

T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GATA HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
PLASTİK VE REKONSTRÜKTİF CERRAHİ SERVİS ŞEFLİĞİ

DİYABETİK SIÇANLARDA MEYDANA GELEN SİNİR
YARALANMALARI ONARIMINDA PERİNÖROTOMİ UYGULAMASININ
ETKİSİ
(DENEYSEL ČALIŐMA)

Cihan ŞAHİN
Dz. Tbp. Yzb.

Gülhane Askeri Tıp Akademisinin
Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Komutanlığı'nın
Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Programı
İçin Öngördüğü
TIPTA UZMANLIK TEZİ
Olarak hazırlanmıştır.

İSTANBUL
2011

T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GATA HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
PLASTİK VE REKONSTRÜKTİF CERRAHİ SERVİS ŞEFLİĞİ

DİYABETİK SIÇANLARDA MEYDANA GELEN SİNİR
YARALANMALARI ONARIMINDA PERİNÖROTOMİ UYGULAMASININ
ETKİSİ
(DENEYSEL ČALIŐMA)

Cihan şAHİN

Dz. Tbp. Yzb.

Gölhane Askeri Tıp Akademisi
Askeri Tıp Fakóltesi'nin
Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Uzmanlığı için öngördüğü
TIPTA UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

TEZ DANIşMANI

Ersin ÜLKÜR
Doç. Tbp. Yb.

İstanbul

2011

ONAY SAYFASI

GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Komutanlığına ;

‘Diyabetik sıçanlarda meydana gelen sinir yaralanmaları onarımında perinörotomi uygulamasının etkisi’ konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı’nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez danışmanı : Doç. Tbp. Yb. Ersin ÜLKÜR

Üye : Prof. Tbp. Kd. Alb. Selçuk IŞIK

Üye : Doç. Tbp. Yb. Ersin ÜLKÜR

Üye : Yrd. Doç. Tbp. Bnb. Hüseyin KARAGÖZ

Üye (yedek) : Yrd. Doç. Hv. Tbp. Yb. Fatih UYGUR

ONAY :

Dz. Tbp. Yzb. Cihan ŞAHİN’in 12.09.2011 tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Sadettin ÇETİNER

Prof. Hv. Tbp. Tümgeneral

Askeri Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi, Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Servis Şefliği tarafından, 20.01.2010 gün ve Bştbp.İlm.Yrd. 3730-36-10/Cerr.Hst.Bl.Bşk.Plis.Cer.Srv sayılı yazı ile verilmiş ve çalışmaya başlanmıştır. Bu çalışmada, diyabetik sıçanlarda meydana gelen sinir yaralanmaları onarımında perinörotomi uygulamasının etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Tez çalışmam ve eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım sayın hocam Prof. Dr. Fuat YÜKSEL başta olmak üzere; Prof. Dr. Haluk DUMAN'a, klinik şefim ve tez danışmanım Doç. Dr. Ersin ÜLKÜR'e, üzerimdeki emeklerini hiçbir zaman ödeyemeyeceğim Doç. Dr. Yalçın KÜLAHÇI başta olmak üzere; Yrd. Doç. Dr. Fatih UYGUR'a, Yrd. Doç. Dr. Hüseyin KARAGÖZ'e, Uz. Dr. Celalettin SEVER'e, Uz. Dr. Sinan ÖKSÜZ'e; tezimin hazırlanmasında emeği geçen, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'nda görevli Dr. Dilek AKAKIN ve Dr. Nükhet DAĞBAŞI'na; her zaman yardım ve desteklerini benden esirgemeyen, Uz. Dr. Nurettin NOYAN ve Uz. Dr. Rahmi EVİNÇ'e çalışma arkadaşlarım Dr. Bilge Kaan AYSAL'a, askerlikleri esnasında bilgi ve tecrübelerini bizden esirgemeyen tüm uzman doktor abilerime ve üyesi olmaktan gurur duyduğum Plastik Cerrahi Servisi ve Yanık Merkezi'nin tüm personel ve hemşirelerine teşekkür ederim. Tezimin istatistiksel analizlerinin yapılmasındaki katkılarından dolayı Sayın Özlem KÖKSAL'a teşekkür ederim.

Yoğun eğitimim sırasında sabırla beni destekleyen sevgili eşim Nalan'a ve bugünlere ulaşmamda en büyük emeği olan annem Sevim ŞAHİN ve babam Ömer ŞAHİN'e teşekkür ederim.

Cihan ŞAHİN

Dz. Tbp. Yzb

ÖZET

Diyabetik sıçanlarda meydana gelen sinir yaralanmaları onarımında perinörotomi uygulamasının etkisi

Diyabetik nöropatinin hiperglisemi tarafından tetiklenen değişik biyokimyasal reaksiyonların neden olduğu endonöral ödem sonucu olduğu bilinmektedir. Sinir yapısında iç ve dış sınırlayıcı faktörler ikili bası etkisine ('double crush' fenomeni) yol açar. İkili bası hipotezine göre tedavi tek bir nokta yerine, sinirin seyri boyunca tüm bası noktalarına uygulanmalıdır. Farklı seviyelerde sinir dekompresyonu diyabetik nöropati tedavisinin bölümlerinden birisini oluşturmaktadır. Ancak sinir dekompresyonu sinir içi basıncı değiştirmemektedir. Daha önce Kale ve arkadaşları bunu ekstremitelerdeki kompartman sendromuna benzeterek, diyabetik sıçanlarda dekompresyon ve perinörotomi uygulamasıyla daha başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Bu da sinir içi basıncın sinir fonksiyonlarını ne denli etkilediğini göstermektedir.

Bu çalışmanın amacı diyabetik sıçanlarda sinir yaralanmaları onarımında perinörotominin etkisinin araştırılmasıdır. Sinir onarımı ve perinörotomi uygulamasıyla daha iyi sinir rejenerasyonu elde edilebileceğini düşündük.

Bu çalışmada 40 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sağlıklı kontrol, sağlıklı perinörotomi, diyabetik kontrol ve diyabetik perinörotomi şeklinde dört grup oluşturuldu. İki grup streptozotosin ile diyabetik hale getirildi. Tüm gruplarda siyatik sinir kesilerek epinöral olarak sütüre edildi. Ek olarak sağlıklı ve diyabetik perinörotomi gruplarında siyatik sinir ve dallarına perinörotomi uygulandı. Fonksiyonel değerlendirme için yürüme yolu analizi kullanıldı. Postoperatif 12. haftada sinir biyopsileri alındı, ışık ve elektron mikroskobu incelemeleri yapıldı. Myelinli aksonlar sayıldı. Elde edilen tüm veriler istatistiksel olarak analiz edildi.

Diyabetik perinörotomi grubu siyatik fonksiyon indeksi diğer gruplardan daha iyiydi. Myelinli lif sayımı sonucuna göre sağlıklı kontrol ve sağlıklı perinörotomi grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi

($p>0,05$). Ancak diyabetik ve diyabetik perinörotomi grubu arasında diyabetik perinörotomi grubu lehine anlamlı fark bulundu ($p<0,05$).

Sonuç olarak perinörotomi diyabetik sıçanlarda sinir rejenerasyonunu arttırmaktadır. Perinörotominin diyabetik hastalardaki sinir onarımlarında uygulanabilmesi için daha ileri deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler : Perinörotomi – Diyabetik Nöropati – Sinir iyileşmesi

Yazar : Dr. Cihan ŞAHİN

Danışman : Doç. Dr. Ersin ÜLKÜR

İNGİLİZCE ÖZET

SUMMARY

The effect of perineurotomy on nerve repair in diabetic rat nerve injuries

It is known that diabetic neuropathy is the result of endoneurial edema caused by various biochemical reactions triggered by hyperglycemia. Internal and external restrictive structures create a double crush effect to the nerve structure. According to the double-crush hypothesis, the treatment should be applied to all entrapment points along the course of the nerve instead of a single site. Decompression of the nerve at different levels is one of the adjuncts of the overall treatment plan for diabetic neuropathy. However nerve decompression doesn't change the internal nerve pressure. Kale et al compared this with compartment syndrome of extremities and they had better results with decompression and perineurotomy in diabetic rats. This proves the effects of intraneural pressure in nerve function.

The aim of this study was to investigate the effect of perineurotomy on repair of the nerve injury in diabetic rats. We thought that we could have better nerve regeneration when nerve repair and perineurotomy is applied at the same time.

We used 40 Sprague-Dawley rats. Four groups (healthy control, healthy perineurotomy, diabetic control, and diabetic perineurotomy) were created. Streptozotocin-induced diabetes was created at two groups. In all groups the sciatic nerve was transected and sutured epineurally. Additionally, perineurotomy was performed to sciatic nerve and its branches in healthy and diabetic perineurotomy groups. Walking track analysis was used for functional assessment. The nerve biopsies were taken at postoperative 12th weeks, light and electron microscopic evaluation were carried out. Number of myelinated fibers was counted. All data obtained were statistically analysed.

Sciatic function index of diabetic perineurotomy was better than the other groups. According to number of the myelinated fiber, the difference between healthy control and healthy perineurotomy groups weren't significant

statistically ($p>0,05$). But the difference between diabetic control and diabetic perineurotomy groups were significant in favour of diabetic perineurotomy group ($p<0,05$).

We conclude that perineurotomy increases the regeneration of the nerve in diabetic rats. Further experimental and clinical trials are needed for perineurotomy to be able to be used in diabetic nerve repairs.

Keywords : Perineurotomy - Diabetic Neuropathy – Nerve Healing

Author : Dr. Cihan ŞAHİN

Counsellor : Assoc. Prof. Dr. Ersin ÜLKÜR

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
İNGİLİZCE ÖZET.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
ŞEKİLLER.....	xiii
TABLolar.....	xv
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Sinir Sistemi.....	3
2.1.1 Tarihçe.....	3
2.1.2 Embriyoloji.....	4
2.1.3 Anatomi ve Histoloji.....	4
2.1.4 Periferik Sinir Yaralanmaları.....	11
2.1.5 Sinir İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....	15
2.1.6 Sinir Onarımları.....	16
2.2 Diyabetes Mellitus.....	20
2.2.1 Tanım.....	20
2.2.2 Tarihçe.....	20
2.2.3 Epidemiyoloji.....	21
2.2.4 Patogenezis.....	22
2.2.5 Semptomlar.....	22
2.2.6 Sınıflama.....	23
2.2.7 Tanı Kriterleri.....	26
2.2.8 Komplikasyonlar.....	27
2.2.9 Diyabetik nöropati.....	28
2.2.9.1 Patogenezis.....	29
2.2.9.2 Diyabetik Nöropati Kliniği.....	35
GEREÇ VE YÖNTEM.....	39

3.1. Çalışma Grupları.....	40
3.2. Streptozotosin uygulaması.....	40
3.3. Cerrahi İşlem.....	41
3.4. Yürüme yolu analizi.....	47
3.4.1. Değerlendirme.....	47
3.5. Morfometrik Analiz.....	49
3.6. İstatistiksel Analiz.....	50
BULGULAR.....	51
4.1. Yürüme Yolu Analizi.....	51
4.2. Akson Sayımı.....	51
4.3. Histoloji.....	54
TARTIŞMA.....	60
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	65
KAYNAKLAR.....	66

SİMGELER VE KISALTMALAR

DM	:	Diyabetes mellitus
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
PDN	:	Periferik diyabetik nöropati
TURDEP	:	Türkiye diyabet epidemiyoloji araştırma projesi
ADA	:	American Diabetes Association (Amerikan diyabet birliği)
EMG	:	Elektromyografi
MODY	:	Maturity Onset Diabetes of The Young (İleri yaşta görülen tip I benzeri diyabet)
AGE	:	Advanced Glycation End Products (Glikozilasyon son ürünleri)
RAGE	:	Receptor for Advanced Glycation End Products (Makrofajlardaki AGE reseptörleri)
OGTT	:	Oral glukoz tolerans testi
LADA	:	Latent Autoimmune Diabetes in Adults (Geç başlangıçlı erişkin otoimmün diyabeti)
NO	:	Nitrik oksit
PGP	:	Protein Gene Product (Protein gen ürünü)
NOS	:	Nitrik oksit sentaz
ROS	:	Reactive Oxygen Species (Reaktif oksijen ürünleri)
COX	:	Cyclooxygenase (Siklooksijenaz)
NCV	:	Nerve Conduction Velocity (Sinir iletim hızı)
IGF-I	:	Insulin Like Growth Factor-I (İnsülin benzeri büyüme faktörü-I)
NGF	:	Nerve Growth Factor (Sinir büyüme faktörü)
CGRP	:	Calcitonin Gene Related Peptide (Kalsitonin geni ile ilgili peptit)
PG	:	Prostaglandin
NF-kB	:	Nükleer faktör kB
NADPH	:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

BDNF	:	Brain Derived Neurotrophic Factor (Beyin kaynaklı nörotrofik faktör)
NT-3	:	Nörotrofin 3
NT-4/5	:	Nörotrofin 4/5
KTS	:	Karpal tünel sendromu
PL	:	Print Length (Ayak izi uzunluğu)
ITS	:	Intermediate Toe Spread (Orta ayak yayılımı uzunluğu)
TS	:	Toe Spread (Ayak yayılımı uzunluğu)
BMH	:	Bain Mackinnon Hunter
PBS	:	Phosphate Buffered Saline (Fosfat tampon saline)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Otonom ve periferik sinir sisteminin yapısı.....	5
Şekil 2.2. Sinir hücresinin yapısı.....	6
Şekil 2.3. Miyelinli ve miyelinsiz aksonların yapısı.....	7
Şekil 2.4. Periferik sinir ve bağ dokusunun yapısı.....	8
Şekil 2.5. Periferik sinirin elektron mikroskobu görünümü.....	9
Şekil 2.6. Periferik sinir vasküler yapısı görünümü.....	10
Şekil 2.7. Seddon ve Sunderland sınıflaması.....	13
Şekil 2.8. Periferik sinir rejenerasyonu.....	14
Şekil 2.9. Sinir onarım teknikleri.....	17
Şekil 2.10. Diyabetik nöropati patogenezi.....	30
Şekil 2.11. Diyabetik hücrelerde aldoz redüktaz aktivitesi.....	31
Şekil 2.12. Diyabetik nöropatide glikolizasyon.....	31
Şekil 2.13. Diyabetik hücrede oksidatif stres.....	33
Şekil 2.14. COX yolağı ve diyabetik nöropati.....	34
Şekil 2.15. Diyabetik nöropati sınıflandırması.....	35
Şekil 3.1. Sıçanların gruplara ayrılmış, laboratuvarındaki görüntüsü.....	39
Şekil 3.2. Cerrahi işlemlerde kullanılan ameliyat mikroskobu.....	41
Şekil 3.3. Siyatik sinir ve dalları.....	42
Şekil 3.4. Tibial sinir ve dalları.....	43
Şekil 3.5. Siyatik sinirin epinöral olarak sütüre edilmiş hali.....	43
Şekil 3.6. Perinörotomi uygulaması.....	44
Şekil 3.7. Siyatik sinir ve dallarına perinörotomi uygulanmış hali.....	45
Şekil 3.8. Perinörotomi uygulanmış sinir enine kesiti.....	46
Şekil 3.9. Sıçanların postoperatif görünümü (sırasıyla arka-ön).....	46
Şekil 3.10. Yürüme yolu düzeneği.....	47
Şekil 3.11. Ayak izi üzerinde yapılan ölçümler.....	48
Şekil 3.12. <i>Image J</i> programı ile myelinli akson sayımı.....	50
Şekil 4.1. Siyatik Fonksiyon İndekslerindeki gelişmenin seyri.....	52
Şekil 4.2. Akson sayım sonuçları.....	53
Şekil 4.3. Dejenere akson sayım sonuçları.....	54

Şekil 4.4. Sağlıklı kontrol grubu periferik sinir enine kesiti.....	55
Şekil 4.5. Sağlıklı perinörotomi grubu periferik sinir enine kesiti.....	56
Şekil 4.6. Diyabetik kontrol grubu periferik sinir enine kesiti.....	56
Şekil 4.7. Diyabetik perinörotomi grubu periferik sinir enine kesiti.....	57
Şekil 4.8. Sağlıklı kontrol grubu periferik sinir enine kesiti.....	57
Şekil 4.9. Sağlıklı perinörotomi grubu periferik sinir enine kesiti.....	58
Şekil 4.10. Diyabetik grup periferik sinir enine kesiti.....	58
Şekil 4.11. Diyabetik perinörotomi grubu periferik sinir enine kesiti.....	59

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Periferik sinirlerin çap ve ileti hızlarına göre sınıflandırılması.....	11
Tablo 2.2. Seddon ve Sunderland sınıflaması.....	11
Tablo 2.3. Periferik sinir onarımlarında kullanılan biyomateryal ve teorilerin tarihsel gelişimi.....	19
Tablo 2.4. Diyabet tanı anındaki temel semptomlar.....	23
Tablo 2.5. Diyabetik nöropatide klinik bulgular.....	37
Tablo 3.1. Çalışma Grupları ve Denek Sayısı.....	40
Tablo 4.1. Ortalama siyatik fonksiyon indeksleri.....	52
Tablo 4.2. Akson sayım sonuçları.....	53
Tablo 4.3. Dejenere akson sayım sonuçları.....	54

GİRİŞ

Diyabetes Mellitus (DM) dünya çapında 246 milyon insanı etkileyen hiperglisemi ile karakterize metabolik bir bozukluktur. 2025 yılında bu rakamın 380 milyon olacağı tahmin edilmektedir (1). Gelişmiş tedavilere rağmen diyabet halen önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Hasta morbiditesinin ana nedeni ise diyabetik nöropatidir (2). Diyabet, otonomik ve sensörimotor sinirleri, tek ya da çoklu sinirleri etkileyebilir ve proksimal veya distalde oluşabilir. Periferik diyabetik nöropati (PDN) tip I diyabetin %54, tip II diyabetin %45'inde gözlenmektedir (3). Diyabetik nöropatinin önlenmesi ve tedavisi sıkı glisemik regülasyondan geçmektedir (4). Ancak PDN'deki rolü halen tam olarak net değildir (5, 6). Diyabetik nöropati patofizyolojisinde, sinir kalınlaşması önemli rol oynamaktadır. Diyabetik nöropati hiperglisemi ile tetiklenen değişik biyokimyasal olayların neden olduğu endonöral ödem sonucu oluşmaktadır. Sonuç olarak sinirler dar olan yerlerde sıkışmaktadır. Bu da karpal tünel sendromunun diyabetik hastalarda (%14-30) normal popülasyona (%2) göre neden daha sık gözlemlendiğini açıklamaktadır (7, 8).

