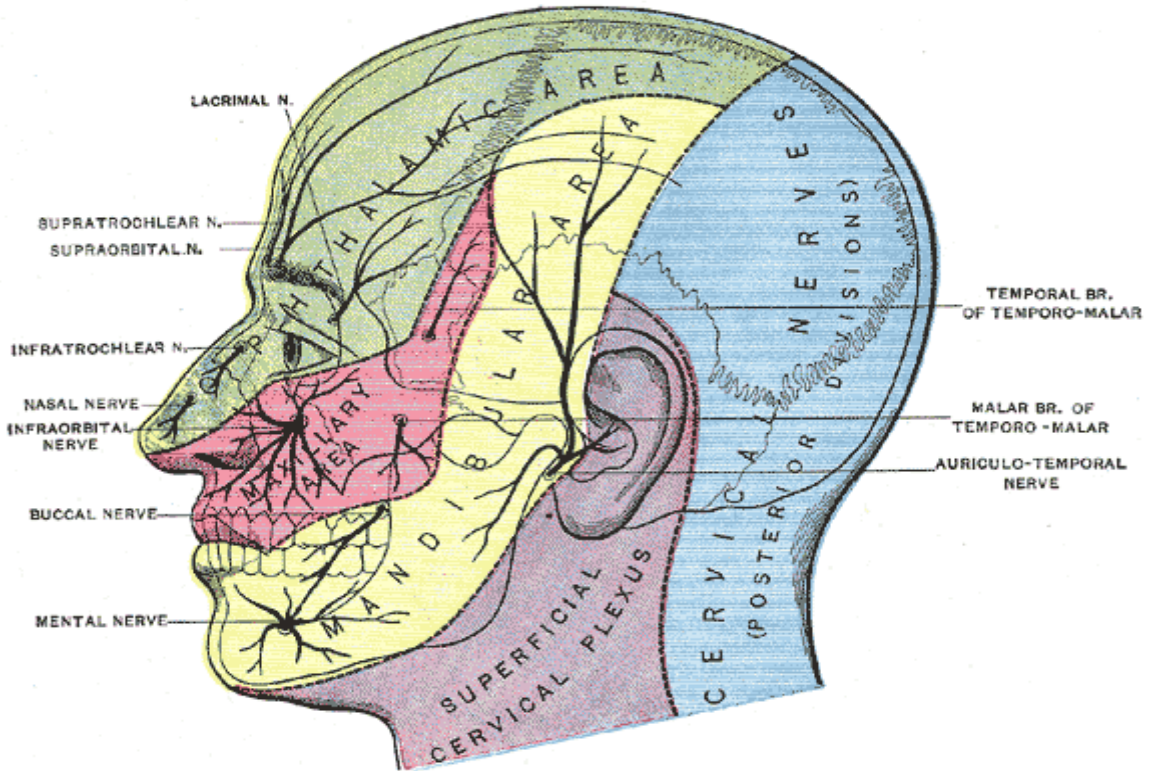


Şekil 7- Mandibular sinirin lateralinden görünümü (Gray's anatomy'den alınmıştır).

Trigeminal sinirin afferent duyu nöronları duyuşal uyarıları iletir. Bu nöronların hücre gövdeleri trigeminal ganglionda bulunur ve uzantıları trigeminal sinire ve dallarına geçer. Bu nöronların periferik uzantıları trigeminal sinirin üç periferik dalında yer alırken, merkezi uzantıları trigeminal sinirin duyuşal kökünden geçer. Bunlar birinci sıra nöronlardır ve trigeminal sinirin ana duyu çekirdeğı ve spinal çekirdeğinde sonlanırlar. Bu nöronlar dokunma, acı ve sıcaklık hislerini taşıır. Bununla birlikte, çiğneme kaslarından ve ekstraoküler kaslardan propriyoseptif uyarıları taşıyan nöronların hücre gövdesi, orta beyindeki trigeminal sinirin mezensefalik çekirdeğinde bulunur (38). Bu nöronların periferik uzantısı, çiğneme kasları (kas içcikleri), mandibular dal motor kökü, trigeminal ganglion ve trigeminal sinir yoluyla mezensefalik çekirdekdeki hücre gövdelerine ulaşmak için ilerler.

Birinci sıra nöronlar, beyin sapındaki trigeminalin (mezensefalik, ana duyu ve spinal çekirdek) duyu çekirdeğinde bulunan ikinci sıra nöronlar ile sinaps yapar. İkinci sıra nöronların aksonları diğier tarafa geçer ve talamusun ventral posteromedial çekirdeğinde geçiş yapmak için ventral (ön) ve dorsal trigeminotalamik yollarda yükselir (38, 40). Ventral (ön) trigeminotalamik yol, kontralateral ana duyuşal ve trigeminalin spinal çekirdeğinden çapraz lifleri alır ve kaba dokunma, ağrı ve ısı duyumları taşıır. Dorsal (arka) trigeminotalamik yol, çoğunlukla karşı taraftaki ana duyu çekirdeğinden çapraz lifleri ve ipsilateral ana duyu çekirdeğinden birkaç çaprazlanmamış lifi alır ve ince dokunma ve propriyoseptif duyuşlar taşıır. Hem ventral hem de dorsal trigeminotalamik yollar, talamusun ventral posteromedial çekirdeğine uzanır. Bu lifler (ikinci sıra nöronlar) talamustaki nöronlarla, yani üçüncü sıra nöronlarla sinaps yapar. Üçüncü sıra nöronların (talamokortikal lifler) aksonları, santral sulkusun arkasındaki duyuşal serebral kortekse doğru uzanır (38, 40). Mezensefalik çekirdekdeki (propriyoseptif lifler) birinci sıra nöronların kısa bir süreci vardır. Bu nöronlar, trigeminal sinirin motor çekirdeğindeki nöronlarla ve talamusun ventral postero medial çekirdeğine propriyoseptif duyu taşıyan mezensefalik çekirdekdeki ikinci sıra nöronlarla (dorsal trigeminotalamik yollar yoluyla) sinaps yapar ve daha sonra talamokortikal lifler yoluyla birincil duyu korteksine uzanır. Trigeminal çekirdekler içinde ve trigeminal çekirdekler ile diğier beyin sapı çekirdekleri arasında çok sayıda çekirdek içi ve çekirdekler arası bağlantı vardır (38, 41). Ayrıca superior kollikulus ve serebellar korteks ile bağlantıları vardır (42, 43). Ayrıca beyin sapında (kortikobulbar yollar) her iki tarafta serebral korteksten trigeminal sinirin duyu ve motor çekirdeğine kadar uzanan nöronlar vardır. Bu liflerin çoğı çapraz yapmıştır (kontralateral korteksten) ve inhibitör işlevi vardır (trigeminal sinirin duyuşal ve motor çekirdeklerini inhibe eder) (37).

Trigeminal sinir, dalları aracılığıyla başın ve yüzün çeşitli yapılarını innerve eder (Tablo 2, 3, 4). Trigeminal sinirin üç ana dalının dermatomları Şekil 8’de gösterilmiştir. Oftalmik (V1) dalı alın, üst göz kapağı, konjonktiva, kornea, burun, burun mukozası, frontal sinüs, lakrimal bez dahil ve kafa derisi tepe noktasına kadar yüzün üst üste birlik kısmına duyuşal besleme sağlar. Aynı zamanda kornea refleksinin afferent uzvunu oluşturur. Maksiller (V2) dalı, şakak üstü cilt, alt göz kapağı ve konjonktiva, yanak, üst dudak, burun delikleri, burun mukozası, üst dişler ve diş etleri, maksiller sinüs, damak ve farenksin mukozası dahil olmak üzere yüzün orta üste birine ve orta kraniyal fossanın dura materine duyuşal lifler sağlar. Maksiller sinir ayrıca sekretomotor lifleri gözyaşı bezine ve damak, burun, maksiller sinüs ve ağız boşluğu bezlerine taşır (44, 45). Mandibular (V3) dalının duyuşal lifleri, alt dudak, çene dahil olmak üzere; mandibula açısı üzerindeki küçük alan, alt dişler ve diş etleri, kulak kepçesinin bir kısmı, şakak ve meninkslerin bir kısmı hariç olmak üzere yüzün alt üste birine duyuşal lifler sağlar (44). V3 ’ün motor lifleri, çiğneme kaslarını (masseter, temporalis, medial ve lateral pterygoid), mylohyoid, digastrik ön karnı, tensör veli palatini ve tensör timpani kaslarını besler. Mandibular sinir, çene sarsıntısı (masseter veya çiğneme) refleksinin hem afferent hem de efferent uzuvlarını oluşturur.



Şekil 8- Trigeminal sinir üç ana dalının duyuşal dağılımı (Gray’s anatomy’den alınmıştır).

Tablo 2- Oftalmik sinirin (V1) dalları ve dağılımı

Sinir	Dalları	Dağılımları
Frontal sinir	Supraorbital sinir Supratrohlear sinir	Scalp, konjonktiva, üst göz kapağı, alın, frontalis kası
Lakrimal sinir	Maksiller sinirin zigomatik sinirinden dallar alır	Lakrimal bez, konjonktiva, üst göz kapağı
Nazosilier sinir	Posterior etmoid sinir, anterior etmoid sinir, silier ganglion dalları, infratrohlear sinir	Anterior, frontal, etmoid sinüsler, nazal duvar, anterior septum, göz, silier cisim, iris, kornea, Posterior etmoid sfenoid sinüsler

Tablo 3- Maksiller sinirin (V2) dalları ve dağılımı

Sinir	Dalları	Dağılımlar
Middle meningeal sinir		Dura
Zigomatik sinir	Zigomatikotemporal Zigomatikofasial	Lakrimal bez, Alın, Yanak
Süperior alveolar sinir	Middle, anterior, posterior alveolar	Dişeti, yanağın gerisi, dişler, nazal taban
Ganglionares	Parasympathica sympathica sensoria orbitales nasales posteriores nasopalatini pharyngeus palatinus major palatini minores	Burun, damak, pharynx mukozası, ağız boşluğu ve orbita
İnfraorbitalis	Palpebralis inferiores nasales externi nasales interni labiales superiores	Alt göz kapağı, burun kanatları ve üst dudak

Tablo 4- Mandibular sinirin (V3) dalları ve dağılımı

Sinir	Dalları	Dağılımlar
Rekürren meningeal		Dura
Pterygoideus medialis	Musculi tensoris veli palatini, musculi tensoris tympani	Medial pterigoid, tensor veli palatini, tensor tympani kasları
Massetericus		Temporomandibular eklem, masseter kası
Temporales profundi		Temporalis kası
Pterygoideus lateralis		Lateral pterigoid kası
Buccalis		Yanak derisi, ağzın mukozası ve gingiva
Auriculotemporalis	n. facialis ve ggl. oticum'a dal, n.auriculari anteriores, n.meatus acustici externi, rr.temporales superficiales, rr.membrana tympani, rr.parotydei, rr.articulares	Parotis bezi, kulak kepçesi, şakak, dış akustik meatus ve timpanik zar, mandibula boynu
Lingualis	R. communicans, Rr. Communicantes, Rr. Ganglionares, Rr. Isthmi faucium, Rr. Linguales, N. sublinguales	Dilin ön üçte ikisinin müköz zarı, boğaz istmusunun alt kısmı ve alt dişetlerinin lingula yüzeyleri dahil ağız tabanı
Alveolaris inferior	N. mylohyoideus, Plexus dentalis inferior, N. mentalis	M.mylohyoideus'u ve m. digastricus'un ön karnı, çene ucu derisi, alt dudak derisi ve mukozası

2.4 TRİGEMİNAL NEVRALJİ

Trigeminal nevrалji (TGN), beşinci kranial sinirin bir veya birden fazla dalının dağılımında meydana gelen, tekrarlayan şiddetli, delici ağrıyı ifade eder. Kraniofasial ağrı bozukluklarının en yaygın türlerinden biridir. Ağrı algısı tipik olarak tek taraflıdır, aniden başlar, süresi kısadır ve genellikle önemsiz uyaranlardan sonra başlar. TGN'nin ilerlemesi ile ağrı sıklığı arasındaki süre kısalır. İlerlemiş vakalarda hastalar günün çoğu vaktinde ağrıdan şikâyet edebilirler ve oral ağrı kesicilere yanıt çok zayıf kalabilir. Ağrı en sık trigeminal sinirin maksiller (V2) veya mandibular (V3) dallarının dağılımında hissedilir (46). Daha az yaygın olan sunumlar, V1 ve V2, V2 ve V3 veya üç bölümün tümünün kombinasyonlarını içerir (46).

2.4.1 Trigeminal Nevralji Epidemiyolojisi ve İnsidansı

TGN'nin genel insidansı bir milyonda yaklaşık 40-50 vakadır ve tahmini prevalansı milyonda yaklaşık 100-200'dür (47). TGN insidansı, 18 yaşından küçük insanlarda milyonda 5'ten daha az olmak üzere yaşa göre önemli ölçüde değişir ve bazı çalışmalarda daha büyük yaş gruplarında milyonda 800'e kadar çıktığı tahmin edilmektedir (48, 49, 50). En sık 35-65 yaş aralığındaki hastalar etkilenir (51). TGN kadınlarda erkeklere göre hemen hemen iki kat fazla görülmektedir (52, 53). Kalıtsal TGN formları bildirilmiştir ancak nadirdir ve toplam TGN'nin %4-5'inden azını oluşturur (54). Bununla birlikte, bilateral TGN'li hastalar, tek taraflı prezentasyonlu hastalara göre daha yüksek bir kalıtsal yatkınlığa sahiptir (55). Net bir kanıt olmamasına rağmen, hipertansiyonu ve migreni olan kişilerde TGN gelişme riski daha yüksek görünmektedir (52).

2.4.2 Trigeminal Nevralji Patofizyolojisi

Trigeminal nevrалji'nin etiyolojisi hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Trigeminal nevrалjinin çoğunluğu idyopatikdir, ancak başka nedenlerle de ilişkilendirilebilmektedir. Şimdiye kadar en yaygın kabul gören hipotez ise kök giriş bölgesindeki vasküler bası hipotezidir. İdiopatik trigeminal nevrалjinin etyopatogenezi araştırılmaya devam etmektedir (56).

En yaygın olarak kabul edilen teori, nevrалjik ağrının nedeni olarak dorsal kök giriş bölgesinde pons bitişiğindeki trigeminal sinir kökünün sıkışmasıdır (57, 58). Vasküler halka, arteriyovenöz malformasyon, anevrizma, posterior fossa meningiomları, vestibüler

schwannoma, epidermoid veya tüberküloz gibi tümörler, araknoid kist tarafından posterior fossa içeriğinin bozulması veya kranio-vertebral bileşke anomalisi veya sinirin kafa tabanına sıkışması doğrudan kompresyona neden olur. TGN vakalarının %2'sine tümörler katkıda bulunur (59). Trigeminal sinir dorsal kök giriş bölgesini geren tümör nevrojenik ağrıya neden olurken, trigeminal ganglionun periferik dallarını tutan tümör nevrojenik ağrı yerine sürekli ağrıya neden olur. Nörovasküler kompresyon teorisine göre, vakaların %80-90'ında nevrojeninin nedeni vasküler halkadır. Vakaların %85'inde en sık tutulan damar superior serebellar arterdir, bunu anterior inferior serebellar arter, posterior inferior serebellar arter ve vertebral arter takip eder (60, 61). TGN'li hastaların çoğunda komşu arterler tarafından baskı görülmüştür. Bu veriler, trigeminal sinirin arteriyel kompresyonunun TGN ile ilişkili olduğu hipotezini desteklemektedir (62). Vasküler baskı TGN'nin en yaygın nedeni olduğundan, bu nedenle, yeni teşhis edilen tüm vakalarda, sinir etrafındaki vasküler sıkışmayı ekarte etmek için bir manyetik rezonans görüntüleme görülmelidir (57, 63). Bununla birlikte, vasküler loop, tüm vakalarda semptomların ortaya çıkışını açıklamaz. Kanıtlanabilir vasküler basıların da birçok kez asemptomatik olduğu kanıtlanmıştır. Vasküler kompresyon hipotezi, hem damar komşuluklarının trigeminal sinirin kök kısmında görülmesi, hem de dekompresyon tedavisi sonrası hastaların belirtilerinde azalmaya dayandırılmaktadır. Ancak dekompresyon yapılan her hastada etkili olmaması ve bazı TGN vakalarında damar kompresyonuna rastlanmaması ise hipotezin eksikliklerindendir (64).

Dott 1951'deki yayınında TGN ataklarının demiyelinize olmuş olan aksonların ara bağlantılarından başlayan spontan aktivite sebebiyle ortaya çıktığını ileri sürmüştür. TGN'nin mekanizmasından bağımsız sinirin duyu kökünde yer aldığını öne sürmüştür (65, 66).

Dubner ağrının deri veya oral dokulardaki, miyelinli düşük eşikli afferent aksonların innerve ettiğini söylemiştir. Demiyelizasyon alanlarında sinir iletiminin bozulmayacağını, ancak tekrarlı ateşlemeler ortaya çıkabileceğini söylemiştir (67). Bununla birlikte dorsal kök ganglionunda spontan ektopik deşarj oluşabilir ancak miyelinli duyu aksonları ağrıyı taşıyamaz genellikle vibrasyon ve dokunma duyusunu taşıdığı için demiyelizasyon, paroksizmal ağrıyı tam anlamıyla açıklamaktan uzaktır.

Kugelberg ağrının dokunma aksonları ile taşınmamakta olduğunu öne sürmüştür. Davor ise "ignition hipotezi"ni geliştirerek normalde akson etrafındaki izolasyon azaldığında nörondaki impuls akımı komşu nörona da yayıldığını ifade etmiştir. Dokunma duyusu ile ağrı duyusu taşıyan aksonların çapraz olarak etkileşimi sonucu paroksizmal ağrı meydana gelir.

Kök giriş bölgesindeki damarların sinire uzun süreli teması sonucu demiyelizasyona yol açması paroksizmal ağrıya neden olabileceği düşünülmektedir (68). Bu hastaların dekompresyondan fayda görmesi, bu teoriyi desteklemekle beraber yapılan manyetik rezonans görüntülemelerinde (MRG) ve kadavra çalışmalarında belirtisi olmamasına rağmen sinirlerde nörovasküler basının olduğu görülmüştür. MRG’da TGN bulgusu olmayan kişilerde nörovasküler bası %46 oranında tek taraflı, %37 oranında da bilateral olarak görülmektedir. TGN hastalarında ise %90 üzerinde semptomatik tarafta, %50 oranında ise asemptomatik tarafında nörovasküler bası gözlenmektedir (69).