Sinir gövdesinin değişik seviyelerde serbestleştirilmesi diyabetik nöropati tedavisinin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Sinirin cerrahi dekompresyonu sonucu; diyabetik hastalarda yaşam kalitesinde artış olması, ağrıda, iki nokta ayırımında düzelme olması, hatta elektif dekompresyon işleminin önerilmesi sinire olan basının, sinir fonksiyonunu ne denli etkilediğini ve cerrahinin faydasını açıkça ortaya koymaktadır (8, 9, 12, 13, 102-112). Ancak diyabetli hastalarda sinirin kalınlaşması sonucu dışarıdan bası olduğu gibi perinöriumun yapısı nedeniyle sinirin iç basıncında da artış olmaktadır. Perinörium, fasikülleri saran, mekanik olarak kuvvetli bağ dokusudur ve esnekliği azdır. Çevresindeki interstisyel doku basıncının hafif olarak daha yüksek olması sebebiyle devamlı bir basınç altındadır. Diyabetik nöropatide intranöral ödem artışı sonucu sinire giden kan akımı azalmaktadır.

Kale ve arkadaşları sinir dekompresyon işlemleri ile ilgili diyabetik sıçanlar üzerindeki çalışmalarında, sinir içi basıncı kompartman sendromuna benzetmişler ve dekompresyon + perinörotomi grubunda en iyi sonuçları elde

etmişlerdir (9). Biz de buradan esinlenerek perinörotomi uygulamasının diyabetik hayvanlarda sinir yaralanmaları sonrası cerrahi onarımı üzerinde ilave katkı sağlayacağını düşündük. Diyabetik ve diyabetik olmayan sıçanların siyatik sinirleri kesildi ve epinöral olarak onarıldı. Ayrıca birer gruba perinörotomi uygulandı. Sonuçlar yürüme yolu analizi, ışık ve elektron mikroskobisi ile değerlendirildi.

GENEL BİLGİLER

2.1. Sinir Sistemi

2.1.1 Tarihçe

Periferik sinirler hakkında ilk yazılı bilgiler M.Ö. 460-370 yılları arasında Hippocrates döneminde gözlenmektedir. Periferik sinir yaralanmaları ile ilgili ilk çalışmaları Galen (MS 130 - 200) yapmıştır, sinirlerin kesilmesi sonucunda his duyusunda ve kas gücünde azalma olduğunu saptamıştır. Ancak sinirin iyileşemeyeceğini belirtmiştir ve bu görüş 18. yüzyıla kadar kabul görmüştür. Fonksiyonel yapı ile ilgili ilk çalışmalardan biri Galvani tarafından yapılmıştır, kurbağa deneylerinde sinir liflerinin elektrik stimülasyonuna yanıt verdiğini, kasların kasıldığını göstermiştir. Schwann isimli araştırmacı 1839'da *Schwann* hücrelerini tanımlamıştır (15). Paget 1847 yılında 11 yaşındaki bir hastada median siniri onarmış ve tam fonksiyonel iyileşme olduğunu yayınlamıştır; bu bilinen ilk sinir onarımıdır (16). Waller 1850 yılında sinir yaralanmalarıyla ilgili çalışmaları sonucunda yaralanma distalinde dejenerasyon, proksimalinde rejenerasyon olduğunu saptamıştır. 1906 yılında Golgi ve Cajal, sinir sisteminin, birbiri ile fonksiyonel ilişkide olan hücrelerden oluştuğunu göstererek, Erlanger ve Gasser ise 1944 yılında sinir iletim fizyolojisi, aksiyon potansiyelleri, refrakter periyod konusundaki çalışmaları ile nobel ödülü almışlardır (17).

Bugünkü periferik sinir cerrahisinin temelini oluşturan ilk bilimsel çalışmalar 1948 yılında Seddon tarafından yapılmıştır. Seddon, sinir yaralanma mekanizmaları, dereceleri, takip ve tedavi seçenekleri hakkında çalışmalar yapmış ve sinir hasar derecesini belirtmek için Seddon sınıflamasını geliştirmiştir. Sunderland, 1945 ile 1968 yılları arasında yaptığı çalışmalarda, sinir yaralanma mekanizmalarını daha da detaylandırmış ve çeşitli onarım tekniklerini geliştirmiştir. Periferik sinir cerrahisinin gelişimine, Millesi ve Terzis periferik sinir cerrahisinin teknik detaylarını geliştirip çeşitlendirerek önemli katkılarda bulunmuşlardır (15).

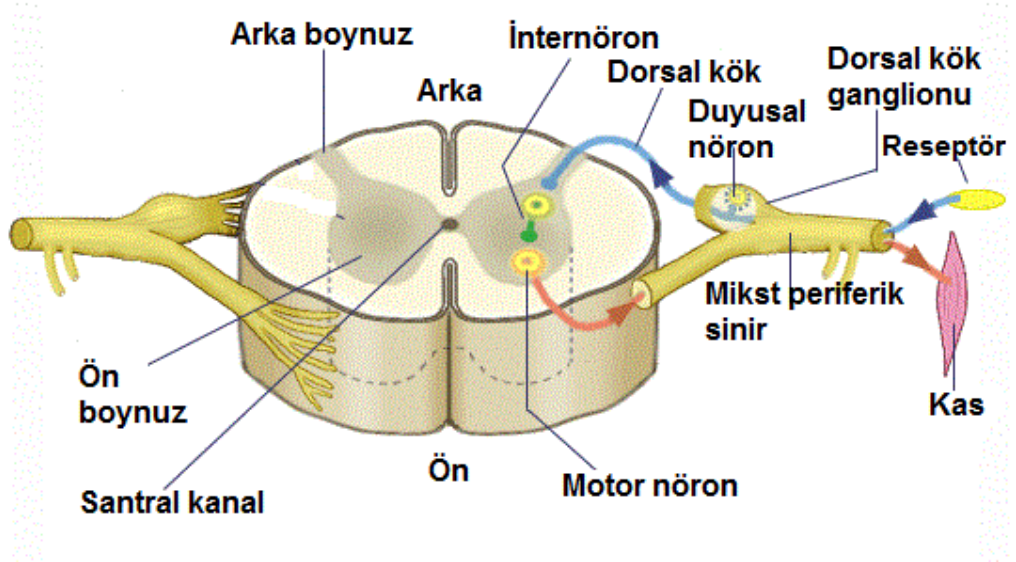
2.1.2 Embriyoloji

Sinir dokuları embriyonik hayatın 3. haftasında başlayarak, embriyonel ektodermden gelişir. Notokord'dan gelen sinyaller sonucunda, embriyonun orta dorsalinde nöral plak şekillenir, daha sonra plağın kenarları kalınlaşır ve nöral oluk oluşur. Yarığın kenarları yukarı ve birbirine doğru büyür ve birleşerek nöral tüpü meydana getirir. Bu yapı tüm merkezi sinir sistemini oluşturur. Nöral oluğun yan kısmındaki nöral kristayı yapan bir grup hücre nöroepitelyumdan ayrılıp mezenkimal hale geçer ve tüm vücuda göç ederek periferik sinir sistemini oluşturur (18).

2.1.3 Anatomi ve Histoloji

Sinir sistemi bilindiği gibi merkezi sinir sistemi (MSS) ve periferik sinir sistemi (PSS) olarak ikiye ayrılır. MSS, beyin , beyincik ve omurilikten; PSS ise ganglionlar, periferik sinirler ve sinir sonlanmalarından meydana gelir. Ana görevi organizmanın iç ve dışında oluşan mekanik ve kimyasal değişimlerin meydana getirdiği bilgileri almak , incelemek, değerlendirmek ve cevap vermek olarak özetlenebilir.

Periferik sinirler motor, duysal ve sempatik liflerden oluşurlar ve etrafı bağ dokusu ile kaplıdır. Fasikül olarak isimlendirilen demetler halinde seyrederler. Motor sinirlerin hücre gövdeleri medulla spinalis ön boynuzunda, duyu sinirlerinin hücre gövdeleri ise dorsal spinal arka kökler içerisinde yerleşmiştir (19). Buradan çıkan lifler dorsal ve ventral spinal kordları, bunlar da duyu ganglionlarından sonra birleşerek periferik sinirleri oluşturur. Otonom sinir sistemine ait nöronlar ise, merkezi sinir sistemi içinde ve dışında bulunan nükleus ve ganglionlarda toplanmışlardır. Otonom sinir sistemi organların fonksiyonları ve iç dengelerini yönetir, sempatik ve parasempatik sistem olarak ikiye ayrılır (20). Aferent uyarılar arka boynuzdan, eferent uyarılar ise ön boynuzdan iletilirler (Şekil 2.1).

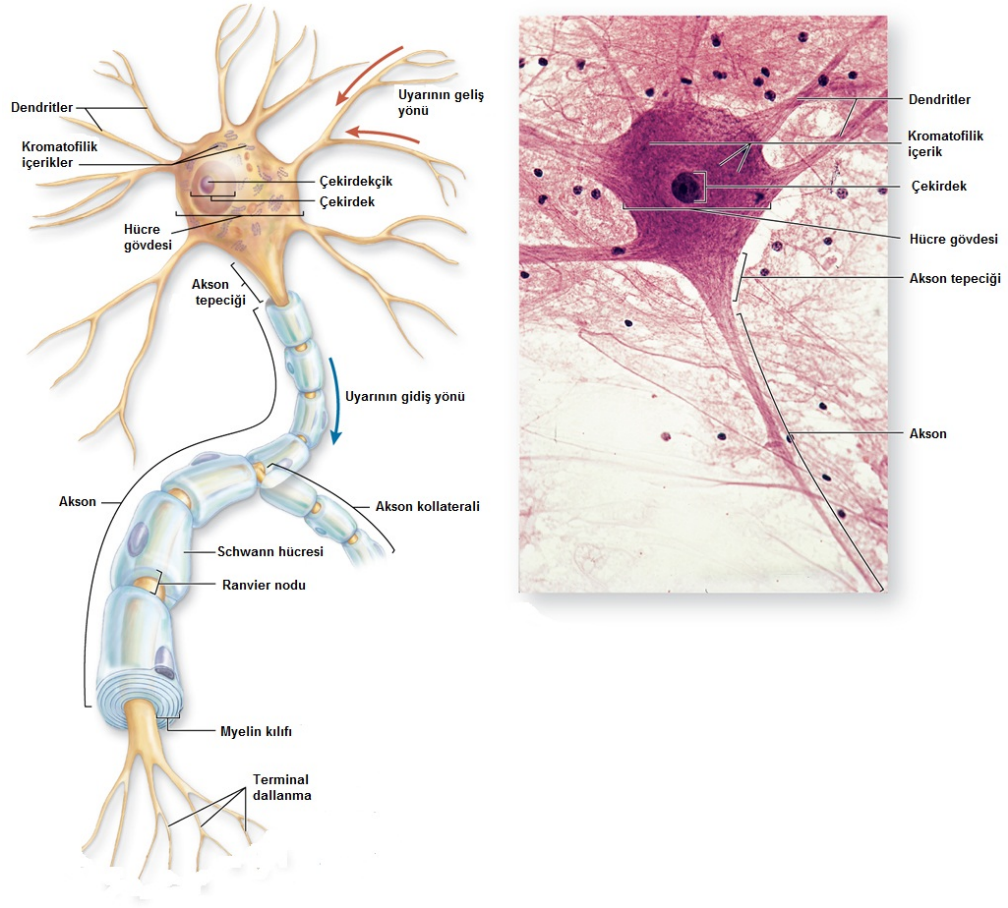


Şekil 2.1. Otonom ve periferik sinir sisteminin yapısı

Hücresel Anatomi

Periferik sinir sistemi temel olarak nöronlar ve *Schwann* hücrelerinden oluşur. Nöronlar fonksiyonel üniteyi oluştururlar. Nöron; hücre gövdesi, akson ve dendrit olmak üzere üç bölümden oluşur (Şekil 2.2)(21).

Dendritler; nöronlar arasındaki iletişimi sağlayan, hücre gövdesinde yerleşik, reseptör işlevi gören, ağaç dallanması şeklinde çok sayıdaki sitoplazmik çıkıntılardır. Sinir hücrelerinden genellikle tek olarak çıkan, etraf ile iletişimi sağlayan uzantı ise aksondur. Akson etrafı aksolemma denilen membran ile sarılıdır, hücre stoplazmasının akson içerisindeki devamına ise aksoplazma denilmektedir. Nöroflamentler ve mikrotübüllerden oluşan hücre iskeleti de akson içerisinde devam etmektedir (21). Aksonun sinir hücresi ile olan devamlılığı bozulursa, metabolik olaylar hücre gövdesinde geliştiği için distal bölüm dejenerasyona uğrar (15).



Şekil 2.2. Sinir hücresinin yapısı

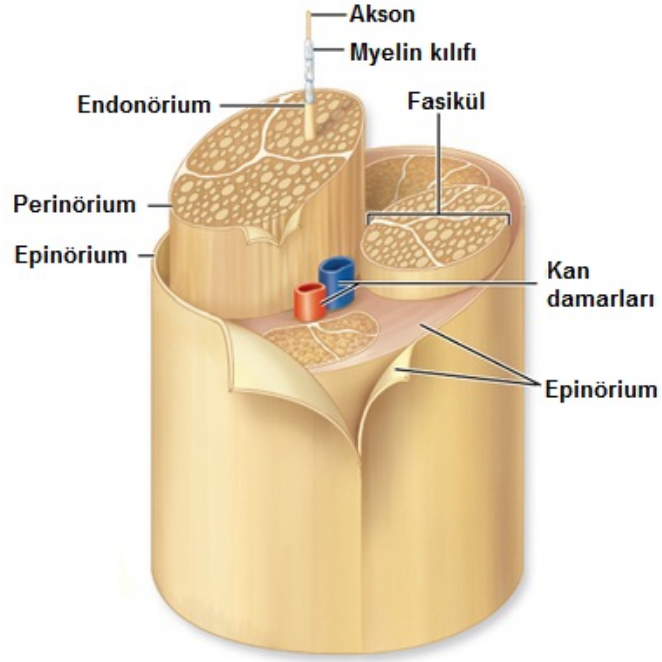
Aksonların çoğunun etrafı fosfolipid yapıda olan miyelin kılıf ile sarılmıştır. Merkezi sinir sisteminde oligodendrositler, periferik sinir sisteminde *Schwann* hücreleri (nörolemmosit) miyelin yapımından sorumludur. Miyelinli sinirlerde bir akson bir *Schwann* hücresi tarafından sarılır. Miyelinsiz liflerde ise bir *Schwann* hücresi birden fazla aksonu sarmaktadır (Şekil 2.3). Akson boyunca yer alan miyelin kılıf girintilerine *Ranvier* nodları adı verilir (Şekil 2.2). *Ranvier* nodu gelen akımı artırıcı yapıdadır. Burada enerji üreten hücre elemanları daha fazladır, örneğin mitokondri sayısı beş kat fazladır (15).



Şekil 2.3. Miyelinli ve miyelinsiz aksonların yapısı

Schwann hücreleri akson etrafında iyon dengesini sağlarlar, nörotransmitter dağılımına ve aksolemma üzerinde sodyum kanalı yerleşimine katkıda bulunurlar. *Schwann* hücreleri, sinir lifini çevreleyen tip IV kollajen ve lamininden oluşan bir bazal membran sentezlerler. Bu bazal membran sinir rejenerasyonu sırasında, yeni oluşan aksonal tomurcukların distale uzanımları sırasında rehberlik görevi görür (15).

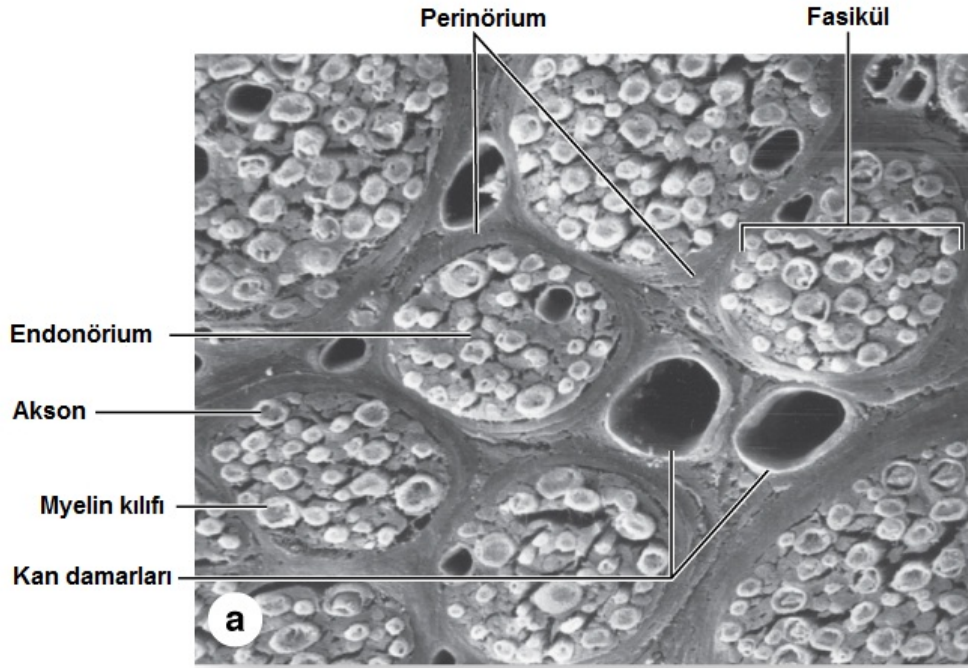
Aksonların bir araya gelmesiyle fasiküller, fasiküllerin birleşmesiyle ise ana periferik sinirler oluşur. Sinir liflerinin bir arada bulunması bağ dokusu sayesinde olmaktadır. Sinir dayanıklılığını bu bağ dokusu oluşturur. Farklı sinirlerde ve yerlerde bağ dokusu oranının %25 - 85 arasında değiştiği gözlenmiştir (22). Epinörum, perinörum ve endonörum olmak üzere üç farklı bağ dokusu bulunmaktadır (Şekil 2.4 ve Şekil 2.5).



Şekil 2.4. Periferik sinir bağ dokusunun yapısı

Endonörium; aksonları tek tek saran kollajen yapıdan oluşmuştur, elastin içermez. *Schwann* hücreleri de endonöral tabakanın componentidir. Büyük miyelinli aksonlar etrafında iki tabaka halindedir. Dıştaki tabaka longitudinal olarak, içteki tabaka ise rastgele organize olmuştur. Küçük miyelinli aksonlarda, sadece longitudinal dış tabaka mevcuttur. *Schwann* hücresi basal membranı, bu tüpün iç tarafını döşer (23).

Perinörium; fasikülleri saran, mekanik olarak kuvvetli bağ dokusudur, kan beyin bariyerinin bir uzantısıdır ve enfeksiyona direnç sağlamaktadır. Çevresindeki interstisyel doku basıncının hafif olarak daha yüksek olması sebebiyle devamlı bir basınç altındadır. Perinöriuma damarlar oblik olarak girerler, bu nedenle basınç artışlarında kanlanma bozulmaktadır. Perinörium longitudinal olarakta gerilim altındadır. Sinir kesisi sonrası sinir uçlarının geriye kaçması bu nedenledir. Perinöriumun hasar görmesi sinir fonksiyonunu etkiler (23, 24).



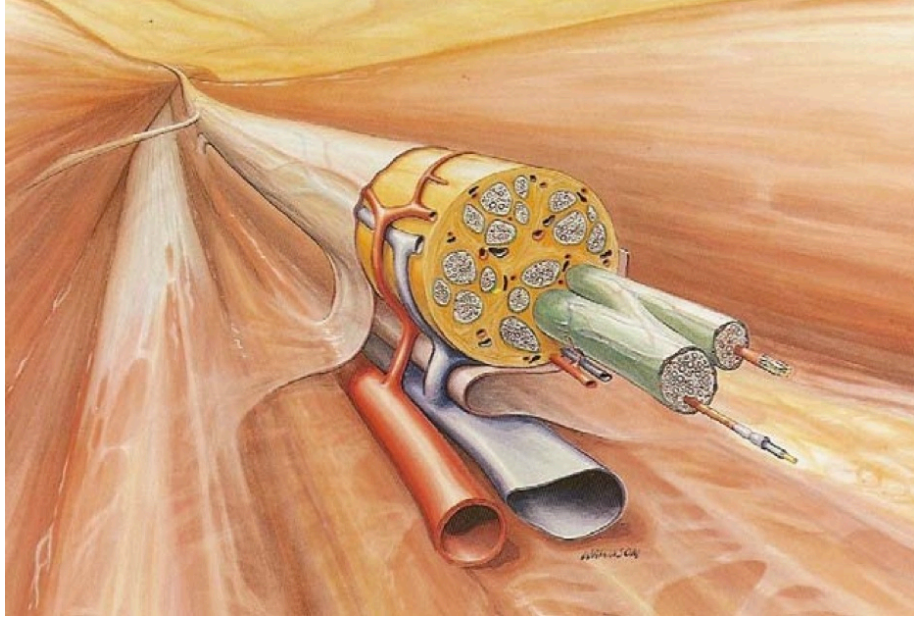
Şekil 2.5. Periferik sinirin elektron mikroskobu görünümü

Epinörium; bağ dokunun gevşek bir şekilde toplanması ve fasiküllerin etrafını sarması ile oluşmaktadır. Görevi, fasikülleri ekstremitelerin hareketi esnasında travmalara karşı korumaktır. İki tabaka halindedir. Dış tabaka kollajenden ve vasküler yapılardan zengindir ve periferik sinirlerin dış kısmını sarar. İç tabaka ise fasiküller arasında bulunmaktadır. Böylece dışarıdan gelen kuvvetlere karşı direnç sağlar ve fasiküllerin birbiri üzerinde kaymasına izin verir. Kalınlığı bulunduğu sinire ve bölgeye göre %25 ile %75 arasında değişmektedir (örn. eklemler üzerinde sinirin %75'ini oluşturmaktadır). Epinöriumun vaskülaritesi çok büyük öneme sahiptir, çünkü direkt olarak endonöral kapillerle ilişkilidir ve sinir liflerinin beslenmesini sağlar. Lenfatik yapılar da bu tabaka içerisinde (23, 25).

Kan dolaşımı

Periferik sinirlerde eksternal ve internal olmak üzere iki tür dolaşım vardır. Eksternal dolaşım sinir adventisiyası içinde longitudinal olarak seyrederek. Seyri esnasında ise intrinsek dolaşıma dallar verir ve bu ağ sinir dışı

dokuları besler. İntrensek dolaşım ise sinir bağ dokusu içinde bulunur (Şekil 2.6). Bu geniş damarlanma, siniri ileri derecede mobilize edebilmemize olanak sağlar (23).



Şekil 2.6. Periferik sinir vasküler yapısı görünümü

Periferik Sinir Liflerinin Sınıflandırılması

Sinir liflerinin çapları $0,2 \mu$ ile 20μ arasında değişmektedir ve ileti hızları $0,5 \text{ m/s}$ ile 120 m/s arasındadır. Yapısal özelliklerine, ileti hızlarına, kalınlıklarına ve fonksiyonlarına göre değişik şekillerde sınıflandırmalar mevcuttur.

Fasikül yapılarına göre üçe ayrılırlar: (16)

- 1) Monofasiküler sinir: Birçok sinir lifi içeren tek bir fasikül
- 2) Oligofasiküler sinir: Birkaç büyük fasikülden oluşan sinir
- 3) Polifasiküler sinir: Çok sayıda fasikülden oluşan sinir

İletim hızı ve çaplarına göre ise 3 ana grupturlar (26): Tablo 2.1

Tablo 2.1. Periferik sinirlerin çap ve ileti hızlarına göre sınıflandırılması

Grup	Çap (µ)	İleti Hızı (m/sn)	Fonksiyonu
Aα	12-20	70-120	Propriyosepsiyon, somatik motor
Aβ	5-12	30-70	Dokunma, basınç
Aγ	3-6	15-30	Kas içciklerine motor
Aδ	2-5	12-30	Ağrı, soğuk, dokunma
B	<3	3 - 15	Preganglionik otonomik
C (dorsal kök)	0.4-1.2	0.5-2	(<i>Miyelinsiz</i>) ağrı, ısı, mekanoreseptör, refleks cevaplar
C (Sempatik)	0.3-1.3	0.7-2.3	(<i>Miyelinsiz</i>) postganglionik sempatikler

2.1.4 Periferik Sinir Yaralanmaları

Periferik sinir yaralanmalarını Seddon 1948 yılında; nöropraksi, aksonotmezis ve nörotmezis olarak 3'e ayırarak yapmıştır. Sunderland ise, 1951 yılında 5 grup sinir yaralanma tipi tanımlamıştır (Şekil 2.7). 1988 yılında Mackinnon 6. derece sinir hasarını bu sınıflamaya dahil etmiştir (Tablo 2.2) (15, 27, 28).

Tablo 2.2. Seddon ve Sunderland sınıflaması

Seddon	Sunderland	Hasar	İyileşme Potansiyeli
Nöropraksi	I	İyonik blok; olası segmental demiyelinizasyon	Tam
Aksonotmezis	II	Akson kopması; endonöral tüp sağlam	Tam
	III	Endonöral tüp kopması, perinörium sağlam	Yavaş; inkomplet
	IV	Perinörium hasarı, yalnızca epinörium sağlam	Nöroma oluşumu
Nörotmezis	V	Epinörium hasarı, sinirde tam kopma	Yok
	VI	Yukarıdakilerin kombinasyonu	Tahmin edilemez

Nöropraksi; aksonal bütünlük bozulmamıştır, iletim azalmış veya kesilmiştir. *Wallerian* dejenerasyon yoktur. Genellikle tam iyileşme günler

veya haftalar içerisinde oluşmaktadır. Aksonal bütünlük bozulmadığı için, rejenerasyonu gösteren *tinel* bulgusu yoktur.

Aksonotmezis; bağ dokusunun korunduğu, aksonların kesildiği, Wallerian dejenerasyonun olduğu ve nöropraksiye göre daha şiddetli olan sinir yaralanmasıdır. Bağ dokunun korunmuş olması sebebiyle aylar içerisinde iyileşme olmaktadır. Rejenerasyonun olduğu bu tip yaralanmada *tinel* bulgusu vardır.

Nörotmezis; sinirin akson, miyelin ve bağ dokusunun parçalanması ile tam kopma olan periferik sinir yaralanmasıdır. Rejenerasyon aracılığıyla iyileşme gerçekleşmez. Sinirin devamlılığını yeniden sağlamak için cerrahi gereklidir.

Sunderland Sınıflaması:

1. derece yaralanma: Seddon sınıflamasındaki nöropraksiye eşdeğerdir. Sinir bütünlüğü devam etmektedir, aksonlar ve sinir kılıf yapıları sağlamdır, demiyelinizasyon sonucu iletim kaybı söz konusudur. Altı - sekiz hafta içinde iyileşir.

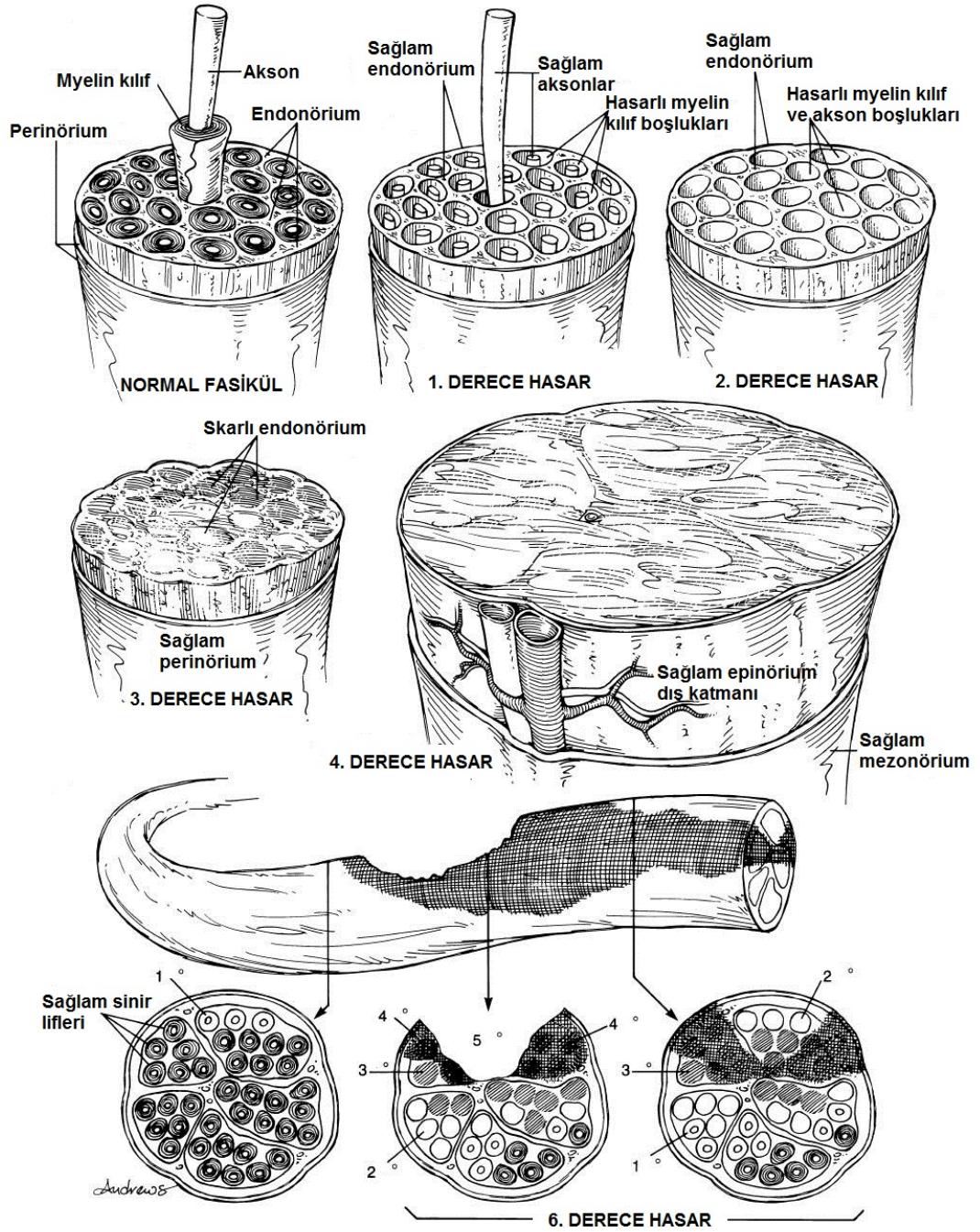
2. derece yaralanma: Seddon sınıflamasındaki aksonotmezise eşdeğerdir. Sinir kılıf yapıları sağlam olmakla birlikte, akson bütünlüğü kesintiye uğramıştır ve distal segmentte Wallerian dejenerasyon gelişir. Spontan iyileşir.

3. derece yaralanma: Seddon sınıflamasındaki aksonotmezis ve nörotmezisin bir karışımıdır. *Schwann* hücrelerinin bazal laminası ve akson harabiyeti mevcuttur, epinörium ve perinörium sağlamdır. *Wallerian* dejenerasyon izlenir. İyileşme tam olmaz.

4. derece yaralanma: Sinir gövdesinin bütünlüğü korunmuştur ancak epinörium dışındaki tüm tabakaların devamlılığı bozulmuştur, fasiküller parçalanmıştır. Oluşan fazla miktardaki skar dokusu nöroma oluşumuna yol açmaktadır. Spontan iyileşme çok nadir olduğu için cerrahi önerilmektedir.

5. derece yaralanma: Epinöral devamlılık bozulmuştur, sinirde tam kopma vardır, nörotmezise karşılık gelmektedir. Cerrahi müdahale olmaksızın iyileşme mümkün değildir.