TGN hastalarının çoğunda ateroskleroz gibi vasküler rahatsızlıklar da görülebildiği için bazı yazarlar nevraljinin vasküler rahatsızlıklardan kaynaklanabileceğini söylemiştir. Trigeminal sinirin periferik ve santral kısmını besleyen damarlarda morfolojik ve fonksiyonel bozukluklar olduğunu göstermiş olmalarına rağmen damar patolojisi ile TGN arasında bağlantıyı desteklemekte olan kanıt bulamamışlardır (65).

Jia & Li’nin hipotezi ise biyorezonanstır. Bu hipoteze göre trigeminal siniri saran yapılardaki boyut, lokalizasyon gibi fiziksel faktörler değiştiğinde bu çevre dokuların titreşim frekansının trigeminal sinirin frekansına yaklaşması sonucunda biyorezonans oluştuğudur. Genlik artışı, aksonların yapısına veya membranın geçirgenliğine zarar vererek sinirde anormal impuls akışına neden olabileceği öne sürülmüştür. Vasküler yapıların titreşim frekansı, trigeminal sinirin frekansına ulaştığında vasküler kompresyon olmaksızın ağrıya sebep olacağı öne sürülmüştür. Bu hipotez hem MRG’de nörovasküler bası olmamasına karşın klinik semptomu olmayan hastaları, hem de MRG’de vasküler bası görülmeyen ancak nörovasküler dekompresyon tedavisi ile semptomlarında azalma olan hastaları açıklamıştır (70).

Ishikawa, idiyopatik TGN hastalarına uygulanan cerrahi tedavilere göre sinir kökü ile çevre dokular arasındaki araknoidmaterde kalınlaşma veya granüloamatöz adhezyonun trigeminal sinir kökünde açılasmaya sebep olabileceğini öne sürmüştür. Bu yapıların sinirin pulsatil hareketini kısıtlayarak daha fazla gerilime sebep olarak sinirin aşırı uyarılabilirliğini artırabileceği söylenmiştir (71).

Daha sonra yapılan çalışmalarda trigeminal sinir ile ilgili yapılarda morfolojik değişiklikler olduğu gözlenmesiyle TGN’nin talamus, trigeminal sinirin çekirdekleri veya

kortex serebri hasarı gibi santral mekanizmalar nedeniyle oluştuğunu varsayan teoriler söylenmiştir (65).

Bazı yazarlar, trigeminal sinirle ilgisi olmayan cerrahi müdahaleleri takiben TGN'nin başladığını, bireysel duyarlılık, ameliyat sonrası basınç ve beyin omurilik sıvısı akışındaki değişiklikleri ve trigeminal sinirin vasküler yapı ile temasına yol açan değişiklikleri nevralkjik ağrının bir nedeni olarak bildirmektedir (72).

2.4.3 Trigeminal Nevralji Sınıflandırma

The International Classification of Headache Disorders'ın üçüncü beta sürümü (ICHD-3) ne göre TGN'nin “Klasik trigeminal nevralkji, Sekonder trigeminal nevralkji, İdiyopatik trigeminal nevralkji” olmak üzere üç alt tipi vardır.

1.Klasik trigeminal nevralkji; Nörovasküler kompresyon dışında belirgin bir neden olmadan gelişen trigeminal nevralkjidir.

- a) Klasik trigeminal nevralkji, tamamıyla paroksizmal
- b) Sürekli ağrının eşlik ettiği klasik trigeminal nevralkji

2.Sekonder trigeminal nevralkji; Altta yatan bir hastalığın neden olduğu trigeminal nevralkjidir. Bu hastaların önemli bir bölümünde, klinik muayenede duyuşal değişiklikler görülür.

- a) Multipl skleroza bağlanan trigeminal nevralkji
- b) Yer kaplayıcı lezyona bağlanan trigeminal nevralkji
- c) Diğer bir nedene bağlanan trigeminal nevralkji

3. İdiyopatik trigeminal nevralkji; Ne elektrofizyolojik testlerde ne de MRG'de anlamlı anormalliklerin görülmediği trigeminal nevralkjidir.

- a) İdiyopatik trigeminal nevralkji, tamamıyla paroksizmal
- b) Sürekli ağrının eşlik ettiği idiyopatik trigeminal nevralkji

2.4.4 Trigeminal Nevralji Tanı Kriterleri

The International Classification of Headache Disorders'ın üçüncü beta sürümü (ICHD-3) ne göre “Trigeminal sinirin bir veya birden fazla dalının dağılımıyla sınırlı kalan ve çoğunlukla zararsız uyarılarla tetiklenen, ani başlayan, tekrarlayıcı tek taraflı kısa elektrik şoku benzeri ağrılarla karakterize bir bozukluktur”. Belirgin bir neden olmadan gelişebilir veya tanısı konmuş başka bir bozukluktan dolayı ortaya çıkabilir. Etkilenmiş sinir dallarının dağılımları içinde eş zamanlı orta şiddette sürekli ağrı olabilir.

Tanı kriterleri:

A. Trigeminal sinirin bir veya birden fazla dalının dağılımlarında, ileriye herhangi bir yansıma olmaksızın görülen ve B ve C kriterlerini karşılayan tekrarlayıcı tek taraflı yüz ağrısı paroksizmleri

B. Ağrının aşağıdaki özelliklerin tümünü karşılaması:

1. bir saniye ile iki dakika devam etmesi
2. ağır şiddetli
3. elektrik şoku benzeri, çarpıcı, saplanıcı veya keskin özellikte

C. Etkilenmiş trigeminal dağılım içerisinde çoğunlukla zararsız uyarılardan sonra ortaya çıkması

D. Başka bir ICHD-3 tanısı ile daha iyi açıklanamaması

2.4.5 Trigeminal Nevralji Tedavi Trendi

TGN yönetimi, esas olarak, tipik olarak antikonvülzanların kullanımı ile cerrahi olmayan yolları içerir. TGN için tedavi seçenekleri kısmen hastanın yaşı, tıbbi komorbiditeleri ve başarılı veya başarısız olan önceki tedaviler gibi faktörler tarafından belirlenir (73). Genellikle cerrahi olmayan tedaviler ile başlanılır ve cevap alınırsa tedavi azaltılmaya çalışılır. Cevap alınamadığı durumlarda yetmiş yaş altı ve ek komorbiditeleri bulunmayan hastalarda mikrovaküler dekompresyon tercih edilirken, yetmiş yaş üstü ve ek komorbiditeleri bulunan hastalarda acil ağrı giderme amaçlı intravenöz Tegretol veya perkütenöz riztomi tercih edilebilirken uzun vadeli tedavi için radyocerrahi tercih edilebilir (73).

Tipik olarak, cerrahi olmayan tedavi, yeni tanı konmuş TGN'li hastalar için ilk tedavi seçeneğidir. Antikonvülsanlar en sık reçete edilen ilaçlar iken, narkotikler, trisiklik antidepresanlar ve benzodiazepinler de tedavi için kullanılmıştır (73). İlk farmakolojik tedavi, özellikle ağrı kontrolü gerektiren hastalar için tipik olarak antikonvülzan karbamazepin (Tegretol) ile başlar. Klasik TGN tedavisinde etkili olduğu belirlenmiştir (74). Karbamazepin'in başarı oranı %70'den fazladır fakat hematopoetik sistem üzerinde yan etkileri açısından dikkatli olmak gerekir (75). Karbamazepine iyi yanıt vermeyen hastalarda karbamazepinin bir analogu olan okskarbazepin kullanılabilir. Bu ilaç, yan etkileri azaltırken karbamazepinin antinöraljik ve antiepileptik etkilerini korumak için geliştirilmiştir. Karbamazepin ve okskarbazepine dirençli veya intoleransı olan hastalar için baklofen tedavisi düşünülebilir. TGN de kanıt düzeylerine göre tedavi başlangıç algoritması gösterilmiştir. (Tablo 5) (76). Bununla birlikte, hastaların tıbbi tedaviye dirençli hale gelmesi ve ardından cerrahi veya ablatif prosedürler gerektirmesi nadir değildir (73). TGN de çoğunlukla kullanılan ilaçların etki mekanizmaları, doz aralıkları ve yan etkileri tablo 6 'da gösterilmiştir (77).

Tablo 5- TGN'de ilaç tedavisi için kanıtların, ilk ve ikinci sıra tedavi önerileriyle birlikte sınıflaması

Ağrılı Durum	A Düzeyi Değer	B Düzeyi Değer	C Düzeyi Değer veya A/B Düzeyi Kanıtlarla zayıf/tutarsız sonuçlar	İlk Sıra için Öneriler	İkinci/Üçüncü sıra için Öneriler
Trigeminal Nevralji	Karbamazepin	Okskarbazepin	Baklofen lamotrijin	Karbamazepin Okskarbazepin	Cerrahi

Tablo 6- TGN de çoğunlukla kullanılan ilaçların etki mekanizması, doz ve yan etkileri

İlaç Tedavisi	Etki Mekanizmaları	Dozaj	Yan Etkiler
Karbamazepin	Voltaj bağımlı sodyum kanallarının yavaş geri kazanımı, kalsiyum kanalı aktivitesini modüle eder, azalan inhibitör modülasyonu aktive eder	Günlük 200–1200 mg	Mide bulantısı, uyuşukluk, yorgunluk, baş dönmesi, hafıza sorunları, diplopi, nistagmus, karaciğer fonksiyon bozukluğu ve hematosüpresyon
Fenitoin	Voltaj bağımlı sodyum kanallarını inaktif durumlarında sabitleme yoluyla elektriksel iletimi azaltır	Günlük 300–500 mg	Nistagmus, ataksi, geveleyerek konuşma, azalmış koordinasyon, zihinsel karışıklık
Okskarbazepin	Karbamazepin ile aynı	2 bölünmüş dozda günlük 300–1800 mg	Azalmış kan sodyum seviyesi, baş dönmesi, yorgunluk, baş ağrısı, titreme, uyuşukluk, azalan konsantrasyon, diplopi ve kekemelik
Lamotrijin	Voltaj bağımlı kanalların geri kazanım oranını yavaşlatarak sodyum kanallarının tekrarlayan ateşlemesini azaltır	2 bölünmüş doz halinde günlük 100–150 mg;	Uyku hali, baş dönmesi, baş ağrısı, vertigo, döküntü, Stevens-Johnson sendromu
Gabapentin	A2/Δ alt birimine bağlanarak voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının blokajı	Günde 3 veya 4'e bölünmüş dozlar halinde günlük 1200–3600 mg	Yorgunluk, somnolans, baş dönmesi, ataksi, nistagmus ve tremor
Topiramet	Voltaj bağımlı sodyum kanalı blokajı; γ-aminobutirik asit aktivasyon reseptör mekanizmalarının güçlendirilmesi	2 bölünmüş dozda günlük 200–300 mg	Yorgunluk, sinirlilik, titreme, kilo kaybı ve konsantrasyon/dikkat güçlüğü

Medikal tedaviye dirençli veya tolere edemeyen hastalar cerrahi için aday olabilir. Olası girişimsel prosedürler arasında mikrovasküler dekompresyon, stereotaktik radyocerrahi (gama bıçağı, radyofrekans termokoagülasyon, mekanik balon kompresyonu veya kimyasal (gliserol) enjeksiyonu dahil) ve perkütan rizotomi bulunur. 2008'de Amerikan Nöroloji Akademisi ve Avrupa Nörolojik Dernekler Federasyonu'ndan yayınlanan sistematik bir gözden geçirme ve uygulama parametresi, mikrovasküler dekompresyon, gasserian ganglion üzerindeki perkütan prosedürlerin (rizotomi) ve gama knife radyocerrahinin en olumlu

sonuçları olduğu sonucuna varılmıştır. Periferik nörektominin TGN tedavisindeki etkisi negatif veya sonuçsuz olarak kabul edilmiştir (76).

2.5 BEVACİZUMAB (Anti VEGF)

2.5.1 Tanımı ve Etki Mekanizması

1983 yılında tümör dokularının vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) salgıladığı bildirilmiştir. 1989 yılında deneysel çalışmalar için laboratuvarında VEGF üretimi başlamıştır. Antianjiyogenik ajanların kanser hastalarındaki tedavi edici etkisi ile ilgili ilk çalışmalar 1990'lı yıllarda başlamıştır. Bu çalışmalar VEGF' e karşı monoklonal antikorların kullanımının in-vivo olarak tümör büyümesini yavaşlattığını ya da durdurduğunu göstermiş, bu da bevacizumabın geliştirilmesine sebep olmuştur.

Bevacizumab vasküler endotelyal growth faktöre bağlanan ve biyolojik aktivitesini engelleyen, yeni damar oluşumunu engelleyip anjiyogenezi inhibe eden 149 kD ağırlığında VEGF-A ligandına karşı rekombinant humanize monoklonal immünglobulin antikordur (78).

VEGF-A patolojik anjiyogenez için VEGF'in en etkili olan alt tipidir. Bu yüzden üzerinde en çok çalışılan ve farmakolojik olarak hedeflenmiş büyüme faktörü olarak kabul edilir. VEGF-A epitelyal, endotelyal, inflamatuvar ve hematopoetik hücrelerde üretilir. Üretildikten sonra vasküler endotel hücrelerine seçici olarak bağlanır ve anjiyogenezi uyarır. Hem normal hem anormal anjiyogenez ile ilişkisi nedeniyle VEGF-A hem proanjiyogenik hem de antianjiyogenik ajan olarak kabul edilir ve bu nedenle tedavi için üzerine odaklanılan bir hale gelmiştir (79).

IgG1 yapısında olan bevacizumab anti-VEGF rekombinant insan monoklonal antikorudur (78). VEGF-A'nın tüm izoformlarını inhibe edebilmektedir. Bevacizumab'ın yarı ömrü yaklaşık 20 gündür. Bevacizumab dolaşımdaki VEGF'i bağlayarak reseptör aktivasyonunu engellemektedir. Bu şekilde endotel proliferasyonunu ve yeni damar oluşumunu kısıtlar. Bu şekilde olası anormal vaskülarizasyonun önüne geçebildiği düşünülmüştür. Ayrıca bevacizumab VEGF'in neden olduğu hücre geçirgenliğindeki artış, vasküler endotel hücrelerindeki nitrik oksit üretimini ve monosit ve endotel hücrelerindeki VEGF'in indüklediği doku faktör üretimini inhibe eder (80, 81). Bevacizumab VEGF-A'ya yüksek özgüllük ile bağlanması sonucu anormal damar oluşumunu inhibe etmekte ve kapiller permeabilityi azaltmaktadır (82). Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda VEGF inhibisyonu

halinde endoplazmik retikulum aracılı apoptoz yolları üzerinden serebral iskemik-reperfüzyon hasarının azaldığı tespit edilmiştir (10). Bevacizumabın vaskülarizasyonu normalleştirdiği, sinir rejenerasyon ve remiyelinazyonunu sağladığı birkaç çalışmada görülmüştür (83). Hasarlanan bir sinir sistemi lokalizasyonunda anjiyogenezis yararlı bir durumdur. Ancak aşırı anjiogenezis olabileceği bunda hasarlı bölgeye zarar verebileceği bazı çalışmalarda bildirilmiştir. Bu yüzden anti-VEGF tedavisi ile birlikte limitli bir anjiogenezis sağlanarak sinir sisteminde hasarlı lokalizasyonlarda olumlu bir etkisinin olabileceği düşünülmüştür (83).

VEGF aktivasyonu tümörlerde anjiyogenezisde rol oynamaktadır. Bevacizumab bir antikanser ajanıdır, tümör hücrelerinde anjiyogenezisi inhibe eder ve sitotoksik kemotöropatik ajanlarla kombine etki gösterir. Bu monoklonal antikörler başlangıçta VEGF'e bağlanır. Bevacizumab VEGF'e bağlanınca kan damarlarındaki endotel yüzeyinde bulunan VEGF reseptörüne bağlanmasını engeller. VEGF reseptörlerinin aktivasyonu endotel hücrelerinin büyümesi ve tümör için besleyici yeni kan damarlarının oluşmasına neden olur. Bu büyüme ve yeni damar oluşumunun engellenmesi tümör hücrelerinin sitotoksik ilaçlara duyarlılığını artırır (84, 85).

Bevacizumab genetik olarak tasarlanmış insan ve fare bileşeni olan bir fare antikoru. Anjiyogenezisi inhibe eden Bevacizumab bu mekanizma ile etkisini gösteren yani antianjiyogenez etkisi olan ve kanser tedavisinde kullanılmak üzere onay alan ilk antianjiyogenik ajandır (80).

Bevacizumab birçok neoplastik hastalık dışında da bazı non neoplastik durumlar da özellikle diyabetik retinopati ve maküla dejenerasyonunun tedavisinde de denenmiştir, yine bu verilerden yola çıkılarak Anti-VEGF olan bevacizumab molekülü sinir sisteminin çeşitli hastalıklarının tedavisi için çeşitli çalışmalar ile denenmiştir. Bu çalışmalar göstermiştir ki bevacizumabın sinir hücrelerinin hem korunmasında hem de yenilenmesinde etkisi olabilmektedir (14, 83).

2.6 DENEYSEL NÖROPATİ NÖROTOKSİSİTE/NÖROMODÜLASYON MODELLERİ VE YÖNTEMLERİ

Deneyisel nöropati-nörotoksiste modellerini dört ana başlık altında toplayabiliriz;

- 1-Santral uygulamalara bağlı modeller
- 2-Sistemik uygulamalara bağlı modeller
- 3-Total denervasyon modelleri
- 4-Parsiyel denervasyon modelleri

2.6.1 Santral uygulamalara bağlı modeller

- 1-Epileptojenik yaklaşımlar (86, 87)
- 2-Eksitotoksik omurilik zedelenmesi (88)
- 3-Fotokimyasal omurilik iskemisi (89)

2.6.2 Sistemik uygulamalara bağlı modeller

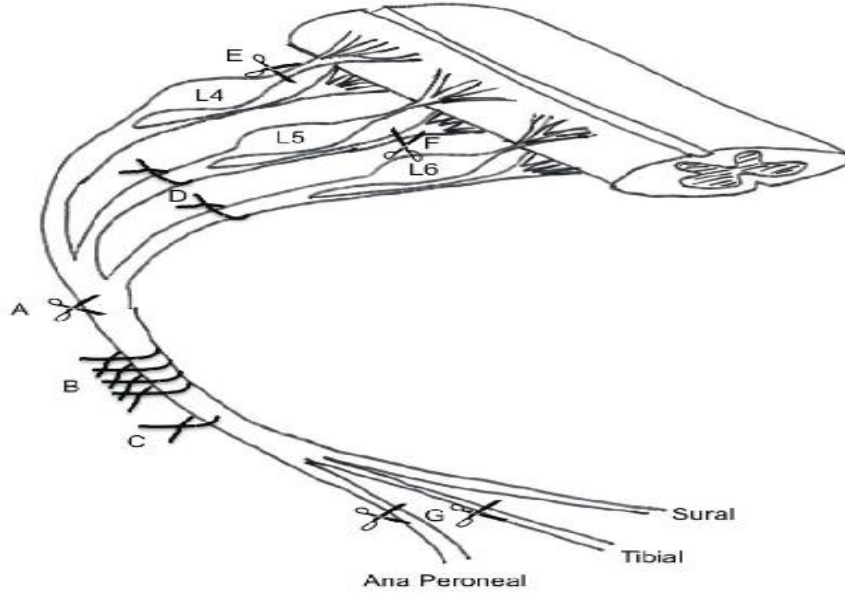
- 1-Streptozosin ile oluşturulan diyabetik nöropati (90)
- 2-Alloksan ile oluşturulan diyabetik nöropati (91)
- 3-Nutrisyonel diyabetik nöropati (90)
- 4-Postherpetik nevralji modeli (92)
- 5-Kemoterapi ilaçlarıyla oluşturulan periferik nöropati (93, 94, 95)

2.6.3 Total denervasyon modelleri

- 1-Aksotomi (96)
- 2-Total siyatik sinir kesisi ve resuture edilmesi (96)
- 3-Total siyatik sinir ezilmesi (97)
- 4-Total siyatik sinir dondurulması (97, 98)
- 5-Dorsal ve ventral rizotomi (99, 100)
- 6-Total brakial pleksus kesisi (101)
- 7- Total trigeminal rizotomi (86)

2.6.4 Parsiyel denervasyon modelleri

- 1-Parsiyel trigeminal rizotomi (86)
- 2-Siyatik Kronik konstriksiyon zedelenmesi (Bennett modeli) (102)
- 3-Trigeminal kronik konstriksiyon zedelenmesi (103)
- 4-Parsiyel siyatik sinir ligasyonu (Seltzer modeli) (104)
- 5-Spinal sinir ligasyonu (Chung modeli) (105)
- 6-Siyatik sinirin periferik dallarının zedelenmesi (106, 107, 108)
- 7-Safen sinirin zedelenmesi (109, 110)



Şekil 9- Sık kullanılan bazı siyatik sinir nöropati modelleri:

A. Aksotomi, B. Kronik konstriksiyon zedelenmesi, C. Parsiyel sıkı ligasyon, D. Spinal sinir ligasyonu, E. Dorsal rizotomi, F. Ventral rizotomi, G. yedeklenmiş periferik dal zedelenmesi

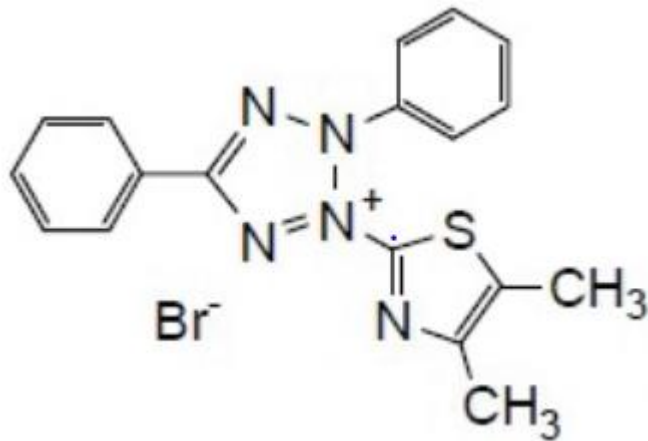
2.7 TRİGEMİNAL NÖROPATİ MODELİ OLARAK SIÇAN TG HÜCRE KÜLTÜRÜ

TG nöron birincil kültürleri, aseptik koşullarda sodyum pentobarbital (50 mg/kg intraperitoneal enjeksiyon) ile anestezi uygulanmış Sprague-Dawley sıçanlarından izole edilir. Kısaca, hayvanların başı kesilir, kafa derisi ve kafatası açılır, beyin çıkartılır, her iki trigeminal gangliyon da hızla toplanıp kültür ortamıyla dolu bir petri kabında geçici olarak toplanır. Daha sonra dokular enzimatik olarak kollajenaz ve ardından tripsin ile muamele edilir. Daha sonra hücreler uç çapı azalan ateşle parlatılmış bir cam pipetle mekanik olarak ayrıştırılıp ve yıkandıktan sonra hücreler poli-D-lizin/laminin kaplı yuvarlak cam lamellere kaplanır. Hücreler, sinir büyüme faktörü (NGF) ile desteklenmiş kültür ortamında %95 hava/ %5 CO₂ ile nemlendirilmiş bir inkübatörde 37°C'de tutulur. Kültürde 36 saate kadar kaplamadan 3 saat sonra nörotoksisite deneyleri için hücreli lameller alınır. (111)

2.8 HÜCRE CANLILIK ANALİZLERİ

2.8.1 MTT Testi (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid)

Günümüzde en sık kullanılan hücre canlılığı, proliferasyon ve sitotoksisite belirleme yöntemlerinin başında 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid (MTT) testi gelmektedir. 1983'te geliştirilen yöntem, hücre canlılığı testlerinin halen "altın standardı" olarak isimlendirilmektedir (112). MTT testi in vitro olarak sadece hücre değil doku kültürlerinde de kullanıma olanak verir (113, 114, 115). MTT sarı renkli bir formazan tuzdur ve kimyasal yapısı şekil 10'da gösterilmiştir. Proliferasyona uğrayan hücreler artan mitokondriyal dehidrojenaz enzim aktivitesi ile MTT'yi mor renkli suda çözünmeyen formazan kristallerine dönüştürür. Kristaller izopropil alkolde veya dimetil sülfoksit (DMSO)'da çözünür. Daha sonra hücre canlılığı spektrofotometrik olarak belirlenir ve uygulama yapılmayan hücrelerin canlılığı %100 kabul edilerek, uygulama yapılan hücrelerin canlılığı bu hücrelere göre yüzde (%) olarak belirlenir (112, 113).



Şekil 10- MTT'nin kimyasal yapısı

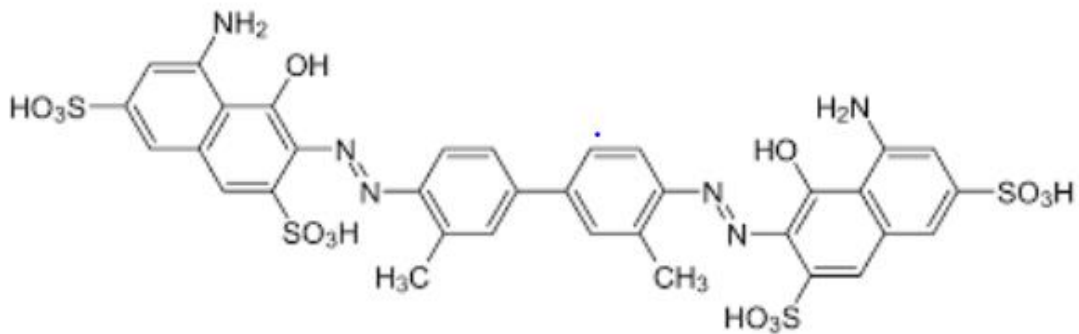
MTT testinin üstünlükleri şunlardır: Güvenilir ve hızlı sonuç verir. Tekrarlanabilirliği oldukça yüksektir. Hem sitotoksitenin hem de hücre proliferasyonunun belirlenmesi için kullanılabilir (112, 113).

MTT testinin dezavantajları ise şunlardır: MTT formazanlar suda çözülmez ve hücrelerde kristaller oluşturur; bu yüzden ölçümden hemen önce bu kristalleri çözmek gereklidir. İyi çözülmezse kuyucuklar arasında ciddi farklılıkları görülebilir. MTT formazan kendisi de sitotoksik olduğundan dolayı MTT formazanlar sebebiyle gözlenen hücre ölümü

için mutlaka kontrol grubu gerekmektedir. Böylece yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlarda önlenir. Hücreler MTT ile 2-3 saat arası inkübe edilirler. Beklenen süre içinde MTT'nin hücre canlılığını ne kadar etkileyebileceği ise bilinmemektedir. Özellikle ölen hücrelerin hücre kültüründen uzaklaştırılması MTT formazan kristalleri nedeniyle zor olur. MTT testinde kullanılan ürünün herhangi bir bileşeni veya uygulanan kimyasal madde MTT ile reaksiyona giriyorsa veya MTT'yi kendi indirgeyebiliyorsa hücre canlılığının tespiti için farklı bir yöntem seçilmesi gerekir (116, 117).

2.8.2 Tripan Mavi Testi

Bu boya ilk olarak Paul Ehrlich tarafından 1904'te sentezlenmiştir. “Niagara mavisi”, “azidin mavisi” veya “diamin mavisi” diye de isimlendirilir. Biyolojik bilimlerde hücre canlılığının belirlenmesi için sık kullanılan boyalardan biridir (118, 119). Kimyasal yapısı şekil 11’de gösterilmiştir. Tripan mavisi canlı hücrelerin zarlarından geçemez. Yalnızca ölü hücrelerin zarlarından geçebilir ve hücreyi boyayabilir. Tripan mavisiyle ölü hücreleri boyayabilmek için hücrelerin önce tripsinize edilerek süspende hale getirilmesi gerekmektedir. Süspende hücrelere doğrudan uygulanabilir. Ancak her iki durumda da hücrelerin önceden uygun şekilde pipetlenerek, süspansiyonun içinde eşit halde dağılmalarını sağlamak gerekir. Daha sonra hücre kültüründen alınan hücreler eşit miktarda tripan mavisiyle karıştırılır. Hücreler daha sonra hemositometreye konur ve sayılır. Bu esnada boyayı içine alan hücreler ölü, almayan hücreler ise canlı kabul edilir. Böylece ölü hücrelerin süspansiyondaki toplam yüzdesi de belirlenebilir (119, 120, 121).



Şekil 11- Tripan mavisinin kimyasal yapısı

Tripan mavisi testinin üstünlükleri şunlardır:

Basit ve ucuz bir yöntemdir.

Hücre zarı bütünlüğü bozulmuş hücreler mikroskop altında çabuk sayılabilir (119, 120, 121).

Tripan mavisi testinin dezavantajları şunlardır:

Duyarlılığı diğer yöntemlere göre düşüktür.

Uzun süre sonra toksisite oluşturan ajanlar için uygun değildir.

Hücre sayısının çok olduğu durumlar için uygun bir yöntem değildir.

Süspande hücrelere uygulanabilir. Adheren hücreleri önceden süspande hale getirmek gerekmekte ve pipetleme doğru yapılmazsa sayım da yanlış olur.

Sayım için hemositometre gereklidir; hemositometreyi kullanmak deneyim gerektirir. Bireyler arasında sayım farklılıkları oluşabilir.

Hemositometriyi doldururken, hava kabarcıkları kalırsa sayım yanlış olur (119, 120, 121).

2.8.3 Gerçek Zamanlı Hücre Canlılık Analiz Yöntemi (X CELLİGENCE)

Roche uygulamalı bilimler ve ACEA Biosciences tarafından beraber geliştirilmiş RTCA (Real-Time Cell Analyzer) adherend hücreleri incelemek için geliştirilmiş mikro elektronik sensör teknolojisidir (Resim 1).



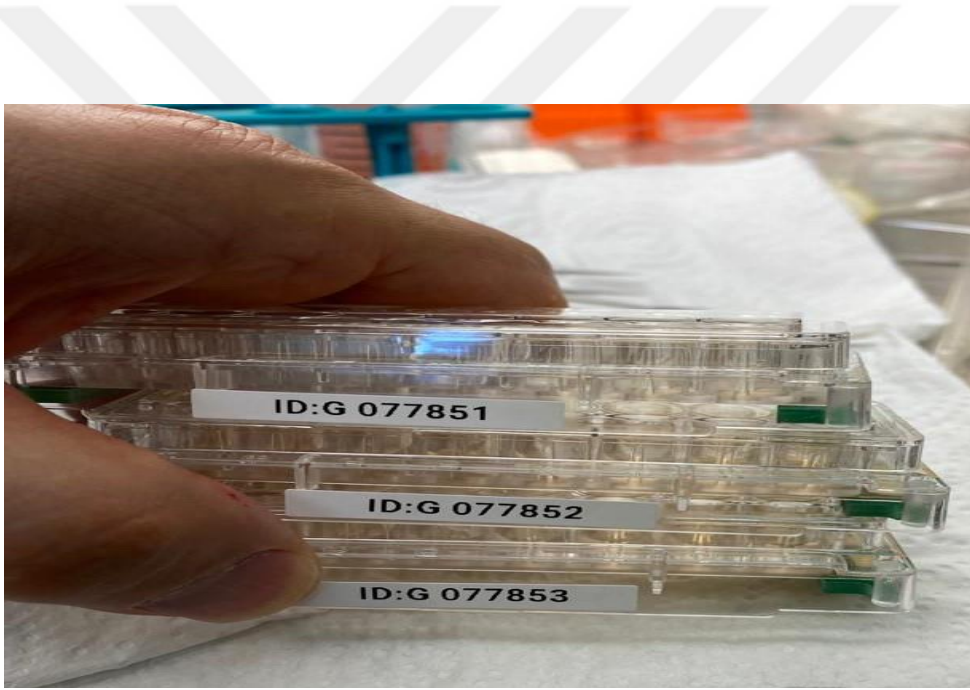
Resim 1- xCELLigence gerçek zamanlı hücre analizi sistemi (ACEA Biosciences, Inc., San Diego, CA, ABD)

Xcelligence sistemi ile hücresel olaylar herhangi bir işaretleme yapılmadan gerçek zamanlı olarak analiz edilebilir. Sistem E-Pleytlerin zeminine yerleştirilmiş mikroelektrotlar sayesinde elektriksel empedans ölçümleri yapar.

Bu sistem, özel tasarlanmış ve altın mikroelektrotları içeren mikro titrasyon plakalarını kullanarak elektrik empedansını ölçen ve bu yolla kültüre edilmiş hücrelerin canlılığını gerçek zamanlı olarak takip etmeye imkân veren, yeni nesil sitotoksosite değerlendirme sistemidir. Hücrelerin bu şekilde sürekli takip edilebilmesi bu sistemde hücre yaşlanması, hücre toksisitesi (hücre ölümü) ve azalmış proliferasyon (hücre bölünmesinin durması) durumlarının belirlenmesine imkân vermektedir (122).

Xcelligence sistemi, RTCA analiz cihazı, plaka bölgesi, E-plakalar ve RTCA yazılımını içeren bilgisayar olmak üzere dört parçadan oluşur. E-plakalar, hücre kültüründe yaygın olarak kullanılan standart kuyucuklu plakalara benzer (Şekil 2). Her kuyucuğun taban çapı 5 ± 0.05 mm ve toplam hacmi yaklaşık 243 ± 5 μ l'dir. Kuyucukların tabanları mikroelektrotlar ile kaplanmıştır. Mikroelektrotların tabanları iyi bir iletken olan altın ile kaplıdır. Elektrik iletimi ile kuyucuklardaki hücrelerin gerçek zamanlı izlenebilmesi ve analizi

sağlanır. E-plakaların kapakları ise standart hücre kültürü plakalarında gözlenen buharlaşma olayını da engelleyecek şekilde tasarlanmıştır. Uygulanan düşük voltaj (20 mV) mikroeletrotlar arasında küçük bir elektrik alan üretir. Bu alandaki akım, zemine tutunan hücreler nedeniyle engellenir ve ölçülen empedansta değişikliklere yol açar. Empedans basitçe, alternatif akımla çalışan devrelerde bulunan direnç olarak tanımlanabilir. Kuyucuklarda ölçülen empedans kuyucuktaki iyon konsantrasyonuna, elektrot geometrisine ve hücrelerin tutunma miktarına bağlı olarak değişir. Seçilen kuyulardan alınan empedans verileri bilgisayara aktarılır ve RTCA yazılımı kullanılarak analiz edilir. Tespit edilen hücre elektrot empedansına dayalı olarak hücre durumunu ölçmek için hücre indeksi olarak adlandırılan bir parametre kullanılır (123).



Resim 2- Nano teknoloji ile üretilmiş altın elektrod ağı esaslı bir zemine sahip E-plakalar

Ortamda elektroda yapışmış bir hücre olmadığında elektrodun empedansı, elektrot çözeltisinin ve kuyucuktaki boş çözeltinin etrafındaki iyonik çevrenin empedansına göre değişir. Ancak elektroda yapışmış hücreler olduğunda elektrodun sensör yüzeyine yapışan hücreler elektrot çözeltisinin yüzeyindeki iyonik çevreyi değiştireceğinden empedansta bir artışa neden olur. Elektrot üzerinde ne kadar hücre çoğalırsa alınan empedans değeri de o kadar artar (124). Elde edilen empedans değeri “hücre indeksi” adı verilen bir parametre ile

ölçülür. Hücre indeksi (CI) elektriksel empedans değişiminin ölçülmesi ile elde edilen değerdir (125).

Hücreler üzerinde herhangi bir invaziv işlem uygulanmadığı için proliferasyon ya da sitotoksiste deneylerinde hücreler normal fizyolojik durumlarını koruyabilmektedir. Xcelligence yazılımı ortalama değer, en yüksek ve en düşük değerler, standart sapma, kuyucuktaki hücrelerin %50'sini inhibe eden konsantrasyon (IC50), kuyucuktaki hücrelerin %50'sine maksimal etki gösteren konsantrasyon (EC50), hücre indeksi (CI) gibi parametreler hakkında bilgi verir. Gerçek zamanlı olarak elde edilen veriler herhangi bir matematiksel analiz için Excel'e gönderilebilmektedir. Dolayısıyla geleneksel hücre tabanlı testlerin zaman ve iş gücü yoğunluğu ortadan kaldırılarak büyük ölçüde verimlilik sağlanmaktadır (126, 127).