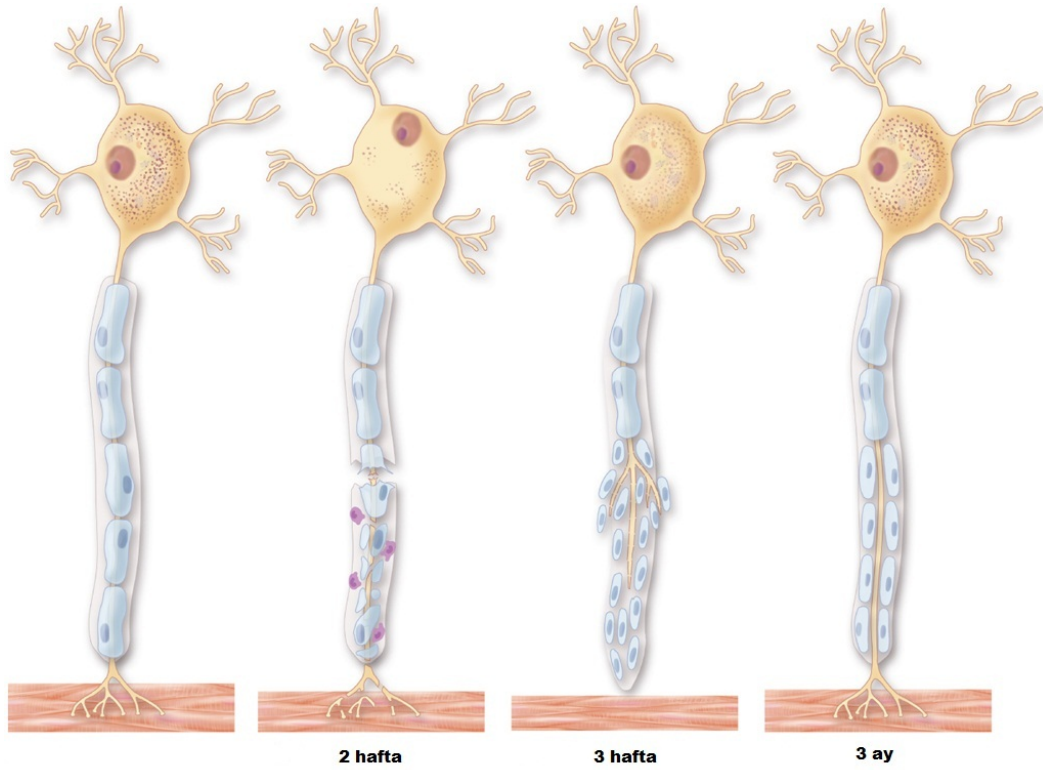
6. derece yaralanma: Değişik seviyelerde, farklı derecelerde birden fazla yaralanma vardır. Bir kısım fasiküllerde iyileşme olabilir ancak 4. ve 5. derecede hasarlanmış fasiküllerde iyileşme olmaz, cerrahi onarım gereklidir (29).



Şekil 2.7. Seddon ve Sunderland sınıflaması (Mackinnon ilavesi dahil)

Periferik Sinir Rejenerasyonu

Periferik sinir iyileşmesinde amaç yeni oluşan aksonların hedef organlarla fonksiyonel bağlantı oluşturmalarıdır. Sinir dokusunda diğer vücut dokularından farklı bir iyileşme süreci vardır. Yaralanma sonrası hem proksimalde hem de distalde değişiklikler oluşur. Travmanın şiddetine ve sinir hücresi gövdesine yakınlığına göre proksimaldeki dejenerasyon, farklı uzunluklarda olmaktadır. Genellikle travmaya en yakın *Ranvier* boğumuna kadar distalde görülen dejenerasyonun aynısı gözlenir. *Ranvier* boğumunda büyüme tomurcuğu oluşur ve her bir *Ranvier* nodunda 50 - 100 dalcık oluşur. Bu ilk tomurcuklar genelde rezorbe olurlar ve kalıcı tomurcuklar, genelde ilk 24 saatin sonunda belirmeye başlarlar. Eğer distalde uygun ortam olmazsa bu dallar hedeflerini bulamazlar veya nöroma oluştururlar (30). Uygun ortam olduğunda yaklaşık üç günlük bir bekleme süresinden sonra 1 - 3 mm/gün hızında aksonal ilerleme gözlenir.



Şekil 2.8. Periferik sinir rejenerasyonu

Hasar distalindeki tüm miyelinli/miyelinsiz lifler *Wallerian* dejenerasyona uğrar, yaralanmanın distalindeki aksoplasma ve miyelin temizlenir ve akson rejenerasyonu için yol hazırlanır (Şekil 2.8). Makrofajlar ve *Schwann* hücreleri, laminin, fibronektin gibi yapısal ve adeziv ekstrasellüler matriks moleküllerini üretirler. Prolifere olan *Schwann* hücreleri bazal membran üzerinde longitudinal kolonlar şeklinde birleşerek *Büngner* bandı'nı oluştururlar. *Büngner* bandı rejenere olan akson için kontakt etkileşim yaratır ve aksonun distale doğru ilerlemesini sağlar (31). Rejenere akson çevresindeki *Schwann* hücreleri, hem aksonun büyümesini indükler hem de proksimalden distale miyelinizasyonu başlatır. Promiyeline lifler, doğru hedef organa ulaştıktan sonra, zaman içinde matürasyonunu tamamlar ve proksimalden distale doğru akson çapı artar. Ancak hiçbir zaman yaralanma öncesi miyelin kalınlığına ve akson çapına erişemezler (32, 33).

2.1.5 Sinir İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Nörotropizm; difüze olabilen veya sabit faktörlerin, rejenere olan aksonların yolunu bulabilmesi için rehberlik etmesidir. Fonksiyonel sonucun iyi olması için rejenere olan aksonlar spesifik son organa yönelmelidir. Rejenere akson sayısı yeterli olsa bile hedefe ulaşamazlarsa fonksiyon kötü olacaktır. Nörotropizm, aynı zamanda sinir spesifikliğini etkileyebilir. Uygun distal sinirin selektif reinnervasyonu Politis ve arkadaşları tarafından, "Y" şeklindeki tüp modeli ile gösterilmiştir (34).

Nörotrofizm; normal veya rejenere olan bir nöronun ve aksonal uzantılarının hücresel iç dengesinin sağlanması için desteklenmesi anlamına gelmektedir. Hücresel dolaşım, geniş spektrumdaki nörotrofik faktörler, nöropeptitlerin büyümekte veya yaşamakta olan nöronu desteklemesi kompleks ve çok yönlü bir süreçtir. Hormonal denge, genel iyilik hali gibi sistemik faktörler ve perfüzyon, inflamatuvar mediyatörler gibi lokal faktörler akson kalitesini etkilemektedir. Bu olayların sağladığı destekte herhangi bir bozukluk olması sonucu kötü yönde etkileyecektir (35).

2.1.6 Sinir Onarımları

Sinir onarımındaki amacımız en fazla sayıdaki aksonu, doğru organizasyonda hedef dokuya ulaştırabilmektir. Onarımın sonucu yaralanmanın yeri, tipi, cerrahi teknik, zamanlama, hastanın yaşı gibi birçok faktörden etkilenmektedir.

Yaralanma sonrası beş güne kadar yapılan cerrahiler primer onarım, üç haftaya kadar yapılanlar geç primer onarım, üç haftadan sonrakiler ise sekonder onarım olarak tanımlanmaktadır (36).

Epinöral onarım; en sık kullanılan yöntemdir. Uygulama süresinin kısa olması, kolay olması, minimal büyütme gerektirmesi, intranöral yapıların sağlam kalması ve yabancı cisim kullanılmaması avantajlarıdır. Dezavantajı ise fasiküler disorganizasyondur. Gerilimin derecesini anlamak için ilk iki dikiş 8/0 sütürle atılır, kopuyorsa aşırı gerilim vardır, greftleme uygulanmalıdır (Şekil 2.9)(15).

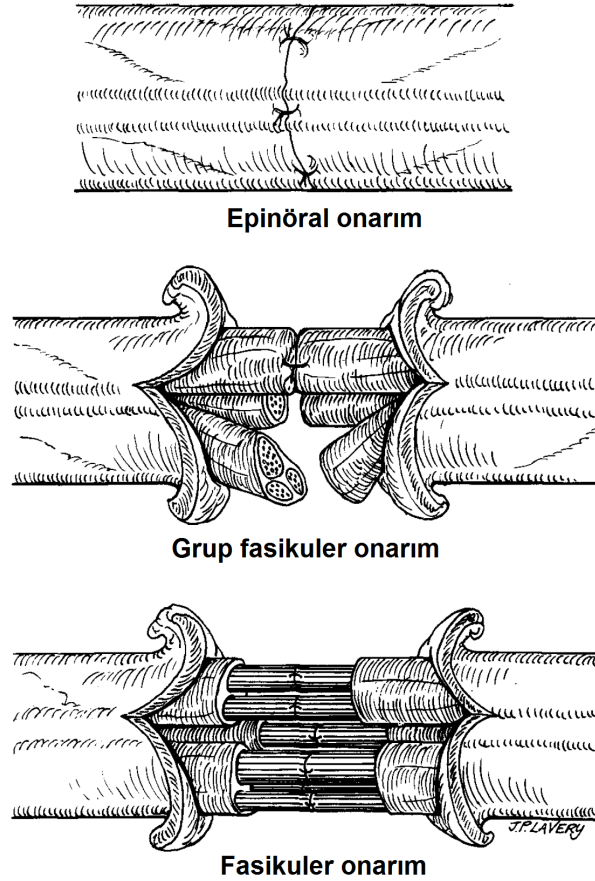
Grup fasiküler onarım; karşılıklı fasiküler gruplar bulunarak sütüre edilirler.

Fasiküler onarım; bu tür onarım, fasiküllerde motor ve kutanöz duyu dalların ayrılabilirdiği durumlarda kullanılabilir. Fazla miktarda diseksiyon ve fasikül manipülasyonu yüksek oranda skar oluşumuna yol açar.

Uç - yan nörorafi; yaralanmış sinirin proksimal ucunun bulunamadığı durumlarda önerilmektedir. Yaralı sinirin distal ucu komşu sinir gövdesinin yan tarafına uç - yan olarak sütüre edilir. Bu şekilde, donör sinirden gelen aksonal filizlerin, hasarlı sinir distal segmentine ilerlemesi hedeflenir. Uç - yan sinir onarımı 1992'de Viterbo ve arkadaşları tarafından ortaya atılmıştır; teknik o zamandan beri birçok deneysel çalışmaya konu olmuştur (37).

Uç - yan nörorafi tekniğinde de bazı değişiklikler yapılarak çeşitli deneysel modeller elde edilmiştir. Yan yana nörorafi ve sağlam sinirin epinöriumunu köprü gibi kullanarak sinir greftine alternatif defekt onarım yöntemleri bunlardan bazılarıdır (38 - 40). Ayrıca daha sonra yapılan bir çalışmada sinir iletkeni olarak grefte alternatif olarak sağlam sinir gövdesi kullanıldığında, proksimal sinir segmentindeki aksonların sağlam sinir gövdesi boyunca

ilerleyip, distalde kendi orijinal güdüklerini buldukları *Horse Radish Peroxidase* boyama tekniği ile gösterilmiştir (41).



Şekil 2.9. Sinir onarım teknikleri

Greft ile onarım;

Sinir yaralanmalarında tercih edilen primer onarımdır, ancak sinir uçları arasında defekt varsa veya gerilimsiz uç uca suture edilemiyorsa araya greft konulmalıdır. Altın standart otojen sinir grefti kullanımıdır. Böylece *Schwann* hücreleri ile birlikte bazal lamina çatısından oluşan bir kanal sağlanmış olacaktır.

Fasikül düzeni, bağ dokusu içeriği ve fibril genişliği açısından yapılan yoğun çalışmalar sonucunda en uygun greftlerin yüzeyel radial sinir ve sural sinir olduğu saptanmıştır. İkinci sırada ise *nervus cutaneus antebrachii medialis*, *nervus cutaneus antebrachii lateralis* ve *nervus cutaneus femoris lateralis* gelmektedir, ancak bunlar çok nadir durumlarda kullanılabilir (42). Yüzeyel radial sinir ancak tamir edilemeyecek durumda yaralanmış ise greft olarak kullanılması gerektiği, bu sinirin özellikle 4 - 5. servikal sinir yaralanmaları, radial sinirin yüksek seviye yaralanmaları ve posterior kord yaralanmaları için saklanması gerektiği belirtilmiştir (42).

Vaskülarize sinir greftleri; vasküler pediküle sahip sinir greftleridir. İlk vaskülarize sinir grefti 1976 yılında Taylor ve Ham tarafından tanımlanmıştır (43). Genellikle sural ve ulnar sinirlerden elde edilirler. Kutanöz sinir greftlerine üstünlüğü gösterilememiş olmasına rağmen, vaskülaritesi iyi olmayan yatak, cilt defekti varlığı ve uzun sinir defektleri gibi olgularda kullanılabilir (43, 44).

Sinir İletkenleri; otogreftlerin donör alan morbiditesi yaratması nedeniyle sinir onarımlarında alternatif yöntem arayışlarına gidilmiştir. Alternatif donör sinir dokusu elde etme ve sinir rejenerasyonunu artırma yöntemleri, doku mühendisliği, *skafold* oluşturulması, *konduitler*, indüksiyon faktörleri ve ekstraselüler matriks bileşenleri uygulamalarını kapsar. Doku mühendisliği uygulamalarının günümüzde oldukça gelişmekte olmasına rağmen özellikle uzun sinir defektlerinde otojen sinir greftlerinin yerini tutacak ideal bir yöntem halen bulunamamıştır. Periferik sinir onarımında kullanılan materyallerin tarihsel gelişimi tabloda görülmektedir (Tablo 2.3)(45).

Tablo 2.3. Periferel sinir onarımlarında kullanılan biyomateryal ve teorilerin tarihsel gelişimi

ARAŞTIRMACILAR	YIL	MATERYAL	ARAŞTIRMACILAR	YIL	MATERYAL
Lundborg ve ark.	1982	10 Mezotelyal konduit	Rozen ve ark.	1992	Kollajen-glikolid trimetilen karbonat (GTMC)
Martin ve Gilchrist	1983	Aljinat örtü materyali	Brunelli	1993	Ven-kas konduiti
Mohlander ve ark.	1983	Poliglaktin	Wang	1993	Ven-kollajen konduiti
Seckel ve ark.	1984	Polyester tüp	Walter ve ark.	1993	Rekombinant aFGF
Longo ve ark.	1984	Fibronektin	Brunelli	1994	Aljinat konduiti
Heney ve ark.	1985	Polyester tüp	Kiyotani ve ark.	1995	PGA+ kollajen
Madison ve ark.	1985	Laminin	Langon ve ark.	1995	Polifosfazin
Madison ve ark.	1985	PGA	Brown ve ark.	1996	PGA, jelatin+schwann hücre
Jeny ve Coggeshal	1985	Silikon mikropor	Ellis ve ark.	1996	Kollajen-glikozaminoglikan kopolimeri
Danielsen ve ark.	1986	L-tiroksin	Idc ve ark.	1998	bFGF
Williams ve ark.	1987	Fibrin matriks	Dubey ve ark.	1999	Magnetic alan
Bora ve ark.	1987	Polyester	Suzuki ve ark.	1999	Aljinat konduiti+PGA
Madison	1988	Kollajen	Fansa ve ark.	1999	Asellüler grasilis kası içine schwann hücre
Mackinnon ve Dellon	1988	Biyoreyebilen PGA tüp	Hadlock ve ark.	1999	Growth Promoting Substance
Danielsen ve ark.	1988	Nitrosellüloz	Aria ve ark.	2000	Sentetik longitudinal matriks
Merle ve ark.	1989	Silicon konduit	Li ve Cao's	2000	bFGF
Rich ve ark.	1989	NGF	Matsumoto ve ark.	2000	PGA+laminin
Rozen ve ark.	1990	Kollajen-PGA konduit	Hobson ve ark.	2000	Matrijel
Landborg ve Dahlin	1990	Silicon tüp	Zhang ve ark.	2001	Ven grefti içine schwann hücre
Hoppen ve ark.	1990	L-laktid-kaprolakton kopolimeri	Lee ve ark.	2003	NGF+heparin
Henz ve ark.	1991	PGA	Zhang ve ark.	2005	Kemik iliği stromal hücre
Ochi	1992	Izogeneik, allogeneik, denatüre aortik konduit	Wang ve ark.	2005	PGA-chitosan

2.2 Diyabetes Mellitus

2.2.1 Tanım

Diyabetes Mellitus (DM) glukoz toleransının bozulmasına yol açan bir çok etyolojik ve fizyopatolojik mekanizmalar sonucunda, insülin hormon sekresyonunun bozulması ve/veya mevcut insülinin etkisine gelişen direnç sonucu karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozukluklara yol açan kronik hiperglisemi ile karakterize bir grup metabolik hastalıktır (46).