2.8.3.1 Verilerin Analizi

Xcelligence sistemine ait bilgisayardaki RTCA yazılımıyla veri analizi yapılabilir. Deney süresince gerçek zamanlı olarak CI değerlerinin ölçümü devam eder. RTCA yazılımı, elde edilen deney verilerine göre "sigmoidal doz-cevap" grafiği çizer ve belirlenen zaman dilimleri için IC50 değerlerini hesaplar.

2.8.3.2 xCELLigence Sisteminin Avantajları

- Hücresel değişimler gerçek zamanlı olarak izlenebilir.
- İşaretleyici bir moleküle ya da boyaya ihtiyaç yoktur.
- Standart hata, minimum-maksimum değerler, %50 inhibisyon konsantrasyonu ve grafiklerin elde edilmesini sağlayan yazılıma sahiptir.
- Tekrarlanabilirlik ve hassasiyet gibi özellikler açısından diğer yöntemlere kıyasla daha güvenilir sonuçlar elde edilir.

2.8.3.3 xCELLigence Sisteminin Dezavantajları

- Sadece adherent hücrelerle çalışabilir, süspansiyon hücre kültürleriyle çalışamaz.
- Cihazda kullanılan E-plakaların tek kullanımlık ve pahalı olması.

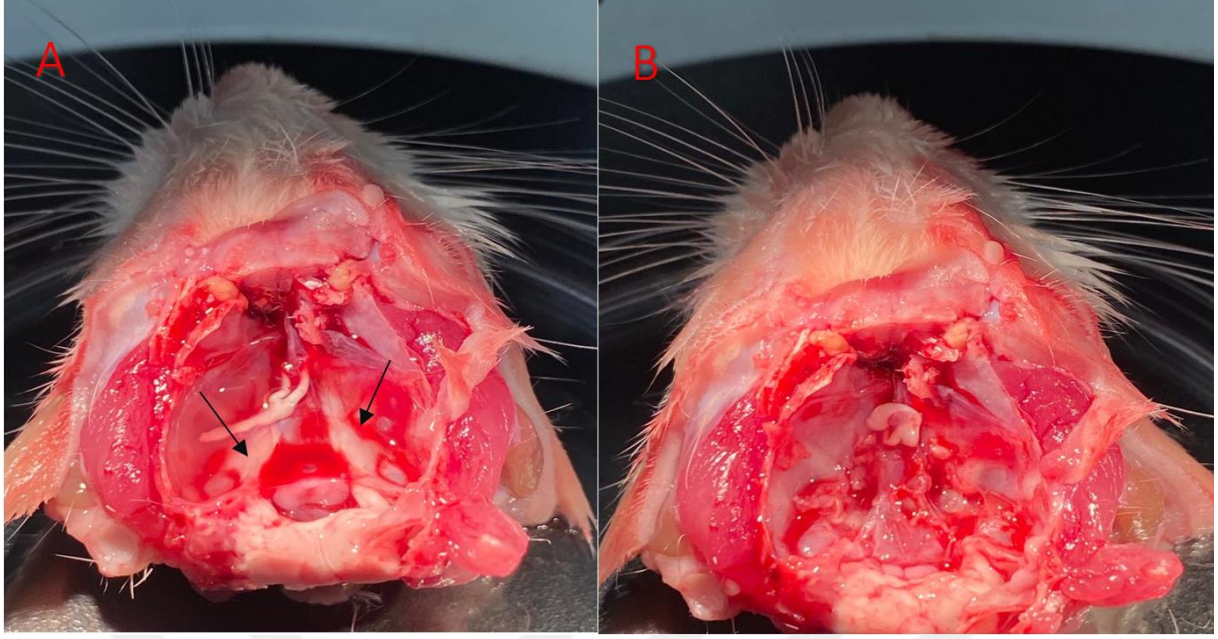
Günümüzdeki biyolojik deneylerin %95 inden fazlası nitel optik değerlendirme yöntemleriyle çalışılmaktadır. İn vitro hücre kültürü içinde gerçek zamanlı biyolojik parametrelerin nicel olarak incelenmesi önemli bir gereksinimdir. Xcelligence bu alandaki açığı kapatacak yenilikçi önemli bir bilimsel gelişmedir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 HÜCRE KÜLTÜRÜ

Karadeniz Teknik Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden alınan Sprague Dawley cinsi sıçanlar dekapite edilerek kafaları bir petri kabına koyuldu. Bir makasla cilt ve kemik doku kaldırılarak beyin ortaya çıkartıldı. Pontin fleksuralardan geçen enine bir kesi yapılarak her iki hemisfer ve orta beyin dışarı doğru diseke edildi. Ardından, arka beyin dâhil üst servikal spinal kord, bağ doku ve meninksler disseke edildi. Her iki taraftaki TG (Trigeminal ganglion) ve uzantılarına zarar vermemeye özen gösterildi. Daha sonra diseksiyon mikroskobu altında makas ve forsepslerle her iki TG hassas bir şekilde uzantılarından kesilip izole edilerek küçük bir petri kutusu içerisindeki kültür vasatına koyuldu (Resim 3). TG lar çıkarılarak petri kutusuna koyulduktan sonra, petri kutusu hassas yuvarlak hareketlerle sallandı ve ganglionların bir araya toplanması sağlandı. Sonra kültür medyumunu (NBA) bir pastör pipeti ile çekilerek 900 µL'lik (37°C'de inkübe edilmiş) kültür vasatı ile 100 µL kollagenaz (Sigma, 0.125 %) ilave edilerek 45 dakika süreyle inkübe edildi. Hücreler, enzim ve solüsyon karışımı inkübatörden alınarak PBS ile üç defa yıkandı. Daha sonra 900 µL PBS ve 100 µL tripsin (Sigma, 0.25%) eklenerek 15 dakika boyunca inkübe edildi. Peşine steril 15mL'lik falkon tüpe alınarak kültür vasatı (NBA) ile her seferinde tüp yavaşça alt üst edilerek üç defa yıkandı. Peşine ucu daraltılmış steril cam bir pastör pipeti yardımıyla pipetaj yapılarak gangliyonlar mekanik olarak hücrelere ayrıştırıldı. Ardından hücre kültür vasatı süspansiyonuna kültür vasatı ilave edilip 5 ml ye tamamlandı.

İzole edilen nöronlar, fibronektin + laminin ile kaplanmış cam lamellere, gerçek-zamanlı hücre analizi protokolleri için ise altın biyosensörler donanımlı E-plakalara ekilerek, uygun besi yerinde (Nörobazal A ve sinir büyütme faktörü), nemlendirilmiş karbondioksitli inkübatörde 37 C de saklandı.



Resim 3- (A) Trigeminal ganglionun dekapitasyon ve her iki hemisferin çıkarılması sonrası bilateral görünümü, (B) Trigeminal ganglion bilateral çıkarıldıktan sonrası

3.2 HÜCRELERİN HAZIRLANMASI

Trigeminal nöronların PBS ile yıkanıp tripsin/EDTA solüsyonu ile muamele edilerek hücreler sayılmak üzere toplanmıştır. Verifikasyon sonrası çalışılacak olan plakalara 100'er μ l hücrelerin içinde büyütüldüğü besi yeri eklenerek plakalar hücre kültür inkübatörü içerisine yerleştirilerek empedans ölçümü gerçekleştirildi.

Hücrelerin adhezyonu, büyümesi ve proliferasyonu için yazılıma göre 24 saate kadar biyosensör elektrotlar aracılığı ile veri alımı gerçekleştirildi. Elektrik empedansı; xCELLigence sisteminin RTCA'ya entegre yazılımı ile boyutsuz bir parametre olan CI cinsinden ölçüldü.

3.3 xCELLIGENCE SİSTEMİNİN HAZIRLANMASI

Çalışmaya başlamadan önce cihaz %70'lik alkolle silinerek 30 dakika UV lambası altında sterilize edildi. Daha sonra cihaz sıcaklık uyumu için 3,5-4 saat süresince inkübatöre alındı.

Altın elektrod (nano teknoloji ile üretilmiş altın elektrod ağı) esaslı bir zemine sahip E-plaka kuyucuklarına besiyeri eklendi. Kullanılacak hücreler ekildi ve oda sıcaklığında e-

plakalar 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra E-plaka inkübatörde bulunan RTCA cihazının plaka bölgesine yerleştirildi. RTCA analiz cihazı ile hücrelerin logaritmik proliferasyon durumları 15 er dakika aralıklarla gözlemlendi. 24 saat inkübasyon sonunda kuyucuklara NGF (Nerve Growth Faktör) verildi. Hücre empedansları ölçümleri yapıldı. 24 saat sonra ise araştırılacak ajanın farklı konsantrasyonlarını içeren besiyerleri eklendi. Ajan eklendikten sonra 160 saat boyunca deney devam etti ve bu sırada CI değerlerinin ölçümü gerçekleştirildi. Deney süresince uzun süreli hücresel cevapları gözlemlemek için her 15 dakikada bir ölçüm yapıldı.

3.4 SİTOTOKSİSİTE DENEYLERİ

Her deneyde 16 kuyucuğu olan 3 adet plaka ile aynı anda çalışılmıştır. Deneye başlamadan önce bütün kuyucuklara 100 µl besi yeri eklenmiş ve referans değeri elde edilmesi için cihazın background ölçümü yapılmıştır.

Hücre sayımının tamamlanmasının ardından her bir kuyucukta 100-200 hücre olacak şekilde kuyucuklara 100 µl hücre süspansiyonu eklenmiştir. Hücre ekiminden 24 saat sonra hücreler logaritmik büyüme fazında iken kuyucuklara NGF verildi. 24 saat sonra hazırlanan bevacizumablar kuyucuklara eklenmeden önce steril petri kapları içerisinde UV ışık altında 30 dakika boyunca sterilize edilmiştir (Resim 4).



Resim 4-Petri kabı içerisindeki örneklerin UV ile sterilizasyonu.

Hücre canlılığı ‘Gerçek Zamanlı Hücre Analiz’ sistemi (xCELLigence ®, Roche) kullanılarak ‘hücre indeksi’ (hücre canlılık ve akson miyelinizasyon/rejenerasyon belirteci) belirlenmesiyle gerçekleştirildi. 16 kuyucuk ve 3 adet plaka toplam 48 kuyucuğa örnekler yerleştirildi.

Cihaz 15 dakikalık aralıklarla ölçüm yapacak şekilde ayarlandı ve analiz 160 saat boyunca devam ettirildi. Yapılmış olan deney 3 kere tekrarlandı ve ortalama değerler alındı.

Bevacizumab 0.025 mg/ml, 0.25 mg/ml, 1 mg mg/ml, 2.5 mg mg/ml, 10 mg mg/ml dozları test edildi. Trigeminal nöropati *in vitro* ortamda hiperglisemi (50 mM glikoz) ile taklit edildi. Protokollerde hiperozmolarite kontrolleri (50 mM mannitol) de yapıldı.

3.5 VERİLERİN ANALİZİNDE KULLANILAN İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

3.5.1 Ölçüm parametresi: Hücre indeksi (CI)

Altın elektrod (nano teknoloji ile üretilmiş altın elektrod ağı) esaslı bir zemine sahip E-pleyter hücre empedansını ölçüp, uygun bir yazılım aracılığı ile ‘hücre indeksi’ parametresine dönüştürmektedir.

Hücre indeksi parametresi, non-invazif olarak (penetre edici bir elektrod veya flüoresan boya/işaretleyici kullanmadan) ve bu sayede intakt hücrelerde uzun süreli monitörizasyon sağlayan yeni teknoloji ürünü güçlü bir hücresel yöntemdir.

Hücre canlılığı, proliferasyon/nöronlarda akson miyelinizasyonu ve dentritik uzantı gelişim durumu ve fonksiyonallitesi hakkında gerçek zamanlı veri sağlar.

Nörotoksisite/sitotoksisite tayininde en güncel güçlü tekniklerdendir

Aynı deneysel koşullarda daha yüksek hücre indeksi daha yüksek canlılık ve fonksiyonalliteyi yansıtır.

Bu araştırmada her bir pleytte yaklaşık 100-200 nörondan veri alınarak hücre indeks eğrileri elde edilmektedir.

4. BULGULAR

Bu araştırma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi ve Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yürütülmüştür.

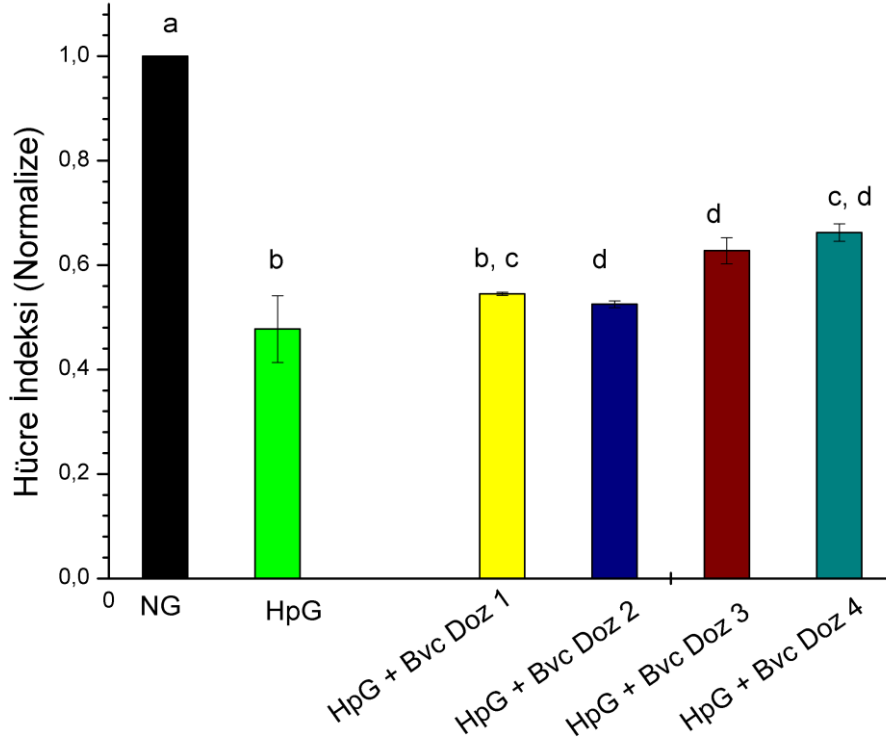
Deneyde 220-280 gr ağırlığında 10 adet dişi Spraque Dawley sıçan Spraque Dawley sıçan kullanılmıştır.

Standart barınak koşullarında, polikarbon kafeslerde, 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık döngüsünde $22\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, %30-55 nem oranı ve standart labaratuvar hayvan yemi ve us ile beslendi.

Çalışmadaki verilerin analiz aşamasında Origin Pro istatistik paket programı kullanıldı. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak belirlendi.

4.1 Sitotoksosite Testine Ait Hücre İndeksi (CI) Değerleri Bulguları

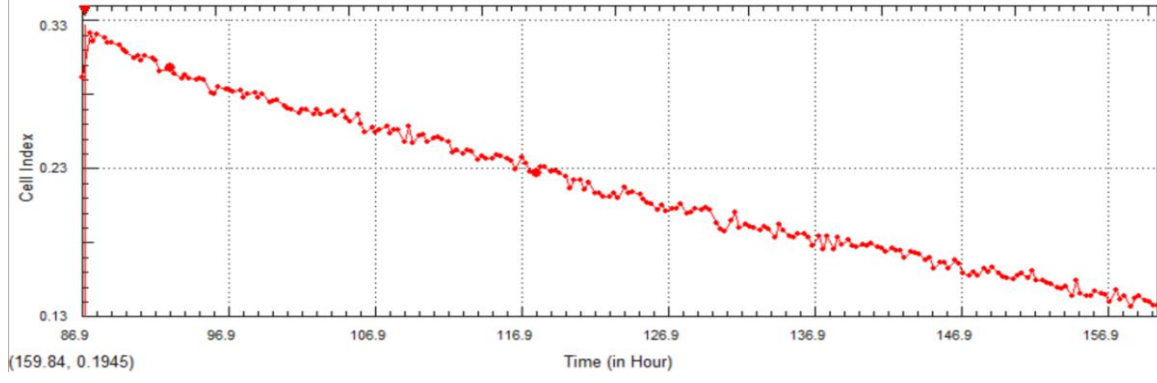
Şekil 12- Hiperglisemik Koşullardaki Trigeminal Gangliyon Nöronları Üzerine Bevacuzimabın Doz Bağımlı Etkileri



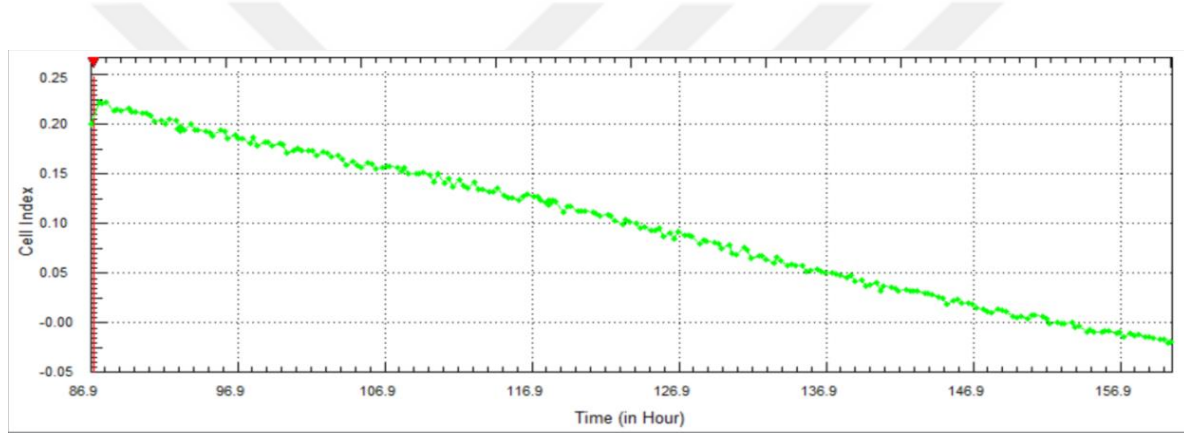
Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Her veri 3 farklı hücre kültüründen tekrarlanan testlerin ortalamasıdır.

NG: Normoglisemik; HpG: Hiperglisemik; HpG + Bvc D1: Hiperglisemik + bevacuzimab doz 1 (0.025 mg/ml); HpG + Bvc D2: Hiperglisemik + bevacuzimab doz 2 (0.25 mg/ml); HpG + Bvc D3: Hiperglisemik + bevacuzimab doz 3 (1 mg/ml); HpG + Bvc D4: Hiperglisemik + bevacuzimab doz 4 (2.5 mg/ml).

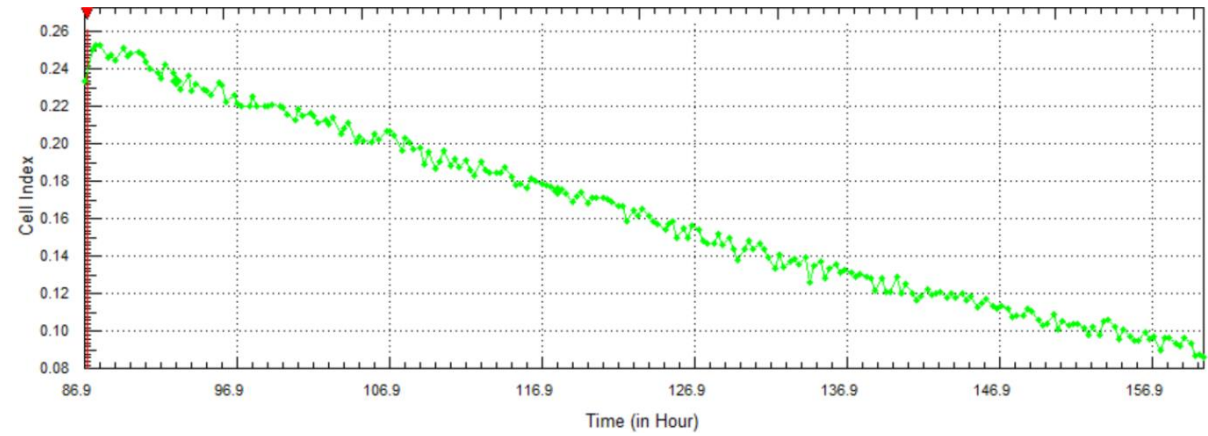
Aynı harfler bulunan sütunlar arasında anlamlı farklılık saptanmamaktadır, farklı harfler bulunan sütunlar arasında ise anlamlı farklılık saptanmaktadır.



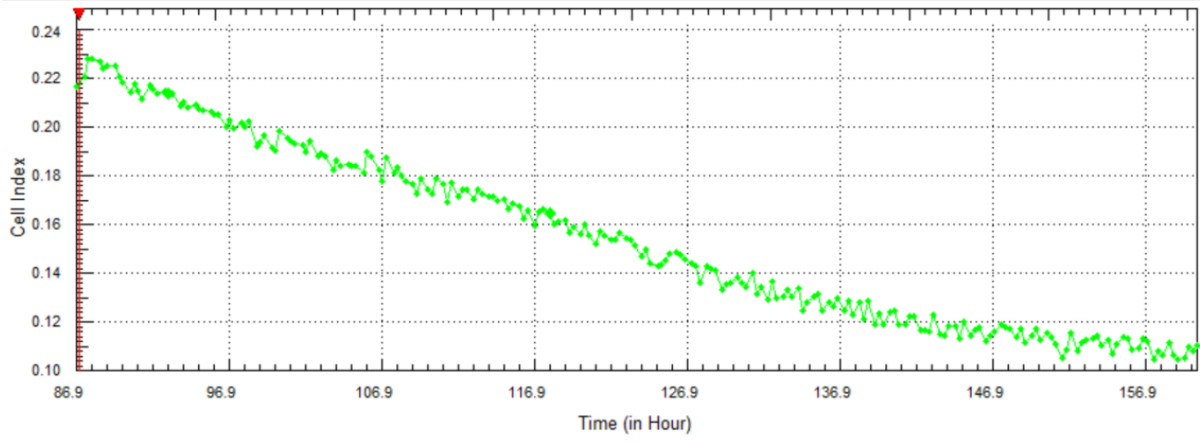
Şekil 13- Normoglisemik ortamda bevacizumab tedavisi verilmeden RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.



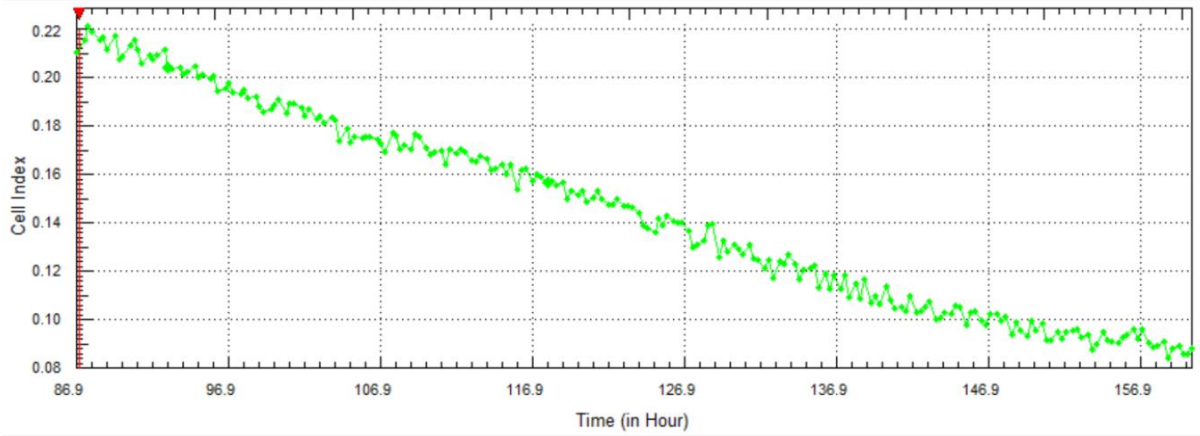
Şekil 14- Hiperglisemik ortamda bevacizumab tedavisi verilmeden RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.



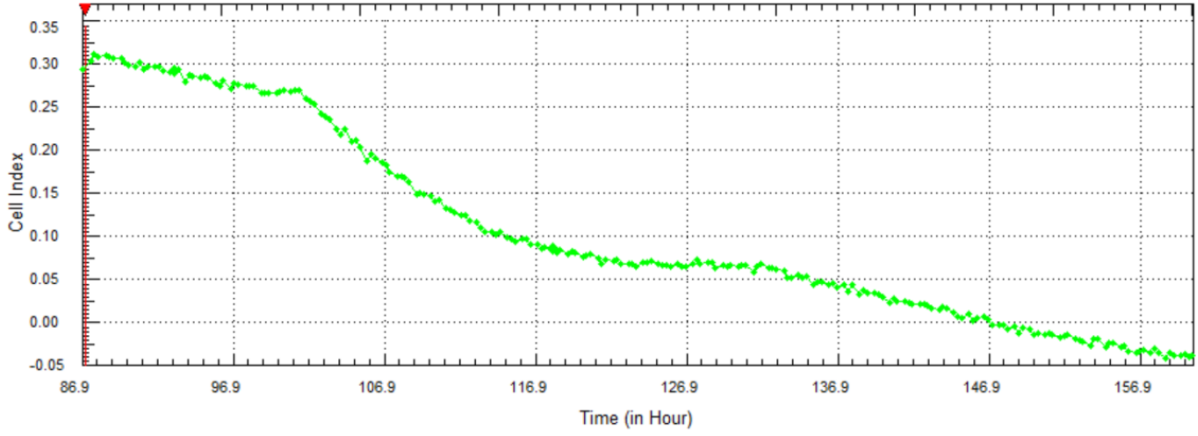
Şekil 15- Hiperglisemik ortamda bevacizumab doz 1 (0.025 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.



Şekil 16- Hiperglisemik ortamda bevacizumab doz 2 (0.25 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.



Şekil 17- Hiperglisemik ortamda bevacizumab doz 3 (1 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.



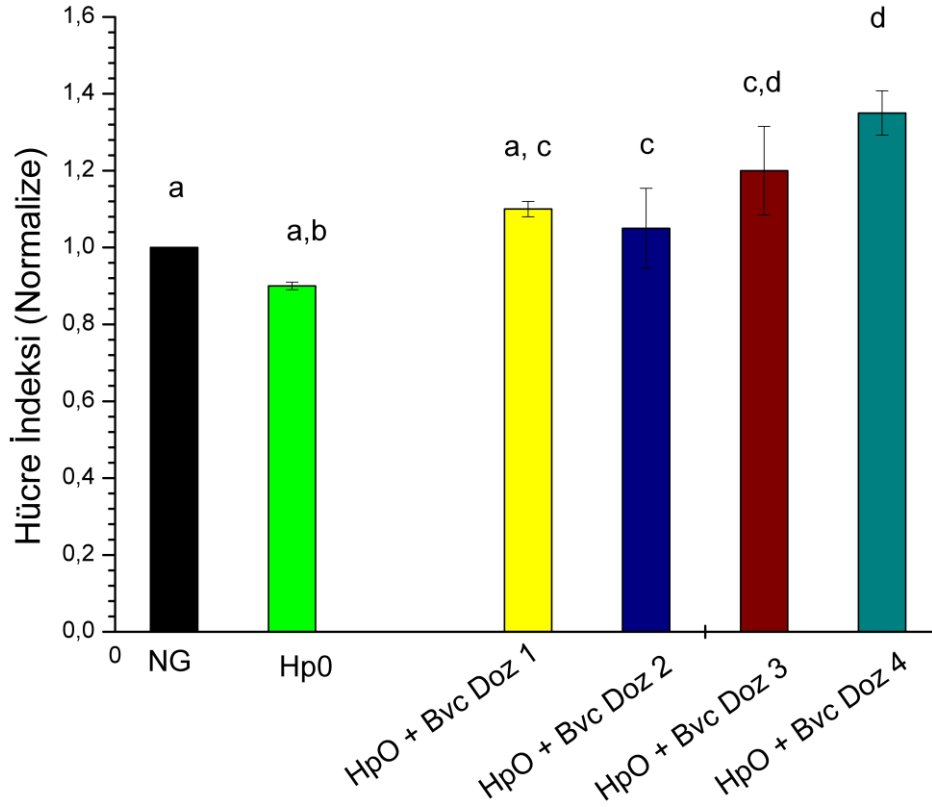
Şekil 18- Hiperglisemik ortamda bevacizumab doz 4 (2.5 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.

Bu veriler ışığında;

NG ortamda trigeminal ganglion nöronlarının 3 farklı hücre kültürü test ortalamasındaki hücre indeksi kontrol grubu kabul edilerek 1 olarak değerlendirildi. Daha sonra HPG ortamda nöronlarının 3 farklı hücre kültürü ortalama hücre indeksi ölçümleri yapıldı. HPG ortamda bevacizumab doz 1, doz 2, doz 3 ve doz 4 denendi ve 3 farklı hücre kültüründen hücre indeksi ortalamaları alındı.

NG ortamdaki hücre indeksi HPG, HPG bevacizumab doz 1, doz 2, doz 3 ve doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derece daha yüksek saptanmıştır. HPG ortamdaki hücre indeksi HPG bevacizumab doz 1 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derecede farklılık saptanmamıştır. Ancak HPG ortamdaki hücre indeksi HPG bevacizumab doz 2, doz 3, doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinde anlamlı farklılık bulunmuştur. HPG bevacizumab doz 1 verilen ortamdaki hücre indeksi HPG bevacizumab doz 2, doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derecede farklılık saptanmışken bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamıştır. HPG bevacizumab doz 2 verilen ortamdaki hücre indeksi HPG bevacizumab doz 3 ve doz 4 verilen hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamıştır. HPG bevacizumab doz 3 verilen hücre indeksi HPG bevacizumab doz 4 verilen hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamıştır.

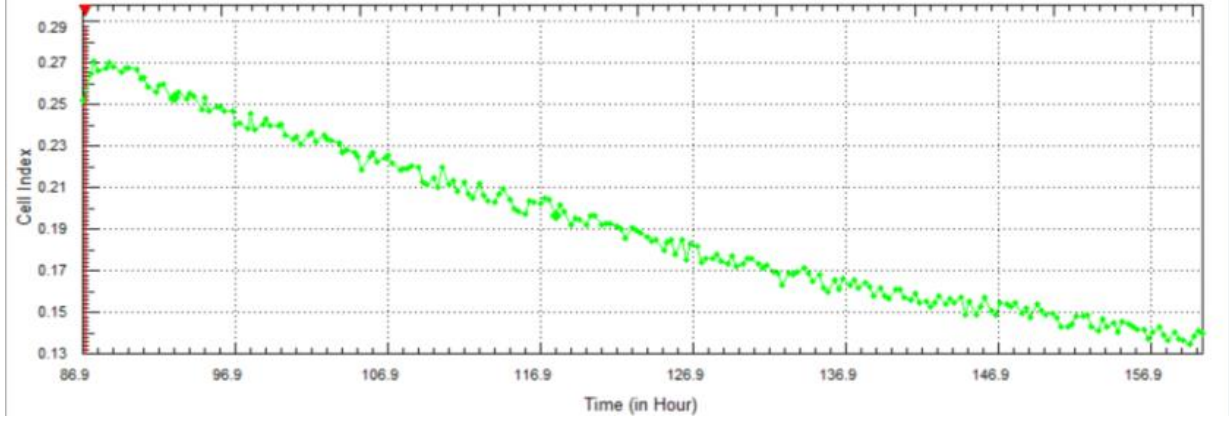
Şekil 19- Hiperosmolar Koşullardaki Trigeminal Gangliyon Nöronları Üzerine Bevacuzimabın Doz Bağımlı Etkileri



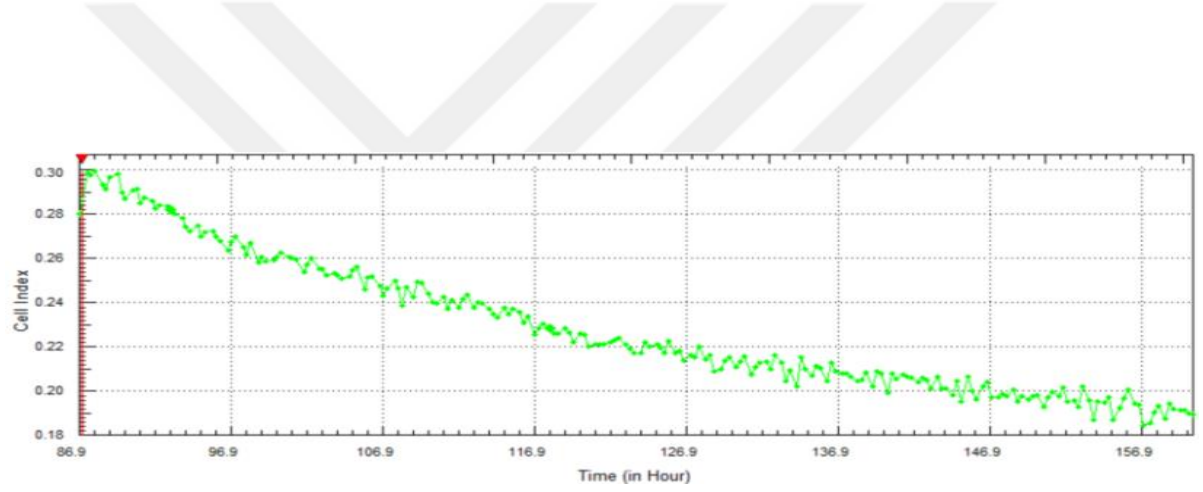
Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Her veri 3 farklı hücre kültüründen tekrarlanan test ortalamasıdır.

NG: Normoglisemik; HpO: Hiperosmolar; HpO + Bvc D1: Hiperosmolar + bevacuzimab doz 1 (0.025 mg/ml); HpO + Bvc D2: Hiperosmolar + bevacuzimab doz 2 (0.25 mg/ml); HpO + Bvc D3: Hiperosmolar + bevacuzimab doz 3 (1 mg/ml); HpO + Bvc D4: Hiperosmolar + bevacuzimab doz 4 (2.5 mg/ml).

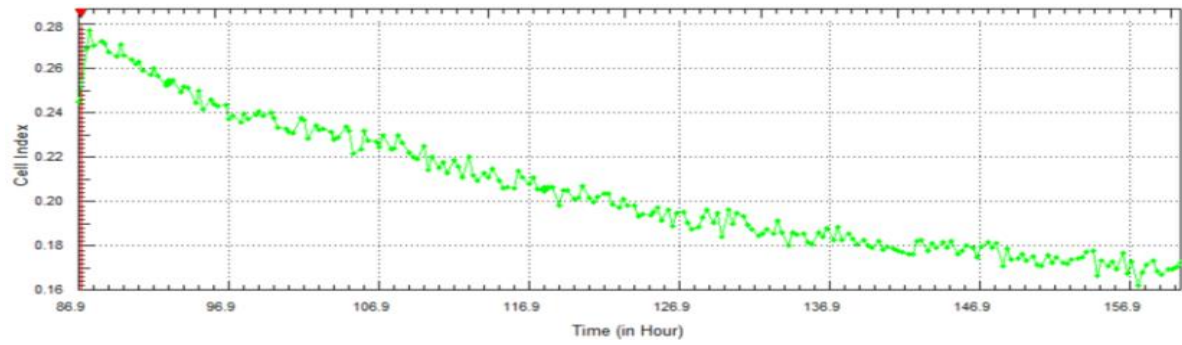
Aynı harfler bulunan sütunlar arasında anlamlı farklılık saptanmamaktadır, farklı harfler bulunan sütunlar arasında ise anlamlı farklılık saptanmaktadır.



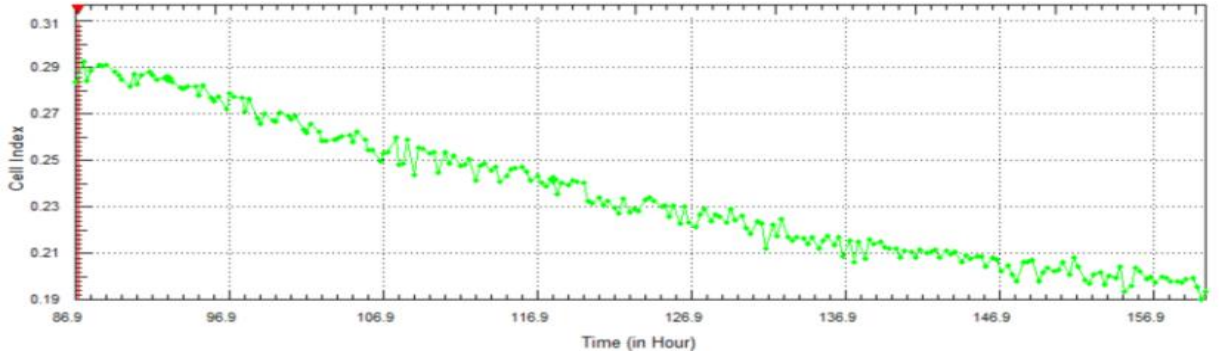
Şekil 20- Hiperosmolar ortamda bevacizumab tedavisi verilmeden RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.