2.2.2 Tarihçe

Tarihçesi çok eskilere uzanır. Milattan 1500 yıl önce Mısır Ebers Papiruslarında fazla idrar yapılan, idrar yoluyla şeker kaybedilen bir hastalık olarak tanımlanmıştır. Milattan 200 yıl sonra Kapadokya'lı Areteus hastalığa *Diabetes* ismini vermiştir. Areteus, özellikle çok su içme ve çok idrara çıkmayı vurgulayarak hastalığı erime hastalığı olarak izah etmeye çalışmıştır. Daha sonraki yıllarda Hippokrates, Galen, Bharadwajne Atreya adlı ünlü hekimlerin M.Ö 600 yıllarında derledikleri bir tıp kitabında *Madhume* denilen bir hastalık bugünkü diyabet tanımına çok uymaktadır. M.S. 960 yılında İbni Sina diyabeti tarifleyerek, çeşitli tedavi rejimleri belirtmiştir. 1674 yılında Thomas Willis adlı bir anatomist ilk kez diyabetik hastaların idrarının tatlı olduğunu göstermiştir. 18. yüzyılda William Cullen *Diabetes* kelimesinin yanına ballı anlamına gelen *mellitus*'u ekledi. 1815'te Chevrueil idrardaki bu şekerin glukoz olduğunu açıklamıştır. Fransız araştırmacı Claude Bernard (1813-1878), karaciğerde aşırı glikojenolizis sonucu ortaya çıkan aşırı glukozun idrara atıldığı ve aşırı glukozun diyabete neden olduğu hipotezini ortaya atmıştır. 1869 yılında Paul Langerhans, pankreas dokusunda daha sonradan kendi adı verilen adacık hücrelerini keşfetmiştir. Von Mering (1849-1908) ve Oscar Minkowski (1858-1931) tarafından pankreası çıkarılan bir köpekte diyabet geliştiği tespit edilmiştir.

1800'lü yılların sonunda cerrah olan Frederick Banting ile tıp öğrencisi olan Charles Best ilk kez terapötik olarak aktif insülini üretmişlerdir. 1926 ve

1957 yılları arasında çeşitli insülinler ve oral antidiyabetik ilaçlar geliştirilmiştir.

1959 yılında ilk kez insülin bağımlı tip 1 ve insülin bağımsız tip 2 kavramları kullanılmaya başlanmıştır. 1972'de Lilly saf insülini piyasaya sürmüştür. 1983 yılında ilk biyosentetik insan insülini bulunmuştur. 1990'da ilk ciddi adacık hücre transplantasyonu yapılmıştır. Son yıllardaki gelişmelerle de çok kısa etkili ve uzun etkili insülin analogları kullanımına başlanmıştır. Günümüzde ise rekombinant DNA teknolojisiyle tamamen sentez ürünü olan insan insülini üretilmektedir (47-52).

2.2.3 Epidemiyoloji

Diyabetes Mellitus akut metabolik komplikasyonlarının yanı sıra, uzun dönemde vasküler, renal, retinal ya da nöropatik bozukluklara yol açan, morbidite ve erken mortalite riski yüksek, yaygın bir hastalıktır. Özellikle yaşam tarzı büyük ölçüde değişikliğe uğramış ülkemiz gibi endüstrileşmekte ve gelişmekte olan ülkelerde diyabetin insidans ve prevalansı artmaktadır. Diyabetes Mellitus sık rastlanan bir hastalık olup, tüm toplum ve ırklarda görülebilmektedir. Sinsi seyirli olması nedeniyle kayıtların en iyi yapılabildiği ülkelerde bile gerçek prevalansı saptamak mümkün olamamaktadır. Prevalans bölgeler arasında farklılık göstermektedir. İleri yaşta ve kadınlarda daha sık görüldüğü bilinmektedir (53).

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, 2003 yılında tüm dünyada en az 191 milyon diyabet hastası (toplam dünya nüfusunun % 2,8'i) vardır ve 2030 yılında yaklaşık 330 milyon kişinin diyabet hastası olacağı tahmin edilmektedir (54, 55). Diyabet görülme sıklığının artması ile kentleşme eğilimi, hayat tarzı değişiklikleri, beslenme alışkanlığı değişimi, obezite arasında bir paralellik olduğu tespit edilmiştir.

Amerikan Diyabet Birliği (ADA) verilerine göre (26.01.2011), Amerika birleşik devletlerin'de diyabet prevalansı 25,8 milyondur (toplam nüfusun % 8,3 ü). Aynı verilere göre 79 milyon prediyabetik hasta bulunmaktadır ve yıllık yeni vaka sayısı 1,9 milyondur. 65 yaş üstünde 2011 yılı verilerine göre, 12,8 milyon (toplam nüfusun % 26,9'u) diyabet hastası olduğu tespit edilmiştir

(56). Diyabetin görülme sıklığı yaş ilerledikçe artmaktadır ve yaşlı nüfusun sayısının artmasına paralel olarak diyabetik hasta sayısının artacağı tahmin edilmektedir. Ülkemizde yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Araştırma Projesi (TURDEP 1) (1997) verilerine göre ülkemizin erişkin toplumunda diyabet % 7,2 sıklıktadır. TURDEP-2, 18 Ocak - 15 Haziran 2010 tarihleri arasında 15 kentte, 20 yaş üstü 16 bin 696'u kadın ve 9 bin 327'si erkek olmak üzere 26 bin 499 kişi incelenerek yapılmıştır. TURDEP-2 çalışması sonuçlarına göre diyabet prevalansının % 13.7, diyabetli sayısının 6.503.027 kişi, bilinen diyabetli sayısının (% 54.55) 3.547.401 kişi, yeni diyabetli sayısının (% 45.45) 2.955.626 kişi, prediyabetik nüfusun (% 28.7) 13.812.899 kişi olduğu görülmüştür (57). Ulusal Hastalık Yüğü çalışmasının mortalite verilerine göre diyabet, Türkiye'de ulusal düzeyde ölüme neden olan ilk 20 hastalığın irdelendiğı tabloda % 2,2 ile 8.sırada yer almaktadır (58).

2.2.4 Patogenezis

Diyabet insülin eksikliği ile sonuçlanan otoimmün pankreas beta hücre yıkımından, insülin etkisine direnç gelişimine neden olan anormalliklere kadar geniş bir çerçevede oluşmaktadır (46).

Hastalığın patogenezi klinik tiplere göre farklılık göstermektedir. Tip I DM'de pankreasın β hücrelerinde genetik ve immünolojik faktörler sonucu gelişen harabiyet vardır. Tip II DM'de insüline karşı periferik direnç, insülin sekresyonunda azalma ve aşırı hepatik glukoz üretimi mevcuttur. İnsülin direncinin nedeni periferdeki insülin fonksiyonun azalması ve hepatik glukoz üretiminin artmasıdır. Tüm bu olaylarda primer neden kesin bilinmemekle birlikte hastalığın çevresel ve genetik etkiler sonucu geliştiğı düşünülmektedir (59, 60).

2.2.5 Semptomlar (61)

Tanı anında olan bulgu ve belirtiler Tablo 2.4'te özetlenmiştir.

Tablo 2.4. Diyabet tanı anındaki temel semptomlar

Tanı anında temel semptomlar		
	Tip 1 Diyabet	Tip 2 Diyabet
Poliüri, susuzluk hissi	+2	+1
Güçsüzlük, yorgunluk	+2	+1
Polifaji ve kilo kaybı	+2	-
Geçici görme bulanıklığı	+1	+2
Vulvovajinit ve kaşıntı	+1	+2
Periferik nöropati	+1	+2
Enürezis noktürna	+2	-
Asemptomatik	-	+2

2.2.6 Sınıflama

2008 ADA kılavuzuna göre DM sınıflaması, aşağıdaki gibidir (62).

1. Tip 1 Diyabetes Mellitus: Beta hücre yıkımına bağlı mutlak insülin eksikliği.

A. İmmün nedenli (%90).

B. İdiopatik (%10).

2. Tip 2 Diyabetes Mellitus: Rölatif insülin eksikliği ile birlikte insülin direncinin baskın olduğu tipten insülin direnci ile beraber insülin salınım kusurunun baskın olduğu tip.

3. Gestasyonel Diyabetes Mellitus: Gebelik esnasında tanı konulmuş glukoz intoleransının her bir derecesi gestasyonel diyabet olarak tanımlanır.

4. Diğer Spesifik Tipler

A-Beta Hücre Fonksiyonunda Genetik Defektler;

1. Kromozom 20q, Hepatik Nükleer Faktör (HNF) - 4 Alfa (MODY 1)(% 3)

2. Kromozom 7p, Glukokinaz (MODY 2)→(%14)

3. Kromozom 12q, HNF-1 alfa (MODY 3)→En sık formu (% 69)

4. Kromozom 13, İnsülin Promotor Faktör – 1 (MODY 4)(<% 1)

5. Kromozom 17, HNF-1 Beta (MODY 5)(% 1)
 6. Kromozom 2 Neuro D1 / BETA 2 (MODY 6)(% 1)
 7. Mitokondrial DNA defekti
 8. Mutant insülinler
 9. Hiperproinsülinemi
 10. Diğerleri (Wolfram sendromu, MODYx (% 11))
- B. İnsülin Etkisinde Genetik Defektler;**
1. Tip-A insülin direnci
 2. Leprehaunizm
 3. Rabson-Mendenhall Sendromu
 4. Lipoatrofik diyabet
 5. Diğerleri
- C. Ekzokrin Pankreas Hastalıkları;**
1. Pankreatit
 2. Travma / Pankreatektomi
 3. Neoplazi
 4. Kistik Fibrozis
 5. Hemokromatozis
 6. Fibrokalkülöz pankreatopati
 7. Diğerleri
- D. Endokrinopatiler;**
1. Akromegali
 2. Cushing Sendromu
 3. Glukagonoma
 4. Hipertiroidizm
 5. Somatostatinoma
 6. Aldosteronoma
 7. Feokromasitoma
 8. Diğerleri
- E. İlaça ve Diğer Kimyasallara Bağlı;**
1. Vakar
 2. Pentamidin

3. Nikotinik Asit
 4. Glukokortikoidler
 5. Tiroid hormonu
 6. Diazoksid
 7. β - Adrenerjik agonistler
 8. Tiyazidler
 9. Dilantin
 10. α -interferon
 11. Proteaz inhibitörleri (İndinavir, Saquinavir, Ritanavir, Nelfinavir)
 12. Atipik antipsikotikler (Klozapin, Alanzapin, Ketiapine, Risperidon)
 13. Diğerleri
- F. Enfeksiyonlar;**
1. Konjenital Rubella
 2. Sitomegalovirüs
 3. Diğerleri (Coxsackie, Adeno virüs, Mumps virüs)
- G. İmmun Aracılıklı Diyabetin Nadir Formları;**
1. Stiff - Man Sendromu
 2. Anti - insülin reseptör antikorları
 3. Diğerleri
- H. Bazen Diyabetle İlişkili Olan Diğer Genetik Bozukluklar;**
1. Down sendromu
 2. Klinefelter sendromu
 3. Wolfram sendromu
 4. Friedrich ataksisi
 5. Huntington ataksisi
 6. Laurence - Moon-Biedl sendromu
 7. Myotonik distrofi
 8. Porfiri
 9. Prader Willi sendromu
 10. Diğerleri (Alström sendromu)

5. Prediyabet: Bozulmuş açlık glukoz seviyesi veya glukoz tolerans testi sonuçları olan bu hastalar ileride diyabet geliştirme riski fazla olduğu için sınıflamaya alınmıştır. Ancak diyabet için tanısal değildir. (Açlık kan şekeri 100 - 125, OGTT: 2. saat 140 - 199).

2.2.7 Tanı Kriterleri

Amerikan Diyabet Cemiyeti'nin diyabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozuklukları için, 2008 yılı revizyonunu da kapsayan yeni tanı kriterleri aşağıdaki gibidir;

1- Açlık kan şekerinin ≥ 126 mg/dl (≥ 7.0 mmol/l) ölçülmesi (Açlık, son 8 saattir kalorik gıda alınmaması olarak tariflenir) veya,

2- Günün herhangi bir saatinde son öğünden sonra geçen zamana bakılmaksızın, rastgele alınan venöz plazma örneğinde gliseminin ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/l) olması ve diyabetik semptomların oluşu (diyabetik semptomlar poliüri, polidipsi, kilo kaybı olarak; rastgele tabiri ise son öğünden sonra geçen herhangi bir zaman olarak tariflenmiştir) veya,

3- 75 gram OGTT sırasında 2. saat plazma glukoz değerinin ≥ 200 mg/dl olması (Test WHO 'nun tariflediği üzere su içerisinde çözünmüş 75 gr anhidroz glukoz ile yapılmalıdır).

Tip 1 Diabetes Mellitus

Tip 1 diyabet, insülin salınımının neredeyse hiç olmadığı, beta hücre yıkımı ile karakterize katabolik bir hastalıktır. Tüm diyabetlerin % 5 - 10'luk kısmını oluşturur (62).

A-İmmün Nedenli Tip 1 Diabetes Mellitus: Tip 1 diyabetin % 90'lık kısmını oluşturur. Pankreasın beta hücrelerinin otoimmün yıkımı ile oluşur.

LADA (Latent Autoimmune Diabetes of Adult): Klasik tip 1 diyabetin aksine beta hücre fonksiyonunun kısmen korunmasına bağlı olarak erişkin çağa kadar semptom vermeyen veya tip 2 diyabet olarak takip edilen, yavaş seyirli tip 1 diyabet formudur.

B- İdiopatik Tip 1 Diyabet: Bilinen bir etyoloji yoktur.

Tip 2 Diyabetes Mellitus

Tüm diyabetlerin % 90 - 95'ini oluşturur, toplumda en sık görülen diyabet tipidir. Gelişmiş ülkelerde toplumun % 5 - 10'nunda tip 2 diyabet vardır. Genellikle 30 yaşından sonra tanı konur, özellikle 45 yaş üstünde sıklığı artar (61).

Tip 2 diyabet insülin direnci ve rölatif insülin eksikliği olan bireyleri kapsar. Bu hastalar sıklıkla yaşamın devamı için insülin replasmanına ihtiyaç duymazlar. Obezite tek başına insülin direncine neden olabilmektedir. Hastaların % 85'i kilolu veya obezdir. Tip 2 diyabet hastalarında genellikle diyabetin makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonları birlikte bulunur (61).

Gestasyonel Diyabetes Mellitus

Gestasyonel diyabet, ilk kez hamilelikte tespit edilen glukoz intoleransının her türlü derecesi olarak tanımlanabilir.

2.2.8 Komplikasyonları

Diyabetes mellitus geç klinik belirtileri küçük ve büyük kan damarlarında, beyin ve periferik sinirlerde, deri ve gözde gelişen bir dizi patolojik değişimi içerir. Bu lezyonlar hipertansiyon, böbrek yetmezliği, retinopati, otonom ve periferik nöropati, alt ekstremité amputasyonu, miyokard infarktüsü ve serebrovasküler hastalığa yol açarlar. Bu geç bulguların gelişimi, diyabetin süresiyle ilişkilidir.

Diyabetin akut komplikasyonlarının sıklığı, tedavi olanaklarının gelişmesi ile beraber önemli ölçüde azalmıştır ve eskisi kadar önemli bir mortalite nedeni değildir.

Diyabetin Komplikasyonları;

A. Akut (metabolik) komplikasyonlar

1. Diyabetik ketoasidoz
2. Hiperosmolar non - ketotik koma
3. Hipoglisemi koması

B. Kronik (dejeneratif) komplikasyonlar

1. Makrovasküler komplikasyonlar

- a. Kardiyovasküler hastalıklar
- b. Serebrovasküler hastalıklar
- c. Periferik damar hastalıkları

2. Mikrovasküler komplikasyonlar

- a. Diyabetik nefropati
- b. Diyabetik retinopati
- c. Diyabetik nöropati

2.2.9 Diyabetik Nöropati

Diyabetik nöropati morbidite ve mortalitesi yüksek olan, yaşam kalitesini bozan ciddi bir komplikasyondur. Yapılan çalışmalarda prevalansı % 10 ile 90 arasında değişmektedir (63). DM'de nöropati prevalansını % 5 ile % 60 arasında bildiren çalışmalar da vardır (64). Nöropati bulgu ve semptomları olmaksızın sinir ileti anomalikleri katıldığında bu oran % 100'e çıkmaktadır (65).

Diyabetik nöropati duyu, motor, otonomik sinirleri proksimal veya distalde etkileyebilmektedir. Bunların sonucunda güçsüzlük, ataksi, vibrasyon ve pozisyon duyusunda azalma (kalın liflerin etkilenmesi sonucu); disestezi, hiperestezi, ısı duyusunda azalma, otonom fonksiyon bozuklukları (ince liflerin etkilenmesiyle) gözlenmektedir (61).

Yıllık insidans, diyabetin bilinen süresi ile ilgilidir ve plato yapmaya eğilim göstermez. En sık görülen nöropati formu distal duysal ve otonomik polinöropatidir. Mononöropatilerden ise en sık olan karpal tünel sendromu (KTS) görülür (65). 20 yıldan uzun süreli diyabetiklerde ve diyabet kontrolü kötü olan hastalarda risk iki kat artmaktadır. Tip 1 DM'de semptomatik polinöropati prevalansı % 15, Tip 2 DM'de % 13 olarak bulunmuştur (66).