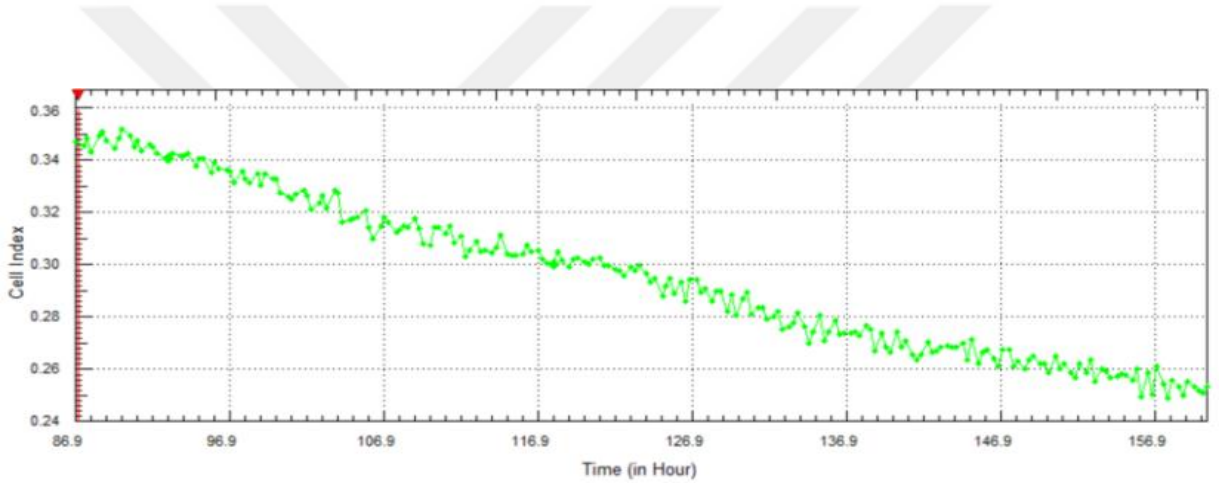
Şekil 21- Hiperosmolar ortamda bevacizumab doz 1 (0.025 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.



Şekil 22- Hiperosmolar ortamda bevacizumab doz 2 (0.25 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.



Şekil 23- Hiperosmolar ortamda bevacizumab doz 3 (1 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.



Şekil 24- Hiperosmolar ortamda bevacizumab doz 4 (2.5 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.

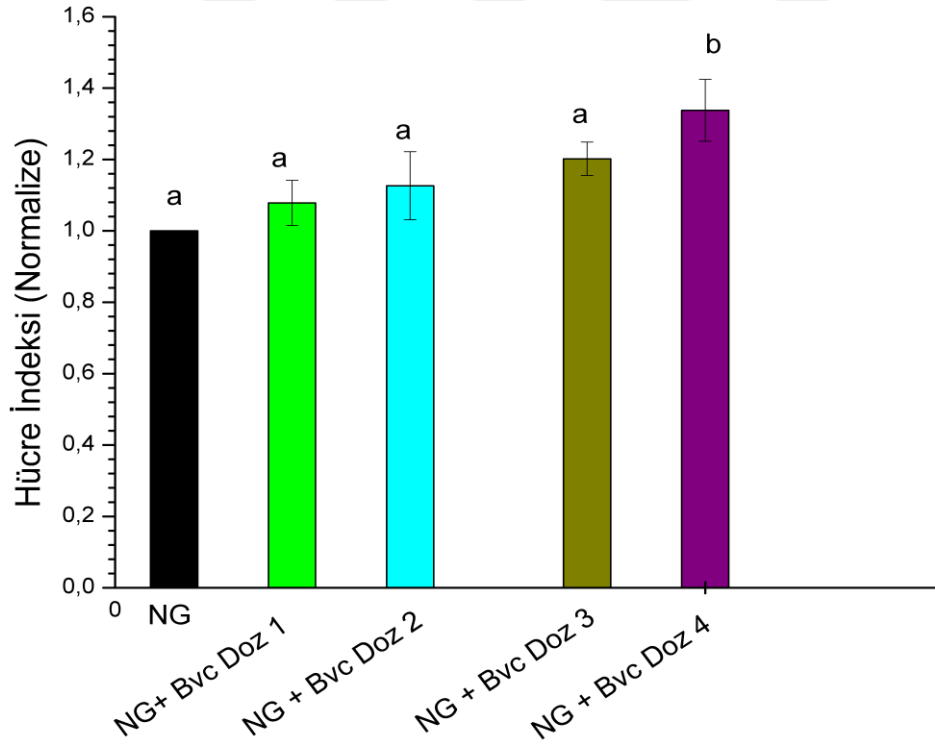
Bu veriler ışığında;

NG ortamda trigeminal ganglion nöronlarının 3 farklı hücre kültürü test ortalamasındaki hücre indeksi kontrol grubu kabul edilerek 1 olarak değerlendirildi. Daha sonra HPO ortamda nöronlarının 3 farklı hücre kültürü ortalama hücre indeksi ölçümleri yapıldı. HPO ortamda bevacizumab doz 1, doz 2, doz 3 ve doz 4 denendi ve 3 farklı hücre kültüründen hücre indeksi ortalamaları alındı.

NG ortamdaki hücre indeksi HPO, HPO bevacizumab doz 1 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamıştır, HPO bevacizumab doz 2, doz 3 ve doz 4 den anlamlı farklılık saptanmıştır. HPO ortamdaki hücre indeksi HPO bevacizumab doz 1 verilen

ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derecede farklılık saptanmamıştır. HPO ortamdaki hücre indeksi HPO bevacizumab doz 2, doz 3, doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık bulunmuştur. HPO bevacizumab doz 1 verilen ortamdaki hücre indeksi HPO bevacizumab doz 2 ve doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derecede farklılık saptanmamış olup HPO bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derecede farklılık saptanmıştır. HPO bevacizumab doz 2 verilen ortamdaki hücre indeksi HPO bevacizumab doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamış olup HPO bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmıştır. HPO bevacizumab doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksi HPO bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamıştır.

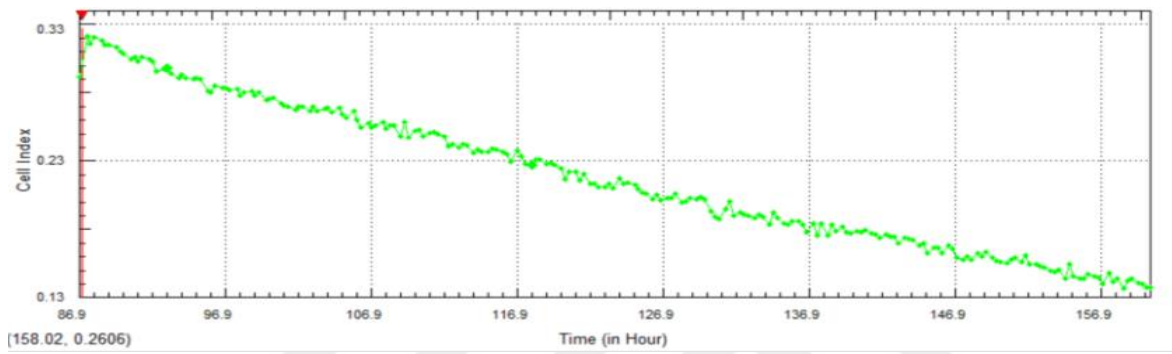
Şekil 25- Normoglisemik Koşullardaki Trigeminal Gangliyon Nöronları Üzerine Bevacuzimabın Doz Bağımlı Etkileri



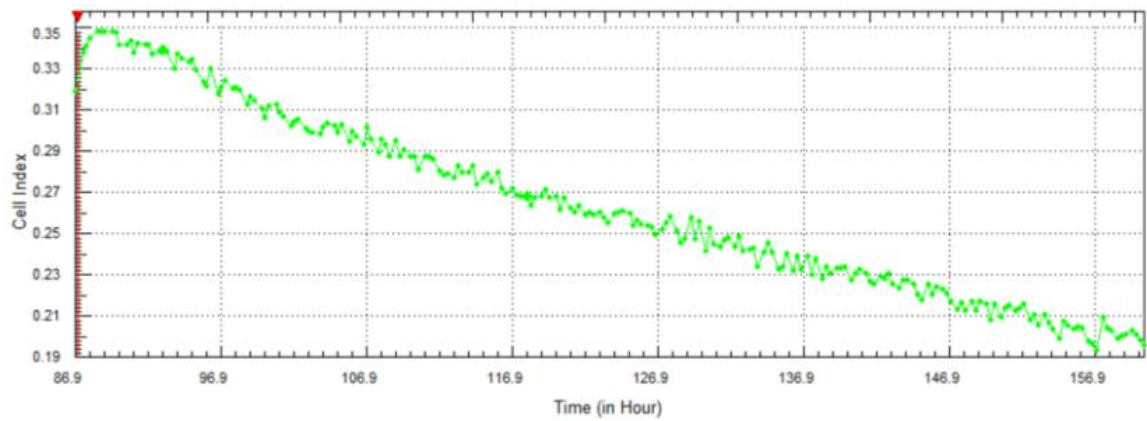
Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Her veri 3 farklı hücre kültüründen tekrarlanan test ortalamasıdır.

NG: Normoglisemik; NG + Bvc D1: Normoglisemik + bevacuzimab doz 1 (0.025 mg/ml); NG + Bvc D2: Normoglisemik + bevacuzimab doz 2 (0.25 mg/ml); NG + Bvc D3: Normoglisemik + bevacuzimab doz 3 (1 mg/ml); NG + Bvc D4: Normoglisemik + bevacuzimab doz 4 (2.5 mg/ml).

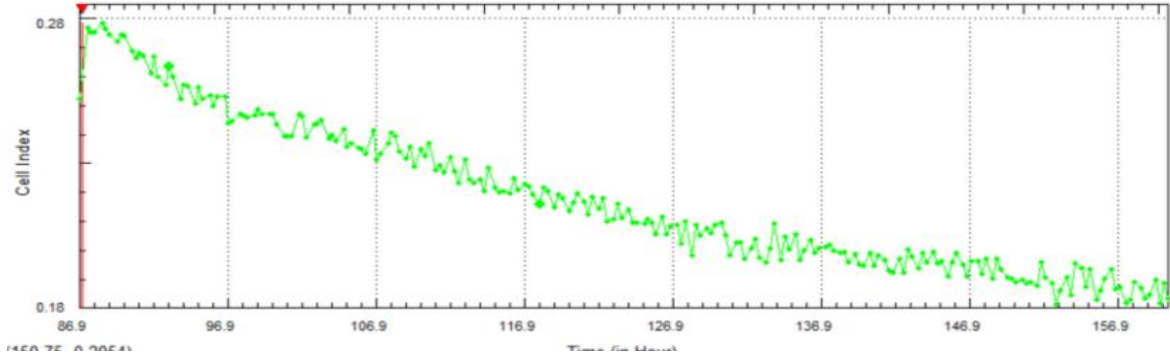
Aynı harfler bulunan sütunlar arasında anlamlı farklılık saptanmamaktadır, farklı harfler bulunan sütunlar arasında ise anlamlı farklılık saptanmaktadır.



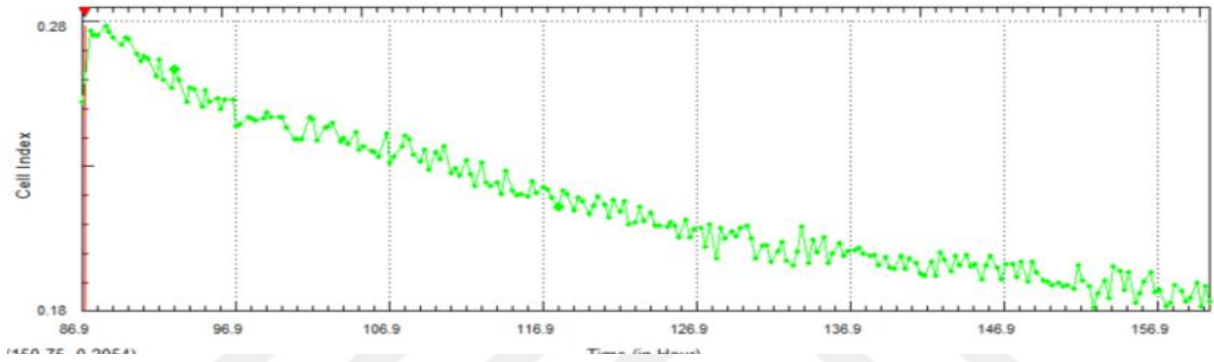
Şekil 26- Normoglisemik ortamda bevacuzimab tedavisi verilmeden RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.



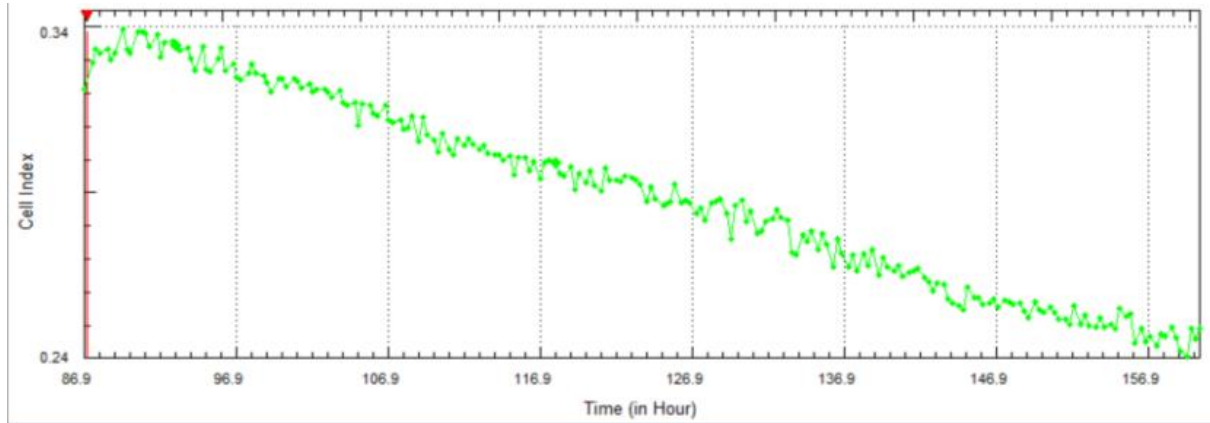
Şekil 27- Normoglisemik ortamda bevacuzimab doz 1 (0.025 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.



Şekil 28- Normoglisemik ortamda bevacizumab doz 2 (0.25 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.



Şekil 29- Normoglisemik ortamda bevacizumab doz 3 (1 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.



Şekil 30- Normoglisemik ortamda bevacizumab doz 4 (2.5 mg/ml) verildikten sonra RTCA programında hücrelerin hücre indeksi ölçümleri görülmektedir.

Bu veriler ışığında;

NG ortamda trigeminal ganglion nöronlarının 3 farklı hücre kültürü test ortalamasındaki hücre indeksi kontrol grubu kabul edilerek 1 olarak değerlendirildi. NG ortamda bevacizumab doz 1, doz 2, doz 3 ve doz 4 denendi ve 3 farklı hücre kültüründen hücre indeksi ortalamaları alındı.

NG ortamdaki hücre indeksi NG bevacizumab doz 1, doz 2, doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamıştır, NG bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmıştır. NG bevacizumab doz 1 verilen ortamdaki hücre indeksi NG bevacizumab doz 2 ve doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derecede farklılık saptanmamış olup NG bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derecede farklılık saptanmıştır. NG bevacizumab doz 2 verilen ortamdaki hücre indeksi NG bevacizumab doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamış olup NG bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmıştır. NG bevacizumab doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksi NG bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamıştır.

5. TARTIŞMA

Trigeminal nevralji hastanın hayatını olumsuz etkileyen hem psikolojik hem de sosyoekonomik anlamda kayıp yaşanmasına sebep olan bir hastalıktır. Her ne kadar çeşitli medikal tedaviler ve cerrahi müdahaleler yapılıyor ise de halen istenilen sonuçlara tam anlamıyla ulaşılamamıştır.

Trigeminal nevraljide nedenler halen daha kesin olmamakla beraber başlangıçta primer olarak herhangi bir lezyonun ya da durumun sinire bası yapması sonucunda trigeminal sinir hücreleri ve etrafındaki nöronlar hasarlandığı ve bu durum hücresel düzeydeki kaskadları başlattığı düşünülmüştür. Trigeminal sinirin ihtiyaç duyduğu perfüzyonun bozulduğu ve bu hipoksik durumun nöronlarda yapısal hasar meydana getirdiği düşünülmüştür. Primer hasardan sonra başlayan ve zamanla devam edebilen bir dizi hücresel değişiklikler devam etmektedir. Bu süreçler sonunda trigeminal sinir beslenmesi ve miyelinizasyonu bozulur, demiyelinizasyon sonucu nöronlarda aşırı uyarılabilirlik olur ve bunun sonucunda ağrı gelişir. Sinir hücrelerinde yenilenme için çalışmalar başlar ancak zayıftır (5, 6, 7, 8).

Genel olarak deneysel tedaviler sekonder hasarı engelleme ve nörorejenerasyona katkı sağlamaya yöneliktir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki sekonder hasar ve iyileşme dönemindeki en önemli durumlardan bir tanesi baskının, ödemin azaltılması bir diğeri de hem hasarlı bölgedeki yeniden kanlanmayı ve hücresel düzeyde beslenmeyi sağlamak hem de hasarlı alanındaki serbest radikalleri ve zararlı maddeleri uzaklaştırmaktır. Hedef trigeminal sinirin mikrosirkülasyon bozukluğunu ortadan kaldırmak ve perinöral perfüzyonu geliştirmek yani dolaşım bozukluğunu düzeltmektir. Ancak bu dönemde meydana gelen revaskülarizasyonun belirli bir dengede olması gerekir, hasarlı alanda yeterli perfüzyonun olmaması da gereğinden fazla olması da bir sorundur (9, 10, 11).