Nöropati gelişiminde glisemik kontrolün önemi tartışmasızdır. Sıkı glisemik kontrol ile 5 yıllık takipte nöropati gelişme riski yaklaşık % 64 oranında azalmaktadır (67). HbA1c değerinin her % 1'lik artışında nöropati gelişme riskinin yaklaşık % 10-15 oranında arttığı bilinmektedir (68).

PDN gelişmesi diyabet süresi ile ilişkilidir. 5 yıldan daha kısa süreli diyabetli hastaların % 21'inde nöropati gelişirken, 10 yıldan daha uzun süreli diyabetli hastaların % 37'sinde nöropati gelişmektedir (69). Nöropati gelişimi yaş ile artmaktadır. 20 - 29 yaş grubunda % 5, 70 - 79 yaş grubunda % 44 oranında nöropati gelişmektedir. Sigara ve alkol kullanımı nöropati riskini arttırmaktadır (63).

2.2.9.2 Patogenezis

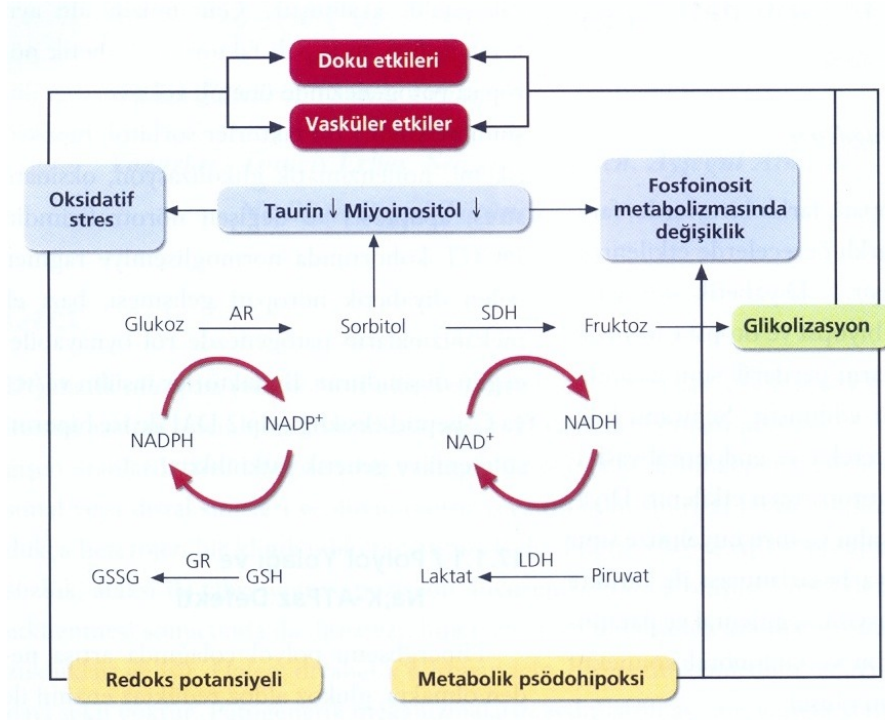
Diyabetik nöropati, farklı kimselerde, değişik sinir liflerinin, değişik derecelerde etkilenmesi sonucu gelişir. Diyabetik nöropatili hastalarda yapılan histopatolojik çalışmalarda asıl lezyonların periferik sinir aksonlarında olduğu gözlenmiştir. Ayrıca *Schwann* hücreleri, perinöral hücreler ve endonöral vasküler yapılar da nöropatiden etkilenirler. Kalın ve ince miyelinli sinir liflerinin kaybı ve hasar görmesiyle birlikte; *Wallerian* dejenerasyon, segmental ve paranodal demiyelinizasyon ve endonöral bağ dokusu proliferasyonu oluşur (70-72).

Tip I diyabette ileri derecede aksonal atrofi, yaygın lif kaybı, nodal ve paranodal değişiklikler oluşur. Tip II diyabetteki yapısal değişiklikler daha hafiftir; hafif aksonal atrofi, lokal lif kaybı, segmental demiyelinizasyon ve *Wallerian* dejenerasyon gözlenir. Tip I diyabette primer aksonal değişiklikler, tip II diyabette ise primer *Schwann* hücre patolojisi daha belirgindir (72).

Hipergliseminin derecesi ve süresi ile diyabetik nöropati gelişmesi arasında yakın bir ilişki mevcuttur. Ciddi metabolik kontrol ile nöropati oluşumu geciktirilebilir veya önlenabilir. Yapılan bir çalışmada yoğun diyabet tedavisinden 5 yıl sonra tip I diyabetlilerde klinik DN gelişmesi primer önleme grubunda % 69, sekonder girişim grubunda ise % 57 olarak azaldığı gözlenmiştir (67). Birbiri ile ilişkili altı ayrı faktörün DN patogenezinde önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Bunlar sorbitol, hipoksi - iskemi, nonenzimatik glikozilasyon, oksidatif stres, apoptozis ve değişen nörotrofizmdir (61).

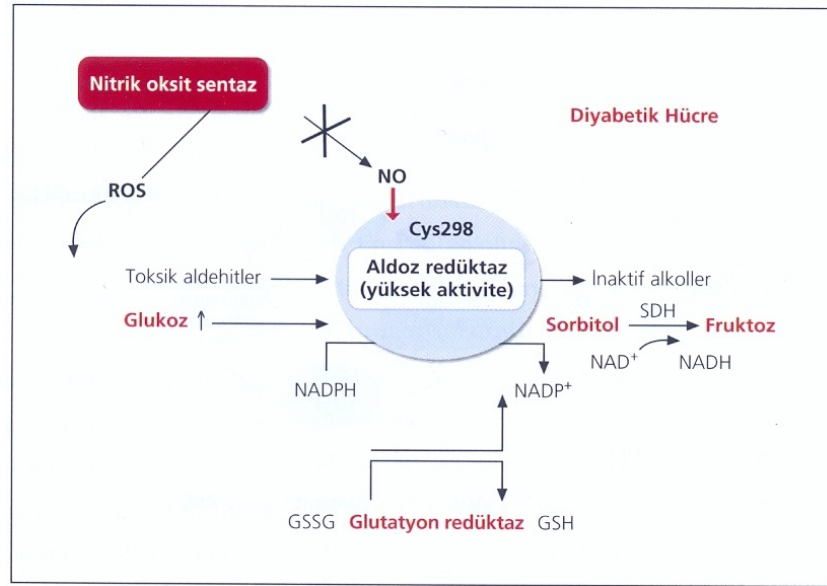
Polyol yolağı ve Na,K-ATPaz Defekti

Hiperglisemi polyol yolağında artışa neden olur. Glukoz aldoz redüktaz enzimi ile sorbitole, sonra sorbitol dehidrojenaz enzimi ile fruktoza dönüşür. Sorbitol organik osmolittir ve birikimi diğer osmolitlerin (*myoinotizol* ve *taurin*) azalmasına neden olur. *Taurin* sinir rejenerasyonunda antioksidan olarak rol oynamaktadır. *Myoinotizol* azalması ile *fosfoinosid* metabolizmasında değişiklik olur ve sinir Na,K-ATPaz aktivitesinin azalmasına neden olur. Na,K-ATPaz aktivitesindeki azalma akson içi sodyum artışına ve sonuç olarak sinir iletiminin bozulmasına neden olur (Şekil 2.10)(73).



Şekil 2.10. Diyabetik nöropati patogenezi

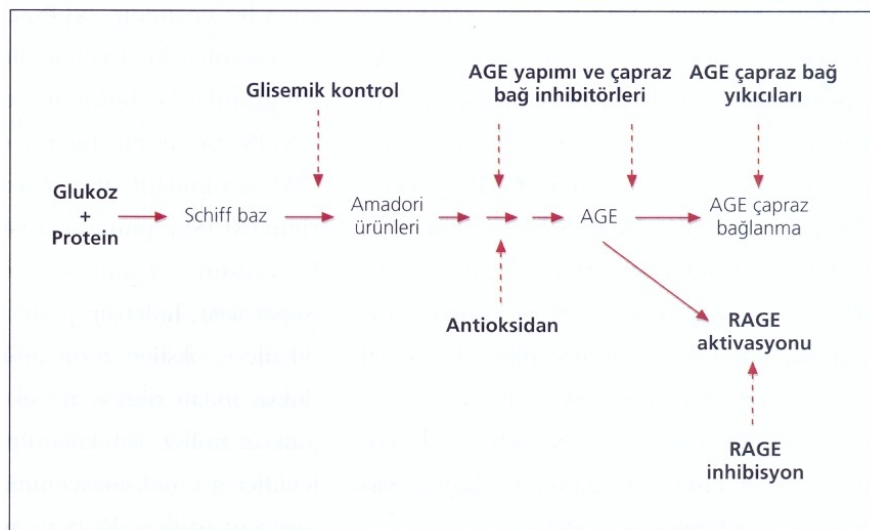
Hiperglisemi ile aktive olan polyol yolağı oksidatif stresin artmasına neden olur. NADPH sadece aldoz redüktazın değil aynı zamanda, glutatyon siklusunun ve nitrik oksit sentazın kofaktörüdür. Hiperglisemi nedeni ile polyol yolağının aktive olması sonucunda NADPH azalır. Polyol yolağının ikinci basamağında sorbitol fruktoza okside olur ve sonuçta NADH/NAD ve laktat/pirüvat oranı artar. Buna psödohipoksi denilir ve nöropati gelişimini etkiler (Şekil 2.11)(61, 74).



Şekil 2.11. Diyabetik hücrelerde aldoz redüktaz aktivitesi

Nonenzimatik Glikozilasyon

Glikozilasyonda monosakkaritler, proteinlerin veya diğer hücrel moleküllerin serbest amino grupları ile *schiff* baz, ketamin veya amadori ürünleri olarak adlandırılan geri dönüşümlü ürünler oluşturur. İlerleyen dönemde kimyasal düzenleme, dehidrasyon, parçalanma, çapraz bağlanma oluşur ve sonuçta geri dönüşsüz ileri glikozilasyon son ürünleri (AGE) oluşur (Şekil 2.12)(61, 75).



Şekil 2.12. Diyabetik nöropatide glikolizasyon

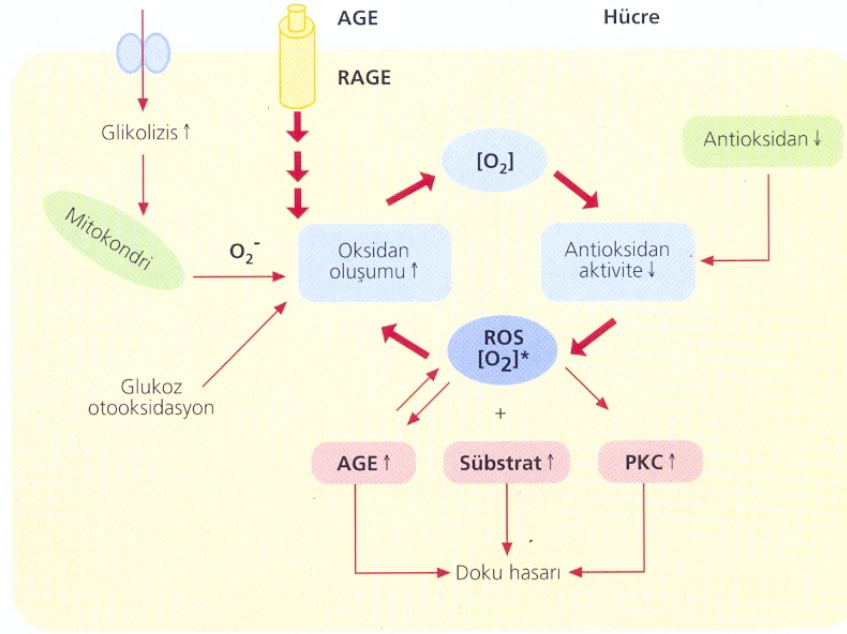
Miyelin protein ve proteolipid gibi periferik sinirin özel birimlerinde AGE birikimi oluşur. AGE ile birleşen miyelin proteinleri segmental demiyelinizasyona neden olur. Makrofajlardaki AGE reseptörleri (RAGE) tarafından AGE'lerin tanımlanması miyelin kırılması ve fagositoza yol açar.

Aksonal hücre iskeletsel proteinlerinin (tübülin, nöroflaman, aktin) glikozile olması sonucunda aksonal yapı değişir, transport yavaşlar, atrofi ve dejenerasyon oluşur.

Glikozilasyon oksidatif stresi artırır, çünkü koruyucu enzimleri inaktive eder (Cu-Zn süperoksit dismutaz). AGE'nin makrofajlardaki RAGE'lere bağlanması glutatyon ve C vitamini eksikliğine neden olarak oksidatif stres oluşturur (76).

Oksidatif Stres

Nitrik Oksit (NO) vazodilatasyon, makrofaj sitotoksitesi, nörotransmisyon oluşturur ve oksidatif strese çok hassastır. Nitrik oksit sentaz (NOS); L-arjinin strüline ve NO'e dönüşümünü katalize eden bir enzimdir. NOS, endotel hücrelerinde, vasküler düz kas hücrelerinde ve sempatik ganglionda bulunur. Diyabette oksidatif stres reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) artışı ve ROS yıkım kabiliyetinin azalması sonucu artar. Süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri oksijen molekülünün kimyasal reaksiyonundan oluşan toksik ürünlerdir. ROS; glukoz, tioller, katekolamin gibi hücresel moleküllerin otooksidasyonunu sağlar. Poliansatüre yağ asitleri, ROS ile peroksidasyona çok hassastır ve bu reaksiyondan otokatalitik zincir reaksiyonlarını başlatır. ROS peroksidasyonunun diğer hedefleri, protein ve DNA'dır (Şekil 2.13)(77).



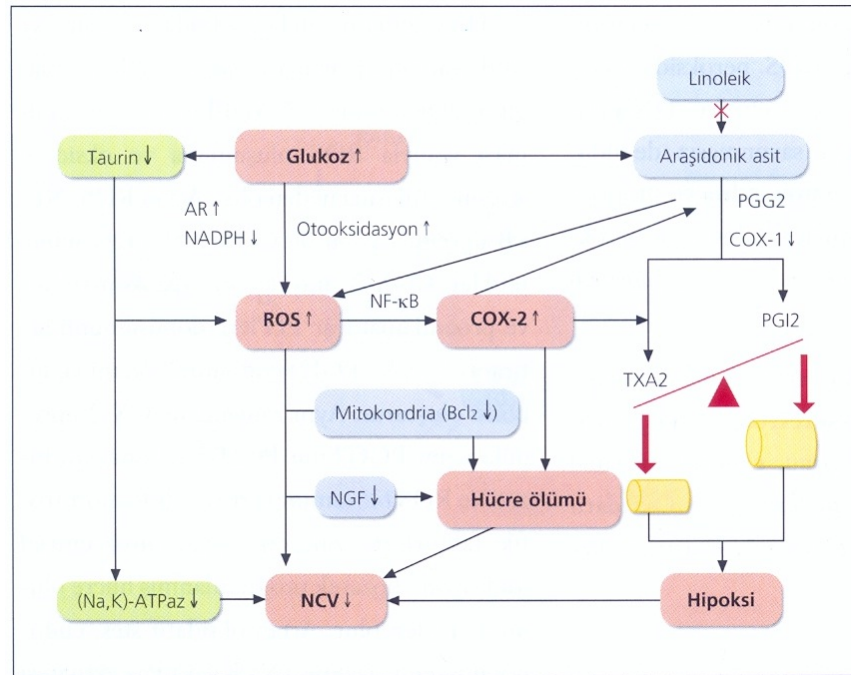
Şekil 2.13. Diyabetik hücrede oksidatif stres

COX Yolağı ve Diyabetik Nöropati

Siklooksijenaz (COX) aktivitesindeki değişiklikler ve prostanoid metabolizmasındaki bozukluklar nörovasküler düzeyde diyabetik nöropati patogenezinde rol oynar. COX-1; vasküler endotelinde içinde olduğu çeşitli doku ve hücreler tarafından eksprese edilir, COX-2 ise proenflamatuvar uyarılarla (sitokin, büyüme faktörleri ve oksidatif stres) oluşur. Oksidatif stres ile prostoglandin (PG) sentezindeki değişiklikler arasındaki ilişkide transkripsiyon faktörü NF-kB rol alır. Ayrıca hipoksi COX-2 ekspresyonuna yol açar, bu nedenle oksidatif stresin COX yolağı üzerindeki etkisi farklı yollarla olabilir. COX-2 yolağındaki değişiklikler programlanmış hücre ölümüne neden olur.

Hiperglisemi; glukoz oksidasyonunun ve AGE yapımının artması, aldoz redüktaz yolağının aktive olması, NADPH ve *taurin* azalması yoluyla ROS oluşumuna ve oksidatif stresin artmasına neden olur. Artan ROS, NF-kB upregülasyonu ile COX-2 ekspresyonunu tetikler. COX-2, araşidonatın vazokonstriktör ve proenflamatuvar PG'lere dönüşümünü artırarak (TXA2/PGI2) endonöral iskemi ve hipoksi oluşturur. Aynı zamanda COX-2

upregülasyonu prostoglandin G2'nin prostoglandin H2'ye dönüşüm hızını ve ROS oluşumunu artırır. ROS, nörotrofik faktörleri azaltarak veya mitokondrial fonksiyonu bozarak programlanmış hücre ölümüne neden olur. Artan oksidatif stres, endonöral iskemi, azalmış Na,K-ATPaz aktivitesi ve programlanmış hücre ölümüne sinir iletiminde azalmaya neden olur (Şekil 2.14)(61).



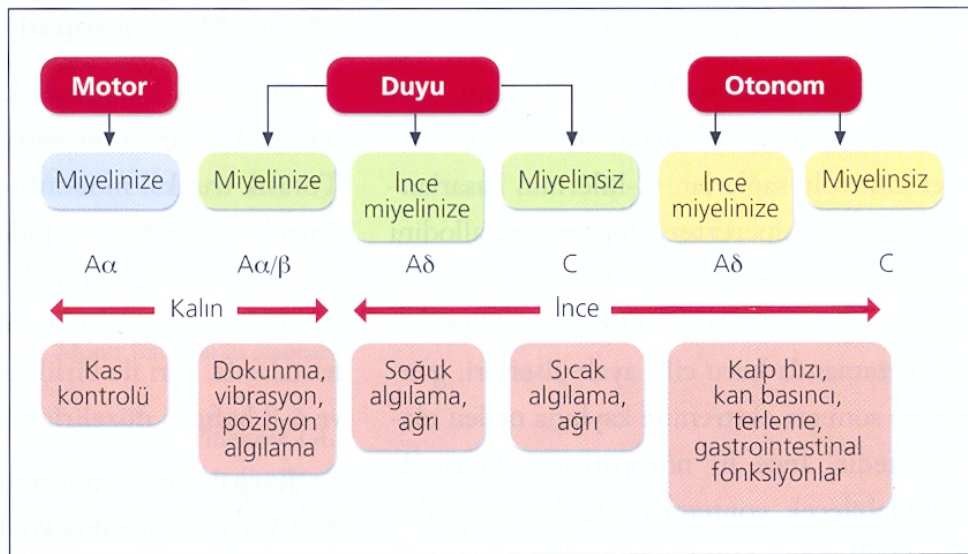
Şekil 2.14. COX yolağı ve diyabetik nöropati

Nörotrofik Faktörlerin Rolü

Diyabetik nöropatinin gelişiminde nörotrofik faktörlerin sentez ve fonksiyonlarındaki değişiklikler rol oynar. Nörotrofinler aksonların hedef hücreleri tarafından sentez edilir ve çeşitli proteinlerin ekspresyonunu düzenler. Sinir büyüme faktörü (NGF), nörotrofin-3 (NT-3), nörotrofin-4/5 (N-4/5) ve beyin kaynaklı büyüme faktörü (BDNF) diyabetik nöropati patogeneğinde rol alır. Nörotrofik faktörlerin eksikliği diyabetik nöropatideki aksonal atrofide önem taşır. Diyabetik sıçanlarda NT-3 tedavisinden sonra duyu sinir iletim hızında (NCV) düzelme olmuştur (78).

2.2.9.2 Diyabetik Nöropati Kliniği

Diyabetik nöropati proksimal veya distal sinirleri duyu, motor veya otonom sinirleri farklı şekillerde etkileyerek oldukça heterojen bir klinik tablo oluşturur. Kalın liflerin ($A\alpha$ ve $A\beta$) etkilenmesi sonucunda güçsüzlük, ataksi ile vibrasyon ve pozisyon duygusunda azalma oluşur. İnce liflerin (C - lifleri $A\delta$) etkilenmesi sonucunda da disestezi, hiperestezi, ısı duygusunda azalma ve otonom fonksiyon bozuklukları gelişir (70). Aynı hastada kalın ve ince liflerin farklı sinirlerde, farklı derecelerde etkilenebildiği bilinmektedir (Şekil 2.15).



Şekil 2.15. Diyabetik nöropati sınıflandırması

Sınıflama

Diyabetik nöropatinin tanımından beri çeşitli sınıflamalar öne sürülmüştür. En kabul gören ve pratik sınıflama Thomas tarafından ileri sürülen, nöropatilerin; simetrik polinöropati, fokal ve multipl fokal nöropatiler olarak ayrılmasıdır (79).

1- Kronik progresif distal simetrik polinöropati

- A. Miks sensorial otonomik motor polinöropati
- B. Miks polinöropati varyantları

- 1-Otonomik polinöropati
- 2-Küçük lif tipi (ağrılı) dyusal polinöropati
- 3-Büyük lif tipi (ataksik) duyusal polinöropati
- 4-Demiyelinizasyonun hakim olduğu polinöropati

C. Aseptomatik polinöropati

2- Akut aksonal polinöropati

A. Ağrı, kilo kaybı, kötü kontrol (kaşektik nöropati)

B. Ağrı, kilo kaybı, başarılı kontrol (insülin nöriti)

3- Proksimal motor nöropati (Amiyotrofi)

4- Mononöropatiler, radikülopatiler ve poliradikülopatiler

A. Kranial nöropatiler

B. Multisegmental trunkal radikülopati

C. Ekstremitte mononöropatileri

5- Fokal kompresyon mononöropatileri

Subklinik diyabetik nöropati

1. Anormal elektrodiagnostik testler
2. Anormal kantitatif duyu testi
3. Anormal otonomik fonksiyon testleri

Distal Duyusal ve Sensorimotor Polinöropati

Diyabet olgularında en sık ortaya çıkan sinsi başlangıçlı nöropati formudur. En erken duyu etkilenmesi ayak baş parmağında ortaya çıkar ve yukarı ilerler. Üst ekstremiteler daha nadir etkilenir. Daha ciddi olgularda abdomenin anterior orta hattı etkilenir, daha sonra duyusal kayıp gövdeye ve laterale yayılır. Sırtın korunduğu saptanmazsa myelopati ile karışabilir. Semptomu olmayan hastalarda bile aşıl refleksi kaybı ve vibrasyon duyusunda azalma vardır. Distal duyusal ve sensorimotor polinöropati geniş

lif ve küçük lif tipi olarak ikiye ayrılır. Sıklıkla bu iki form birlikte olsa da selektif lif tutulumu olabilir (80).

Kalın Lif Nöropatisi

Kalın lif nöropatisi vibrasyon ve pozisyon duyusunda azalma, kas güçsüzlüğü, tendon reflekslerinde azalma ve ataksi ile seyreder. Ağrı, ince lif nöropatisine göre daha derinde ve şiddetli olabilir (81). Ayakta kan akımında artma oluşur ve ayak sıcaktır. Kalın lif nöropatisi ile ilgili olarak ileri dönemde *Charcot* artropatisi gelişir (Tablo 2.5). Vibrasyon duyusundaki azalma ayak ülseri için risk olarak kabul edilmektedir. Sinirlerdeki motor ve duyu iletim bozuklukları EMG ile tanımlanabilir (82).

Tablo 2.5. Diyabetik nöropatide klinik bulgular

Kalın Lif Nöropatisi (A alfa lif)	İnce Lif Nöropatisi (C lif)
Derin ağrı	Yüzeyel ağrı ve yanma
Vibrasyon ve pozisyon duyularında bozulma	Erken dönemde hiperestezi ve hiperaljezi
Tendon reflekslerinde azalma	İleri dönemde hipoaljezi
Ataksi	Sıcak hissi ve ağrı duyusunda azalma
Kan akımında artma ve sıcak ayak	Terlemede azalma
<i>Charcot</i> artropatisi	Ayak ülseri, gangren ve amputasyon riskinde artış
Aşıl tendonunda kısılma	Normal refleks ve EMG
	Bozuk QST ve cilt biyopsisi

İnce Lif Nöropatisi

İnce lifler sıcak - soğuk ısı duyusunu, ağrı duyusunu ve otonom lifler ile terleme ve vasküler kontrolü sağlarlar. C - liflerinin hasarlanması ile ağrı, hiperestezi, hiperaljezi, allodini ve his kaybı oluşmaktadır (83, 84). Cilt kan akımının kontrolünde etkili olan C - liflerinin etkilenmesi aynı zamanda kuru cilt, ayak ülserleri, gangren ve sonuçta ekstremitte kaybına neden

olabilmektedir. İnce lif nöropatisinin tanısında kullanılabilecek yöntemler oldukça sınırlıdır.

İnce lif nöropatisini değerlendirmek için kullanılan yeni bir yöntem ise cilt biyopsilerinde ince lif dansitesinin kantitatif olarak incelenmesidir. *Punch* biyopsi ile alınan cilt örnekleri immünohistokimyasal olarak ince lifler için spesifik olan substans P, PGP 9.5 ve CGRP boyanarak değerlendirilir. Diyabetik nöropatili hastaların cilt biyopsilerinde PGP 9.5 ve diğer nöropeptitlerin belirgin derecede azaldığı gösterilmiştir (61).

Proksimal Simetrik Motor Nöropati

Kalça ve uyluğu etkileyen rölatif olarak simetrik, kuvvetsizlik ve ağrı vardır. Patella refleksi kayıptır. Gliseminin iyi bir kontrolü ile iyileşme sağlanabilir. Olguların yarısında unilateral başlangıç olur, diğer taraf yaklaşık 8 hafta sonra kuvvetsiz ve ağrılı olur. 'Asimetrik tutulumlar mononöritis multipleks mi, yoksa daha sonra simetrik forma dönüşüm mü olmaktadır?' sorusu, halen cevap bulamamıştır (79).

Distal Motor Nöropati

Hafif distal kas güçsüzlüğü ile atrofi diyabetik duyusal polinöropatiye eşlik edebilir. Progresif motor güçsüzlük bilateral düşük ayağa neden olabilir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanı Etik Kurul onayı alındıktan sonra Eylül 2010-Nisan 2011 tarihleri arasında, her biri 330 ile 400 gr ağırlığında 40 adet erişkin *Sprague-Dawley* cinsi sıçan üzerinde, Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yapıldı. Çalışmanın yapıldığı laboratuvar ortamının ısısı sürekli 24 ± 2 °C'de tutuldu ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortam sağlandı. Sıçanlar standart pellet yem ile beslendiler. Kafeslerde istedikleri anda içebilecekleri su bulunduruldu. Her kafeste toplam 2 sıçan olacak şekilde kafeslere yerleştirildiler (Şekil 3.1). Cerrahi teknik ile elde edilen sinir dokuları ışık mikroskopisi ve elektron mikroskopisi ile incelendi. Ayrıca sıçanlara cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 2 haftalık aralıklar ile yürüme yolu analizi yapıldı. Çalışma sonucunda elde edilen tüm bilgiler istatistiksel analizden geçirildi.



Şekil 3.1. Sıçanların gruplara ayrılmış laboratuvardaki görüntüsü

3.1. Çalışma Grupları

Toplam 40 adet sıçan rastgele her biri 10 hayvandan oluşan 4 gruba ayrıldı (Tablo 3.1). 1. grup sağlıklı kontrol; 2. grup sağlıklı perinörotomi; 3. grup diyabetik kontrol; 4. grup diyabetik perinörotomi grubu olarak belirlendi.

Tablo 3.1. Çalışma Grupları ve Denek Sayısı

Çalışma Grupları	Denek Sayısı
Grup 1: Sağlıklı kontrol	n:10
Grup 2: Sağlıklı perinörotomi	n:10
Grup 3: Diyabetik kontrol	n:10
Grup 4: Diyabetik perinörotomi	n:10

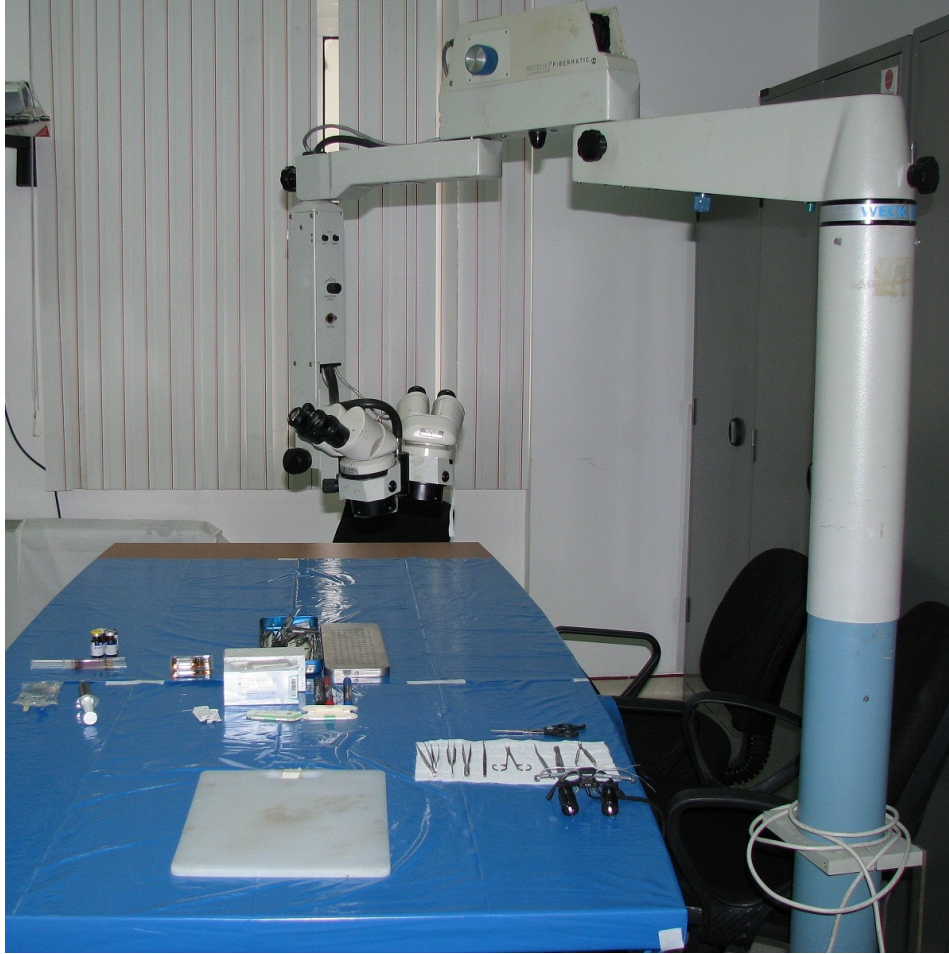
3. ve 4. Gruptaki sıçanları diyabetik hale getirmek için streptozotosin (Sigma Chemicals, St. Louis, Mo.) uygulandı.

3.2. Streptozotosin Uygulaması

3. ve 4. gruptaki sıçanlar saat 16.00 dan itibaren aç bırakıldı ve ertesi gün saat 08:00'da intraperitoneal streptozotosin uygulaması yapıldı. Diyabet oluşumunu sağlamak için, streptozotosin pH 4.5 te sitrat tamponda çözülerek 45 mg/kg dozunda uygulandı (85). Uygulamadan 30 dk sonra sıçanlara yem verildi. Enjeksiyon sonrası 4. günde glukometre (EZ Smart 608 Blood Glucose Meter; Tyson Bioreserch Inc. Taiwan) ile plazma glukoz seviyeleri ölçüldü. Plazma glukoz seviyesi 288 mg/dl (16 mmol/l) üzeri olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi (86). Bir sıçanda 3. gün plazma glukoz değeri 245 mg/dl olarak ölçüldü. Ölçüm 7. gün tekrar edildi ve 340 mg/dl olarak bulundu. Enjeksiyon sonrası aylık olarak plazma glukoz seviyeleri ölçüldü. Ayrıca polidipsi, poliüri, kıllarda dökülme, kilo kaybı ve katarakt oluşumu gibi diyabetin klinik belirtileri tüm sıçanlarda değişik derecelerde gözlemlendi. Diyabetik sıçanlara streptozotosin uygulamasından 8 hafta sonra cerrahi işlemler uygulandı (86 - 88, 119).

3.3. Cerrahi İşlem

Tüm cerrahi girişimler; intraperitoneal 40 mg/kg dozunda Ketamin HCl (Ketalar Flakon % 2 Flakon®, Pfizer) ve 10 mg/kg dozunda Ksilazin (Rompun, Bayer) anestezisi altında, steril mikrocerrahi teknik kullanılarak, sadece deneklerin sağ uyluklarında, aynı cerrah tarafından Weck (J-K Hoppl Cooperation, U.S.A.) marka ameliyat mikroskobu yardımıyla gerçekleştirildi (Şekil 3.2).