Sekonder hasarlanmaya neden olan mekanizmalar meydana gelen vasküler bası, endotel hasarı, hemoraji, iskemi, reperfüzyon, nekroz, demiyelinizasyon, serbest oksijen radikalleri, iyon kanallarının bozulması, biyokimyasal değişiklikler ve bunlara verilen bir dizi inflamatuvar cevaplardan oluşan karışık bir mekanizmadır. Sekonder hasarlanma ancak bu mekanizmaların iyi anlaşılması ile durdurulabilir.

Bu nedenle günümüzde trigeminal nevralji de bu mekanizmalar dikkate alınarak özellikle en yaygın olarak karbamazepin kullanılmaktadır.

Cerrahi tedaviler uygulansa da trigeminal nevraljinin tedavi sürecinde tek başına yeterli değildir ve sinir yenilenmesine yardımcı olabilecek destekleyici tedavi protokolleri sürekli aranmaktadır. Birçok farklı molekül trigeminal nevralji hasarlarını azaltabileceği düşüncesi ile denenmeye devam edilmektedir (12).

Sekonder hasar mekanizmaları göz önüne alındığında Anti VEGF tedavisinin de sinirler üzerinde nöroprotektif etkilerinin olabileceği veya nörorejenerasyona katkı sağlayabileceği öngörülmüş ve bazı çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar da spinal tümörü olan hastalarda, Anti VEGF in spinal tümörü normalleştirerek, sinir ödemi hafifleterek, oksijenin sinire daha verimli bir şekilde iletebilmesini sağlamak, bu şekilde de sinir hasarını azaltıp ve sinir fonksiyonunu iyileştirerek pozitif bir etkisinin olabileceği düşünülmüştür (14).

Aynı şekilde son zamanlar da yapılan bazı çalışmalarda radyasyon tedavisi sonrası spinal kord iyileşmesinde anjiyogenezi sınırlayıp skar oluşumunu azaltabilecek moleküllerden biri olan Anti VEGF (Bevacizumab) denenmiş ve etkili olduğu görülmüştür (83).

Yine başka bir çalışmada hasarlanan bir sinir sistemi bölgesinde anjiyogenezin yararlı etkisi olduğu bilinmekle beraber aşırı ve kontrolsüz bir anjiyogenezin glial skar dokusunu arttırdığı gösterilmiş ve nöronal iyileşmeye zararlı etkisi olacağı bildirilmiş, iyileşme için kontrollü ve limitli bir anjiyogenez gerekli olduğu gösterilmiştir. Anti-VEGF tedavisinin istenenden daha fazla olabilecek anjiyogenezi engelleyerek limitli bir anjiyogenez sağlayabileceği ve bu sayede de sinir sistemi patolojileri üzerine olumlu etkisi olabileceği düşünülmüştür (13, 83).

Ayrıca yapılan başka bir çalışmada VEGF antagonizmasının serebral iskemik-reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiştir. Nöral hücreleri koruduğu ve bunun da endoplazmik retikulum aracılı apoptoz yolları üzerindeki etkisiyle olabileceği düşünülmüştür (10).

Anti VEGF tedavisinin, Optik sinir nöropatilerinde ve sinir sistemi tümörlerinde radyoterapi nekrozu sonrası oluşan hasar üzerindeki etkileri araştırılmış ve sinir iyileşmesinde pozitif etkileri olabileceği gösterilmiştir. Hatta bu çalışmanın sonucunda optik sinir dışındaki diğer sinirlerin hasarlanmasında da Anti VEGF tedavisin faydalı olabileceği düşünülmüş ve farklı çalışmalar ile diğer sinir hasarlarında da denenmesi önerilmiştir (11, 15, 128).

Yapılan tüm bu çalışmalar bize Anti VEGF tedavisinin trigeminal sinir hasarı sonrasında da limitli bir anjiyogenez, doku ödemi azaltıcı ve sinir beslenmesini arttırıcı

etkileri üzerinden, trigeminal sinirin fonksiyonlarını geri kazanmasında veya sekonder hasarın sınırlandırılmasında etkili olabileceğini düşündürdü. Biz de tüm bu bilgiler ışığında Anti VEGF' in trigeminal nevraljide de nöronal iyileşmeye katkı sağlayabileceği hipotezi ile yola çıkarak sıçanlarda trigeminal ganglionlardan alınan nöronların xcelligence sisteminde hem hiperglisemik ortamda hem normoglisemik ortamda hem de hiperosmolar ortamda Bevacizumab (Anti-VEGF) uygulanmasının, trigeminal nöronlara etkilerini inceledik.

Yaptığımız bu tez çalışmasında sıçanlardan alınan trigeminal ganglion nöronlarının Anti VEGF tedavisi sonrasında xcelligence sistemiyle hücresel indeksleri incelenerek sinir ileti fonksiyonları, hücrelerin rejenerasyonu değerlendirildi.

Yapılan testlerin sonucunda elde edilen veriler göstermiştir ki;

3 farklı hücre kültür deneylerinin sonucunda hiperglisemik ortam hücrenin hücre indeksini normoglisemik ve hiperosmolar ortama göre belirgin düşürmüştür. Böylece hiperglisemik ortamın nöropatik model olarak kullanılabileceğini gösterdik.

Normoglisemik ortamda yapılan testlerde;

NG ortamdaki hücre indeksi kontrol grubu olarak kabul edildi ve hücre indeksi 1 olarak değerlendirildi. NG ortamdaki hücre indeksi NG bevacizumab doz 1, doz 2, doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamıştır, NG bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmıştır. NG bevacizumab doz 1 verilen ortamdaki hücre indeksi NG bevacizumab doz 2 ve doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derecede farklılık saptanmamış olup NG bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derecede farklılık saptanmıştır. NG bevacizumab doz 2 verilen ortamdaki hücre indeksi NG bevacizumab doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamış olup NG bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmıştır. NG bevacizumab doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksi NG bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Kısacası NG ortamda tüm bevacizumab tedavi dozlarının negatif etkinliğinin olmadığı gösterilmiş ancak bunun yanında doz 4 de hücre indeksinde pozitif yönde anlamlı farklılık olduğu görülmüştür. Her ne kadar istatistiksel olarak sadece doz 4 ile diğer gruplar

arasında anlamlı farklılık olsa da doz arttıkça hücre indeksinde pozitif yönde bir artış olduğu görülmüştür. Bu da bize nöronların doz bağımlı olarak bevacizumab tedavisinin nörorejenerasyona katkı sağlayabileceğini düşündürmüştür.

Hiperosmolar ortamda yapılan testlerde ;

NG ortamdaki hücre indeksi kontrol grubu olarak kabul edildi ve hücre indeksi 1 olarak değerlendirildi. NG ortamdaki hücre indeksi HPO, HPO bevacizumab doz 1 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamıştır, HPO bevacizumab doz 2, doz 3 ve doz 4 den anlamlı farklılık saptanmıştır. HPO ortamdaki hücre indeksi HPO bevacizumab doz 1 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derecede farklılık saptanmamıştır. HPO ortamdaki hücre indeksi HPO bevacizumab doz 2, doz 3, doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık bulunmuştur. HPO bevacizumab doz 1 verilen ortamdaki hücre indeksi HPO bevacizumab doz 2 ve doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derecede farklılık saptanmamış olup HPO bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derecede farklılık saptanmıştır. HPO bevacizumab doz 2 verilen ortamdaki hücre indeksi HPO bevacizumab doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamış olup HPO bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmıştır. HPO bevacizumab doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksi HPO bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Kısacası HPO ortamda bevacizumab tedavisinin tüm tedavi şekillerinde negatif etkisinin olmadığı gösterilmiş ancak hücre indekslerinde doz bağımlı olarak anlamlı farklılık saptanmış olup pozitif etkinliği gösterilmiştir. Her ne kadar istatistiksel olarak tüm dozlar arasında anlamlı farklılık olmasa da doz arttıkça hücre indeksinde pozitif yönde bir artış olduğu görülmüştür. Bu da bize nöronların doz bağımlı olarak bevacizumab tedavisinin nörorejenerasyona katkı sağlayabileceğini düşündürmüştür.

Hiperglisemik ortamda yapılan testlerde ;

NG ortamdaki hücre indeksi kontrol grubu olarak kabul edildi ve hücre indeksi 1 olarak değerlendirildi. NG ortamdaki hücre indeksi HPG, HPG bevacizumab doz 1, doz 2,

doz 3 ve doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derece daha yüksek saptanmıştır. HPG ortamdaki hücre indeksi HPG bevacizumab doz 1 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derecede farklılık saptanmamıştır. HPG ortamdaki hücre indeksi HPG bevacizumab doz 2, doz 3, doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık bulunmuştur. HPG bevacizumab doz 1 verilen ortamdaki hücre indeksi HPG bevacizumab doz 2, doz 3 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı derecede farklılık saptanmıştır, bevacizumab doz 4 verilen ortamdaki hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamıştır. HPG bevacizumab doz 2 verilen ortamdaki hücre indeksi HPG bevacizumab doz 3 ve doz 4 verilen hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamıştır. HPG bevacizumab doz 3 verilen hücre indeksi HPG bevacizumab doz 4 verilen hücre indeksinden anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Kısacası HPG ortamda bevacizumab tedavisinin tüm tedavi şekillerinde negatif etkisinin olmadığı gösterilmiş ancak hücre indekslerinde doz bağımlı olarak anlamlı farklılık saptanmış olup pozitif etkinliği gösterilmiştir. Her ne kadar istatistiksel olarak tüm dozlar arasında anlamlı farklılık olmasa da doz arttıkça hücre indeksinde pozitif yönde bir artış olduğu görülmüştür. Bu da bize nöronların doz bağımlı olarak bevacizumab tedavisinin nörorejenerasyona katkı sağlayabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda elde edilen veriler ışığında Anti VEGF tedavisinin spinal korddaki radyoterapi nekrozu, optik nöropati, spinal tümör olgularında yapılan çalışmalardaki mekanizmalara benzer şekilde trigeminal nevraljide de nöronal rejenerasyona katkı sağlayabileceği, fonksiyonel nöronları koruyarak sekonder hasarı azaltıcı ya da sınırlayıcı etkisinin olabileceği düşünüldü.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmalar elde edilebilecek anlamlı sonuçların minimum sayıdaki denekler ile yapıldığı bir çalışma olup istatistiksel değerlendirme yapılmıştır. Biz bu deneylerin daha geniş ve kapsamlı bir şekilde yapılması ve insan deneyleri üzerinde de denenebilmesi halinde daha anlamlı farklılıklar bulunabileceğini düşünmekteyiz. Anti VEGF tedavisinin yukarıda da anlattığımız yollar üzerinden trigeminal nevraljide nöronal rejenerasyona katkı sağlayabileceği, fonksiyonel nöronları koruyarak sekonder hasarı azaltıcı ya da sınırlayıcı etkisinin olabileceği düşünüldü. Anti-VEGF tedavisinin bahsettiğimiz yollar üzerinden trigeminal nevraljide iyileşmeye yönelik umutlandıran bir molekül olduğunu düşünmekteyiz.



7. KAYNAKLAR

1-Samadian M, Bakhtevvari MH, Nosari MA, Babadi AJ, Razaei O. Trigeminal Neuralgia Caused by Venous Angioma: A Case Report and Review of the Literature. *World Neurosurg.* 2015; 84:860-4.

2- Montano N, Conforti G, Di Bonaventura R, Meglio M, Fernandez E, Papacci F. Advances in diagnosis and treatment of trigeminal neuralgia. *Ther Clin Risk Manag.* 2015; 11:289-99.

3- Guardiani E, Sadoughi B, Blitzer A, Sirois D. A new treatment paradigm for trigeminal neuralgia using Botulinum toxin type A. *Laryngoscope.* 2014; 124:413-7.

4- Falaki F, Nejat AH, Dalirsani Z. The Effect of Lowlevel Laser Therapy on Trigeminal Neuralgia: A Review of Literature. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 2014; 8:1-5.

5-Kerr FW. Pathology of trigeminal neuralgia: light and electron microscopic observations. *J Neurosurg* 1967; 26: 151–156.

6-Jannetta PJ. Gross (mesoscopic) description of the human trigeminal nerve and ganglion. *J Neurosurg* 1967; 26: 109–111

7-Jannetta PJ. Arterial compression of the trigeminal nerve at the pons in patients with trigeminal neuralgia. *J Neurosurg* 1967; 26: 159–162

8-The Clinical Journal of Pain. 18(1):4-13, January-February 2002 Pathophysiology of Trigeminal Neuralgia: The Ignition Hypothesis

9-Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America Volume 112, Issue 47, Pages 14676 1468124 November 2015

10-VEGF Antagonism Attenuates Cerebral Ischemia/Reperfusion-Induced Injury via Inhibiting Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Apoptosis Shu-Qing Feng 1 2, Shao-Yun Zong 1 2, Jia-Xin Liu 3, Yang Chen 1 2, Rong Xu 1 2, Xin Yin 1 2, Rong Zhao 4, Ying Li 5 6, Ting-Ting Luo 1 2 DOI: 10.1248/bpb.b18-00628.

11-Anti-VEGF bevacizumab (Avastin) for radiation optic neuropathy Paul T Finger 1 DOI: 10.1016/j.ajo.2006.09.014.

12-Trigeminal neuralgia: An overview from pathophysiology to pharmacological treatments Eder Gambeta¹, Juliana G. Chichorro², and Gerald W. Zamponi

13-Limiting angiogenesis to modulate scar formation Stefanie Korntner 1, Christine Lehner, Renate Gehwolf, Andrea Wagner, Moritz Grütz, Nadja Kunkel, Herbert Tempfer, Andreas Traweger

14- Anti-VEGF treatment improves neurological function in tumors of the nervous system Na Zhang 1, Jie Chen 1, Gino B Ferraro 1, Limeng Wu 1, Meenal Datta 2, Rakesh K Jain 1, Scott R Plotkin 3, Anat Stemmer-Rachamimov 4, Lei Xu 5 DOI: 10.1016/j.expneurol.2017.09.008

15-Jager RD, Mieler WF, Miller JW. Age-related macular degeneration. N Engl J Me2008;358(24):2606-17.

16-Merskey H, Bogduk N: Classification of chronic pain. SeatHe, IASP press, 1994

17. Stookey B, Ransohoff J: Trigeminal neuralgia, its History and treatment Springfield, Charles C Thomas, 1959

18. Koehler PJ, van de Wiel TWM: Aretaeus on migraine and headache. Journal of the history of the Neurosciences 10:253-261,2001

19. Rose FC. Trigeminal Neuralgia. Arch Neurol. 1999;56(9):1163-4

20- Wilkins RH: Historical perspectives, in Rovit RL, Murali Ro Janetta PJ (eds): Trigeminal Neuralgia.Baltimore: Williams and Wilkins,1990,1-26 s

21- Ameli NO: Avicenna and Trigeminal Neuralgia. J Neurol Sci 2:105-107,1965

22- Preul MC: Historical considerations of the diagnosis and treatment of facial pain. Neurosurg Clin North Am 12:111-126,2001

23- Brown JA, Coursaget C, Preul MC, Sangvai D: Mercury water and cauterizing stones: Nicholas Andre and tic douloureux. J Neurosurg 90:977- 981,1999

24- Preul MC: Historical considerations of the diagnosis and treatment of facial pain. Neurosurg Clin North Am 12:111-126,2001

25- Rasmussen P: Facial pain. Copenhagen, Munksgaard, 1965

- 26- Cutter C: Treatise on Anatomy, Physiology and Hygiene. Philadelphia: JB Lippincott, 1874, 336 s
- 27- Fromm GH, Sessle BJ. Trigeminal Neuralgia. Current Concepts Regarding Pathogenesis and Treatment. Boston: Butterworth- Heinemann; 1991. 1-26 s
- 28-Şeftalioğlu A. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. Feryal Matbaası, 1998, 3.baskı, Ankara, Türkiye, p:27-45.
- 29-Dere F. Nöroanatomi: Fonksiyonel Nöroloji. Nobel Tıp Kitabevi, 2000, 4. Baskı, Ankara, Türkiye, p:116-29
- 30-Sadler TW. Langman's Medical Embryology. Palme Yayıncılık, ed. Başaklar C, 2011, 11.baskı, Ankara, p: 284-88
- 31-Kehrli P, Maillot C, Wolff M J. Anatomy and embryology of the trigeminal nerve and its branches in the parasellar area. Neurological Research. 1997; 19(1): 57-65.
- 32- Yıldırım M. Klinik Nöroanatomi. Palme Yayıncılık, 2000, İstanbul, p: 408-09.
- 33-Reddy GD, Viswanathan A. Trigeminal and glossopharyngeal neuralgia. Neurol Clin. 2014; 32:539–52.
- 34- Romanes GJ. The peripheral nervous system: Trigeminal nerve. In: Romanes GJ, editor. Cunningham's textbook of anatomy. 12th ed. Oxford, UK: Oxford University Press; 1981. p. 748–56.
- 35- Ajayi, N., L. Lazarus, and K. Satyapal, Trigeminal Cave and Ganglion: An Anatomical Review. International Journal of Morphology, 2013. 31(4).
- 36- Sabancı, P.A., et al., Meckel's cave. World neurosurgery, 2011. 76(3): p. 335-341.
- 37- Girija Rath: Handbook of Trigeminal Neuralgia, Springer, 2019
- 38- Liu GT. The Trigeminal nerve and its central connections. In: Miller NR, Newman NJ, Biouesse V, Kerrison JB, editors. Walsh and Hoyt's clinical neuro-ophthalmology. 6th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 1233–68.
- 39- Kandel, E.R., et al., Principles of neural science. 5 ed. 2000: McGraw-hill New York.

- 40- Smith RD. Axonal projections and connections of the principal sensory trigeminal nucleus in the monkey. *J Comp Neurol.* 1975; 163:347–76.
- 41- Ikeda M, Tanami T, Matsushita M. Ascending and descending internuclear connections of the trigeminal sensory nuclei in the cat. A study with the retrograde and anterograde horseradish peroxidase technique. *Neuroscience.* 1984; 12:1243–60.
- 42- Silverman JD, Kruger L. Projections of the rat trigeminal sensory nuclear complex demonstrated by multiple fluorescent dye retrograde transport. *Brain Res.* 1985; 361:383–8.
- 43- Steindler DA. Trigemino-cerebellar, trigemino-tectal, and trigemino-thalamic projections: a double retrograde axonal tracing study in the mouse. *J Comp Neurol.* 1985; 237:155–75.
- 44- Rodella LF, Buffoli B, Labanca M, Rezzani R. A review of the mandibular and maxillary nerve supplies and their clinical relevance. *Arch Oral Biol.* 2012; 57:323–34.
- 45- Tomaszewska IM, Zwinczewska H, Gładysz T, Walocha JA. Anatomy and clinical significance of the maxillary nerve: a literature review. *Folia Morphol.* 2015; 74:150–6.
- 46- Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). The international classification of headache disorders, 3rd edition. *Cephalalgia.* 2018; 38:1–211.
- 47- Manzonni GC, Torelli P. Epidemiology of typical and atypical craniofacial neuralgias. *Neurol Sci.* 2005;26(Suppl 2): s65–7.
- 48- Koopman JS, Dieleman JP, Huygen FJ, de Mos M, Mart'in CG, Sturkenboom MC. Incidence of facial pain in the general population. *Pain.* 2009; 147:122–7.
- 49- Hall GC, Carroll D, Parry D, McQuay HJ. Epidemiology and treatment of neuropathic pain: the UK primary care perspective. *Pain.* 2006; 122:156–62.
- 50- Hooge JP, Redekop WK. Trigeminal neuralgia in multiple sclerosis. *Neurology.* 1995; 45:1294–6. 95

51- De Toledo IP, Conti Reus J, Fernandes M, Porporatti AL, Peres MA, Takaschima A, et al. Prevalence of trigeminal neuralgia: a systematic review. *J Am Dent Assoc.* 2016; 147:570–6. e2.

52- Katusic S, Beard CM, Bergstralh E, Kurland LT. Incidence and clinical features of trigeminal neuralgia, Rochester, Minnesota, 1945-1984. *Ann Neurol.* 1990; 27:89–95.

53- Maarbjerg S, Gozalov A, Olesen J, Bendtsen L. Trigeminal neuralgia – a prospective systematic study of clinical characteristics in 158 patients. *Headache.* 2014; 54:1574– 82.

54- Reddy GD, Viswanathan A. Trigeminal and glossopharyngeal neuralgia. *Neurol Clin.* 2014; 32:539–52.

55- Pollack IF, Jannetta PJ, Bissonette DJ. Bilateral trigeminal neuralgia: a 14-year experience with microvascular decompression. *J Neurosurg.* 1988; 68:559–65.

56- Bagheri SC, Farhidvash F, Perciaccante VJ: Diagnosis and treatment of patients with trigeminal neuralgia. *J Am Dent Assoc* 2004; 135:1713–1717.

57- Jannetta PJ. Vascular compression is the cause of TN. *APS J.* 1993; 2:217–27. 83. Prasad S, Galetta S. Trigeminal neuralgia: historical notes and current concepts. *Neurologist.* 2009; 15:87–94.

58- Prasad S, Galetta S. Trigeminal neuralgia: historical notes and current concepts. *Neurologist.* 2009; 15:87–94.

59- Nurmiko TJ, Eldridge PR. Trigeminal neuralgia: pathophysiology, diagnosis and current treatment. *Br J Anaesth.* 2001; 87:117–32.

60- Yoshino N, Akimoto H, Yamada I, Nagaoka T, Tetsumura A, Kurabayashi T, Honda E, Nakamura S, Sasaki T. Trigeminal neuralgia: evaluation of neuralgic manifestation and site of neurovascular compression with 3D CISS MR imaging and MR angiography. *Radiology.* 2003; 228:539–45.

61- de Lange EE, Vielvoye GJ, Voormolen JH. Arterial compression of the fifth cranial nerve causing trigeminal neuralgia: angiographic findings. *Radiology.* 1986; 158:721–7.

- 62- Haines SJ, Jannetta PJ, Zorub DS. Microvascular relations of the trigeminal nerve. An anatomical study with clinical correlation. *J Neurosurg.* 1980; 52:381–6.
- 63- Love S, Coakham HB. Trigeminal neuralgia: pathology and pathogenesis. *Brain.* 2001; 124:2347–60.
- 64- Tenser, R.B., Underlying Mechanism of Trigeminal Neuralgia: Central, Peripheral, or Both? *World neurosurgery*, 2016
- 65- Sabalys, G., G. Juodzbals, and H.-L. Wang, Aetiology and pathogenesis of trigeminal neuralgia: a comprehensive review. *Journal of oral & maxillofacial research*, 2013. 3(4): p. e2.
- 66- Gardner, W.J., Concerning the Mechanism of Trigeminal Neuralgia and Hemifacial Spasm*. *Journal of neurosurgery*, 1962. 19(11): p. 947-958.
- 67- Idiopathic trigeminal neuralgia: sensory features and pain mechanisms Dubner, R. *; Sharav, Y. **; Gracely, R. H. *; Price, D. D. *,¹ DOI: 10.1016/0304-3959(87)90003-0
- 68- Kugelberg, E. and U. Lindblom, The mechanism of the pain in trigeminal neuralgia. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 1959. 22(1): p. 36- 43.
- 69- Horínek D, Brezová V, Nimsky C, Belsan T, Martinkovic L, Masopust V, et al.: The MRI volumetry of the posterior fossa and its substructures in trigeminal neuralgia: a validated study. *Acta Neurochir (Wien)* 2009; 151:669–675.
- 70- Jia D, G L: Bioresonance hypothesis: a new mechanism on the pathogenesis of trigeminal neuralgia. *Medical Hypotheses* Volume 74, Issue 3, March 2010, Pages 505-507
- 71- Ishikawa, M., et al., Operative findings in cases of trigeminal neuralgia without vascular compression: proposal of a different mechanism. *Journal of clinical neuroscience*, 2002. 9(2): p. 200-204.
- 72 -Wang X, Liang H, Zhou C, Xu M, Xu L. Sensitization induces hypersensitivity in trigeminal nerve. *Clin Exp Allergy.* 2012; 42:1638–42.
- 73- Chan, M., Shaw, E., Tatter, S., 2013. Radiosurgical management of trigeminal neuralgia. *Neurosurgery Clinics of North America* 24 (4), 613–621.

74- Maarbjerg S, Di Stefano G, Bendtsen L, Cruccu G. Trigeminal neuralgia-diagnosis and treatment. *Cephalalgia*. 2017; 37:648–57.

75- Wiffen, P., Derry, S., Moore, R., McQuay, H.J., 2011. Carbamazepine for acute and chronic pain in adults. UK Cochrane Centre, National Institute for Health Research, Oxford.

76- Cruccu G, Gronseth G, Alksne J, Argoff C, Brainin M, Burchiel K, et al. AANEFNS guidelines on trigeminal neuralgia management. *European Journal of Neurology*, 2008. 15(10): p. 1013-1028.

77- Punyani SR, Jasuja VR: Trigeminal neuralgia: An insight into the current treatment modalities. *Journal of oral biology and craniofacial research* 2012; 2:188–197.

78- Teoh, D.G. and A.A. Secord, Antiangiogenic therapies in epithelial ovarian cancer.

Cancer Control, 2011. 18(1): p. 31-43.

79- Kabbinavar F, Hurwitz HI, Fehrenbacher L, Meropol NJ, Novotny WF, Lieberman G, Griffing S, Bergsland E. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2003 Jan 1;21(1):60-5

80- Ferrara, N., et al., Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. NatWang, Y., et al., Biological activity of bevacizumab, a humanized anti-VEGF antibody in vitro. *Angiogenesis*, 2004. 7(4): p. 335-345
Drug discovery, 2004. 3(5): p. 391-400.

81- Wang, Y., et al., Biological activity of bevacizumab, a humanized anti-VEGF antibody in vitro. *Angiogenesis*, 2004. 7(4): p. 335-345

82- Fogli, S., et al., Clinical pharmacology of intravitreal anti-VEGF drugs. *Eye (Lond)*, 2018. 32(6): p. 1010-1020.

83- Anti-VEGF treatment improves neurological function and augments radiation response in NF2 schwannoma model Xing Gao 1, Yingchao Zhao 2, Anat O Stemmer-Rachamimov 3, Hao Liu 4, Peigen Huang 4, ShanMin Chin 4, Martin K Selig 3, Scott R Plotkin 5, Rakesh K Jain 4, Lei Xu 6 DOI: 10.1073/pnas.1512570112

84- Hosseini H, Razeghinejad Mr. Anterior Ischemic Optic Neuropathy After Intravitreal Injection Of Bevacizumab. J Neuroophthalmol 2009;29: 160-1.

85-Hurwitz H, Fehrenbach L, Novotny V, et al. Bevacizumab Plus Irinotecan, Fluorouracil, And Leucovorin For Metastatic Colorectal Cancer. New England Journal Of Medicine 2004; 350:2335-42

86- Black R. A laboratory model for trigeminal neuralgia. In: Bonica J, editor. Advances in neurology. Vol.4. New York: Raven Press, 1974. p. 651-658.

87-Descending supraspinal effects under conditions of disturbance of the inhibitory processes in the nuclei of the medulla: the formation of the generators of excitation G N Kryzhanovsky, F D Sheikhan Exp Neurol. 1976 Feb;50(2):387-401. doi: 10.1016/0014-4886(76)90013-3.

88-The mechanosensitivity of spinal sensory neurons following intraspinal injections of quiscalic acid in the rat. Yeziarski RP, Park SH. Neurosci Lett. 1993 Jul 9;157(1):115-9. doi: 10.1016/0304-3940(93)90656-6.

89-Photochemically induced graded spinal cord infarction. Behavioral, electrophysiological, and morphological correlates. Prado R, Dietrich WD, Watson BD, Ginsberg MD, Green BA. J Neurosurg. 1987 Nov;67(5):745-53. doi: 10.3171/jns.1987.67.5.0745.PMID: 3668644

90-Hyperalgesia in spontaneous and experimental animal models of diabetic neuropathy. L Wuarin-Bierman¹, G R Zahnd, F Kaufmann, L Burcklen, J Adler Diabetologia . 1987 Aug;30(8): 653-8. doi: 10.1007/BF00277324.

91-Effect of hyperglycemia on pain threshold in alloxan-diabetic rats. Lee JH, Cox DJ, Mook DG, McCarty RC. Pain. 1990 Jan;40(1):105-107. doi: 10.1016/0304-3959(90)91057-P.

92-Fleetwood-Walker SM, Quinn JP, Wallace C, Blackburn-Munro G, Kelly BG, Fiskerstrand CE, et al. Behavioural changes in the rat following infection with varicella-zoster virus. J Gen Virol 1999; 80:2433-2436

93- Cavaletti G, Tredici G, Braga M, Tazzari S. Experimental peripheral neuropathy induced in adult rats by repeated intraperitoneal administration of taxol. Exp Neurol 1995; 133:64-72.

94- Aley KO, Reichling DB, Levine JD. Vincristine hyperalgesia in the rat: a model of painful vincristine neuropathy in humans. *Neuroscience* 1996; 73:259-265.

95-Authier N, Fialip J, Eschalier A, Coudore F. Assessment of allodynia and hyperalgesia after cisplatin administration to rats. *Neurosci Lett* 2000; 291:73-76

96-Wall PD, Devor M, Inbal R, Scadding JW, Schonfeld D, Seltzer Z, et al. Autotomy following peripheral nerve lesions: experimental anaesthesia dolorosa. *Pain* 1979; 7:103-111

97- Kerns JM, Braverman B, Mathew A, Luchinetti C, Ivankovich AD. A comparison of cryoprobe and crush lesions in the rat sciatic nerve. *Pain* 1991; 47:31-39.

98-DeLeo JA, Coombs DW, Willenbring S, Colburn RW, Fromm C, Wagner R, et al. Characterization of a neuropathic pain model: sciatic cryoneurolysis in the rat. *Pain* 1994; 56:9-16

99- Lombard MC, Nashold BS, Albe-Fessard D, Salman N, Sakr C. Deafferentation hypersensitivity in the rat after dorsal rhizotomy: a possible animal model of chronic pain. *Pain* 1979; 6:163-174.

100- Li L, Xian CJ, Zhong JH, Zhou XF. Effects of lumbar 5 ventral root transection on pain behaviors: a novel rat model for neuropathic pain without axotomy of primary sensory neurons. *Exp Neurol* 2002; 175:2

101-Wiesenfeld Z, Lindblom U. Behavioral and electrophysiological effects of various types of peripheral nerve lesions in the rat: a comparison of possible models for chronic pain. *Pain* 1980; 8:285-298

102-Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988; 33:87-107.

103-Vos BP, Strasman AM, Maciwick RJ. Behavioral evidence of trigeminal neuropathic pain following chronic constriction injury to the rat's infraorbital nerve. *J Neurosci* 1994; 14:2708-2723.

104-Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* 1990; 43:205-218.

105-Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992; 50:353-363.

106- Decosterd I, Woolf CJ. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain* 2000; 87:149-158.

107- Hofmann HA, De Vry J, Siegling A, Spreyer P, Denzer D. Pharmacological sensitivity and gene expression analysis of the tibial nerve injury model of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 2003; 470:17-25.

108- Lee BH, Won R, Baik EJ, Lee SH, Moon CH. An animal model of neuropathic pain employing injury to the sciatic nerve branches. *NeuroReport* 2000; 11:657-661.

109- Walczak JS, Pichette V, Leblond F, Desbiens K, Beaulieu P. Behavioral, pharmacological and molecular characterization of the saphenous nerve partial ligation: a new model of neuropathic pain. *Neuroscience* 2005; 132:1093-1102.

110-Gündüz Ö, Oltulu Ç, Güven R, Buldum D, Ulugöl A. Safen sinirinin kronik konstriksiyon zedelenmesinin bir sıçan nöropatik ağrı modeli olarak farmakolojik ve davranışsal yönden karakterizasyonu. 36. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 14-17 Eylül 2010 Edirne, Türkiye. Kongre Özet Kitabı sayfa:109.

111-J Clin Exp Dent. 2017 Jan 1;9(1): e34-e39. doi: 10.4317/jced.52901. eCollection 2017 Jan. Neurotoxicity evaluation of three root canal sealers on cultured rat trigeminal ganglion neurons Kursat Er 1, Ahmet Ayar 2 , Omer-Faruk Kalkan 3 , Sinan Canpolat 4 , Tamer Tasdemir 5 , Ulku Ozan 6

112- Mosmann T: Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983, 65:55–63.

113- Kumar P, Nagarajan A, Uchil PD: Analysis of Cell Viability by the MTT Assay. *Cold Spring Harb Protoc* 2018, 2018(6).

114-. OECD TG 439. In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method. 28 July 2015. Available from: <http://www.oecdilibrary.org/docserver/download/9715291e.pdf?expires=1482489462&id=id&accname=guest&checksum=BBD9677ED6B5DAFABBB00380CC70332D>. [Website]

115-OECD TG 492: Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage. 28 July 2015. Available from: <http://www.oecdilibrary.org/docserver/download/9715211e.pdf?expires=1482490212&id=id&accname=guest&checksum=5A6054E03ECCBF6C51DFAF39D9E807D1>. [Website]

116- Lindl T, Lewandowski B, Schreyögg S, Stäudte A: An evaluation of the in vitro cytotoxicities of 50 chemicals by using an electrical current exclusion method versus the neutral red uptake and MTT assays. *Altern Lab Anim* 2005, 33(6):591-601.

117- Stepanenko AA, Dmitrenko VV: Pitfalls of the MTT assay: Direct and off-target effects of inhibitors can result in over/ underestimation of cell viability. *Gene* 2015, 574(2):193-203.

118- Strober W: Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability. *Curr Protoc Immunol* 2015;111: A3.B.1-A3.B.3.

119- Strober W: Trypan blue exclusion test of cell viability. *Curr Protoc Immunol*. 200, Appendix 3: Appendix 3B.

120- Louis KS, Siegel AC: Cell Viability Analysis Using Trypan Blue: Manual and Automated Methods. *Mammn Cell Viabil*, 2011, 7-12.

121- Louis KS. Siegel AC, Levy GA: Comparison of Manual versus Automated Trypan Blue Dye Exclusion Method for Cell Counting. 2007. Available from: <http://www.ibdl.ca/Application%20Notes/Application%20Note%20-%20Vi-CELL1.pdf>. [Website]

122-The xCELLigence System for Real-Time and Label-Free Monitoring of Cell Viability Ning Ke, Xiaobo Wang, Xiao Xu & Yama A. Abassi

123-Chiu CH, Lei KF, Yeh WL, Chen P, Chan YS, Hsu KY, Chen AC. Comparison between xCELLigence biosensor technology and conventional cell culture system for real-time monitoring human tenocytes proliferation and drugs cytotoxicity screening. *J Orthop Surg Res*. 2017 Oct 16;12(1):149.

124-MALKOC S, OZTURK F, COREKCI B, BOZKURT BS, HAKKI SS (2012). Real-time cell analysis of the cytotoxicity of orthodontic mini-implants on human gingival fibroblasts and mouse osteoblasts. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 141: 419-426.

125-MARTINEZ-SERRA J, GUTIERREZ A, MUNOZ-CAPO S, NAVARRO-PALOU M, ROS T, AMAT JC, LOPEZ B, MARCUS TF, FUEYO L, SUQUIA AG, GINES J, RUBIO F, RAMOS R, BESALDUCH J (2014). XCELLigence system for real-time label-free monitoring of growth and viability of cell lines from hematological malignancies. *Onco Targets Ther*, 7: 985-994.

126-REICHL FX, ESTERS M, SIMON S, SEISS M, KEHE K, KLEINSASSER N, FOLWACZNY M, GLAS J, HICKEL R (2006). Cell death effects of resin-based dental material compounds and mercurials in human gingival fibroblasts. *Arch Toxicol*, 80: 370-377.

127-ACEA BIOSCIENCES. (2013). Real-Time and Dynamic Monitoring of Cell Proliferation and Viability for Adherent Cells. Erişim adresi: [<https://www.aceabio.com/wpcontent/uploads/Monitoring-Cell-Proliferation-and-Viability-for-Adherent-Cells.pdf>].

128- Radiation-induced myelopathy: treatment with bevacizumab Marc C Chamberlain 1, Keith D Eaton, James Fink DOI: 10.1001/archneurol.2011.621