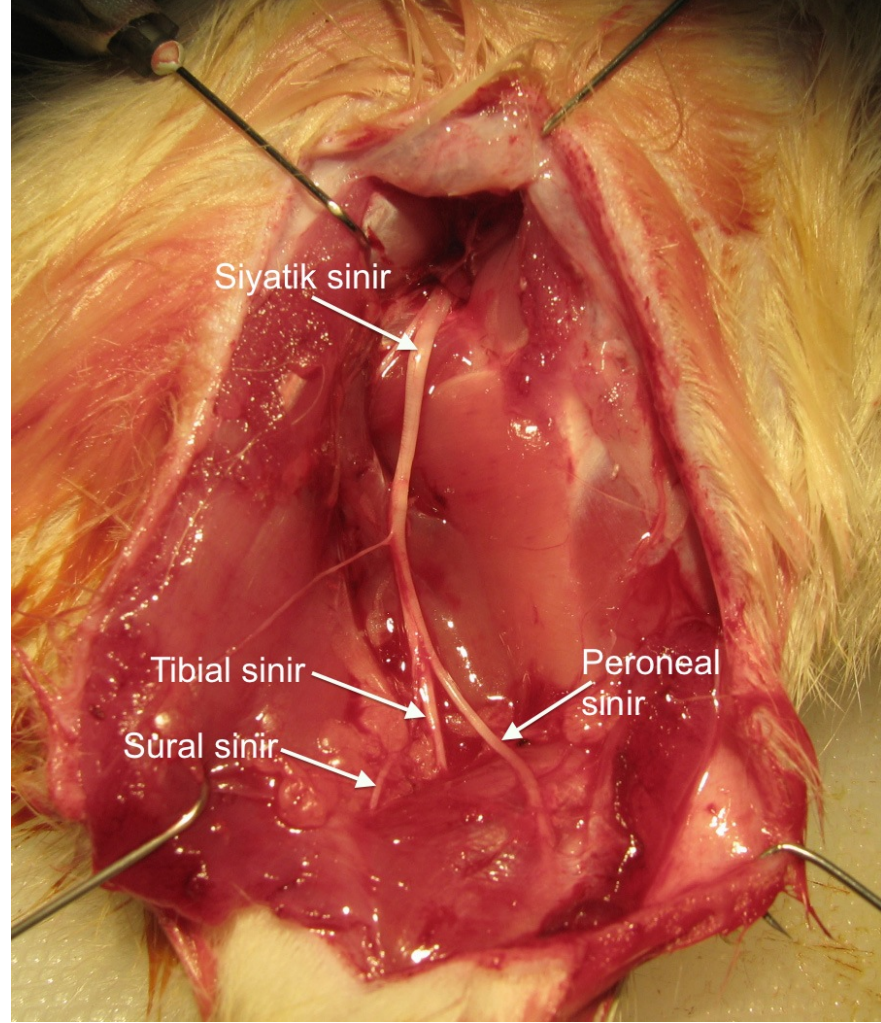


Şekil 3.2. Cerrahi işlemlerde kullanılan ameliyat mikroskobu

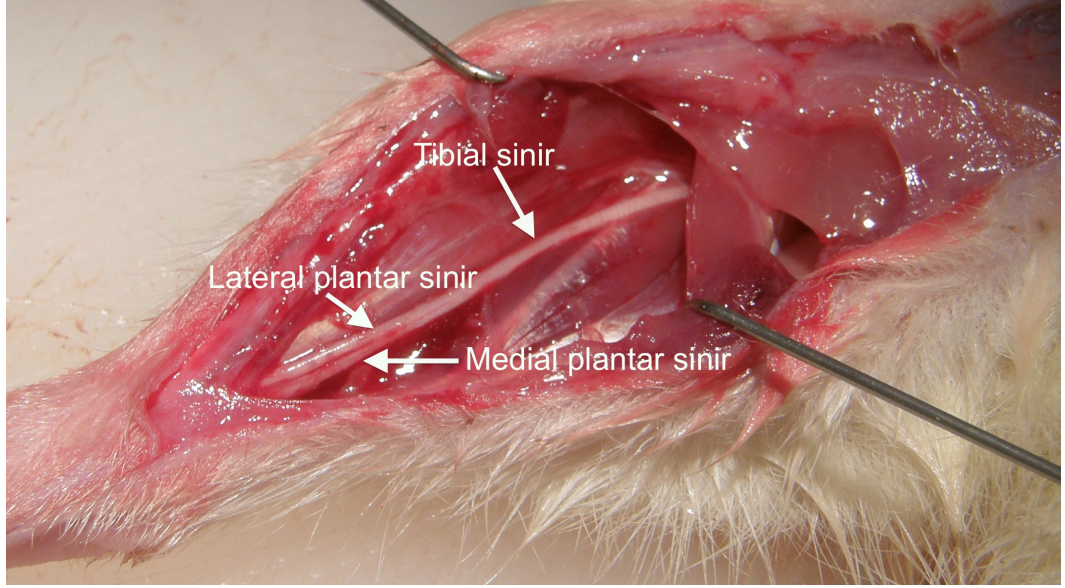
Grup I (Sağlıklı Kontrol) :

Sağ tarafta iodine solüsyonu ile cilt temizliğini takiben cilt, cilt - altı ve gluteal kaslar insize edildikten sonra, siyatik sinir ve dallarına ulaşıldı (Şekil 3.3). Siyatik sinirin dallarına ayrıldığı noktanın 1 cm proksimalinden kesilerek 10/0 Ethilon (Ethicon, Jonhson&Johnson Jntl, Belgium) ile epinöral olarak

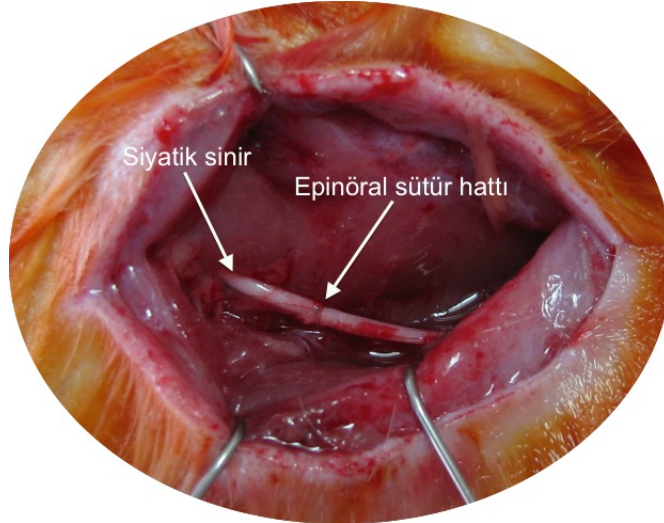
onarım yapıldı. İnsize edilen gluteal kaslara 3 adet 4/0 ipek (Doğsan Tıbbi Malzeme Sanayi A.Ş., Trabzon, Türkiye) suture konuldu, cilt 3/0 ipek (Doğsan Tıbbi Malzeme Sanayi A.Ş., Trabzon, Türkiye) ile suture edildi (Şekil 3.5).



Şekil 3.3. Siyatik sinir ve dalları



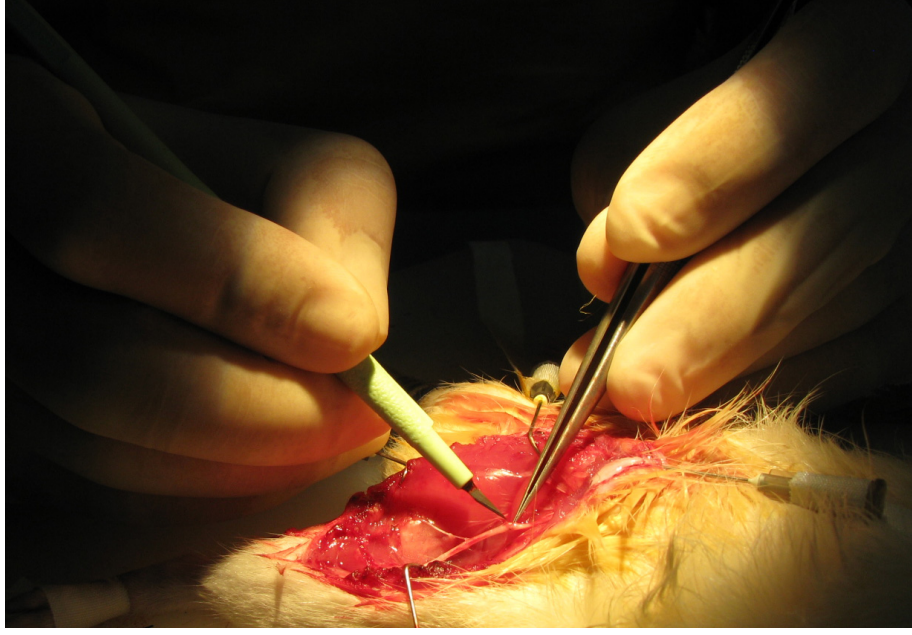
Şekil 3.4. Tibial sinir ve dalları



Şekil 3.5. Siyatik sinirin epinöral olarak sütüre edilmiş hali

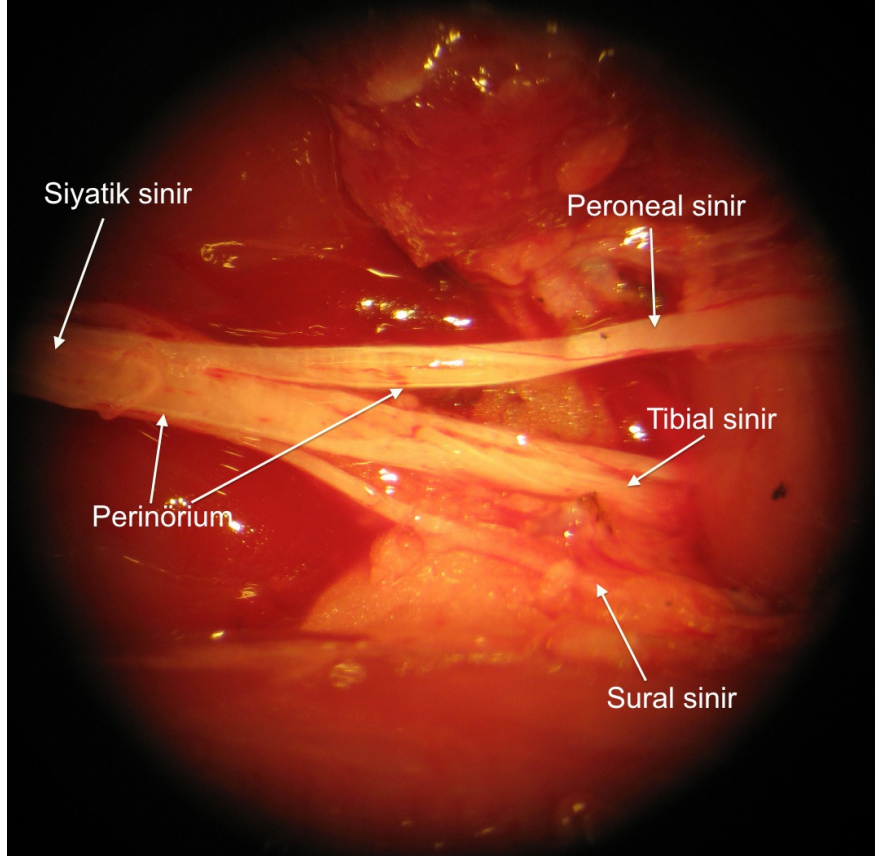
Grup II (Sağlıklı Perinörotomi) :

Sağ tarafta iodine solüsyonu ile cilt temizliğini takiben cilt, cilt - altı ve gluteal kaslar insize edildikten sonra, siyatik sinir ve dallarına ulaşıldı. Siyatik sinirin dallarına ayrıldığı noktanın 1 cm proksimalinden kesilerek 10/0 Ethilon ile epinöral olarak onarım yapıldı.  ıkı  yerinden itibaren siyatik sinire ve dallarına (tibial, peroneal ve sural sinirler) oftalmik bistüri ile (Alcon, U.S.A.) perinörotomi



Şekil 3.6. Perinörotomi uygulaması

işlemi uygulandı (Şekil 3.6, Şekil 3.7, Şekil 3.8). İnsize edilen gluteal kaslara 3 adet 4/0 ipek suture konuldu, cilt 3/0 ipek ile suture edildi. Takiben sıçan supine pozisyona çevrildi ve sağ bacak medial alt 1/3 ünde yapılan insizyon ve diseksiyon ile gastrocnemius kası altında tibial sinir ortaya konuldu (Şekil 3.4). Kesi proksimale uzatıldı, künt ve keskin diseksiyonlar ile tibial sinire posterior yaklaşımda yapılan perinörotomi hattına ulaşıldı. Ayak bileği seviyesinde tarsal tünel üzerindeki ligament kesilerek açıldı, medial ve lateral plantar sinirler ortaya konuldu (Şekil 3.4). Tibial sinirdeki perinörotomi hattından başlanarak distalde medial ve lateral plantar sinirlere kadar perinörotomi uygulandı. Cilt 3/0 ipek ile suture edildi (Şekil 3.9).



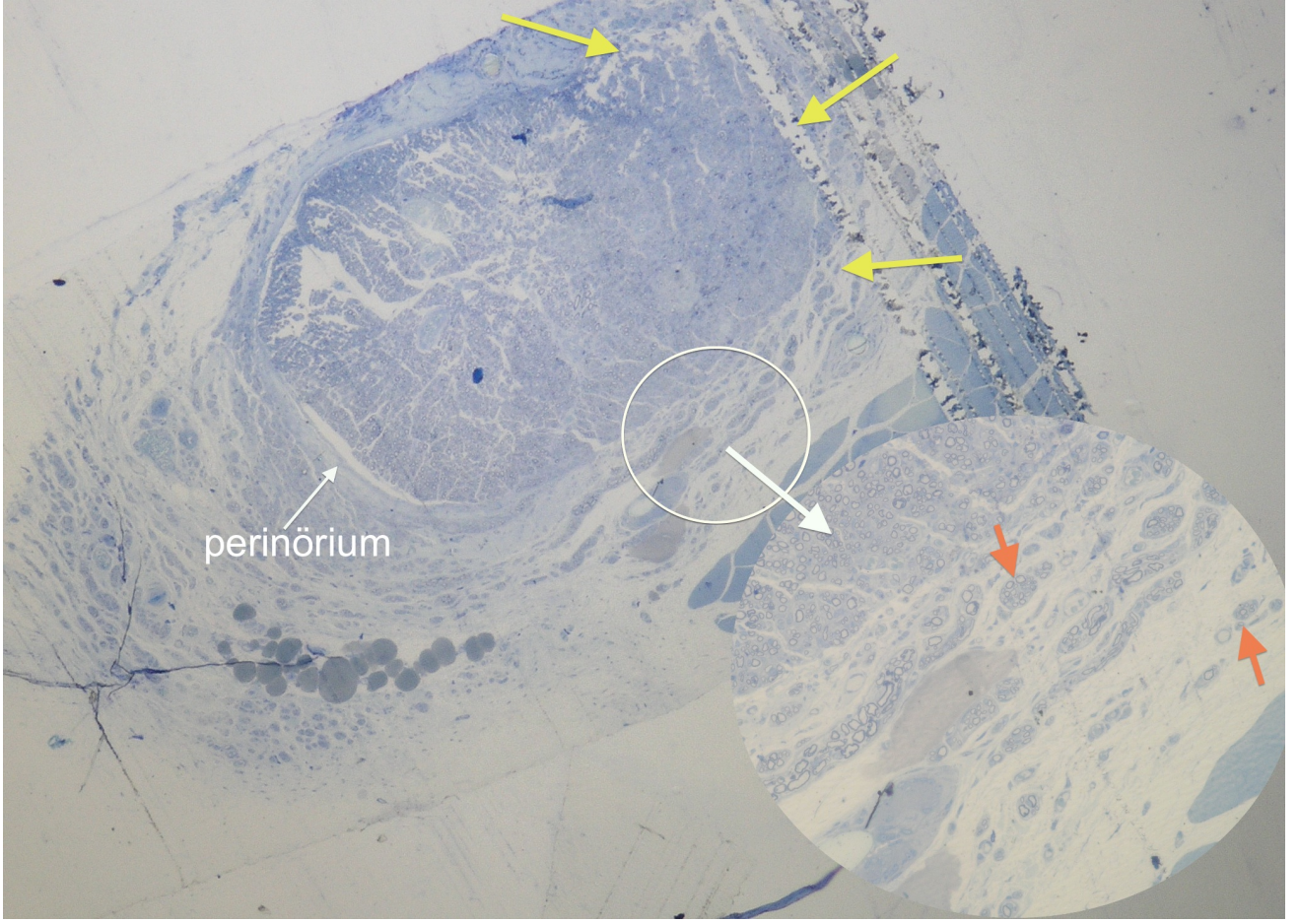
Şekil 3.7. Siyatik sinir ve dallarına perinörötomî uygulanmış hali

Diyabetik Kontrol :

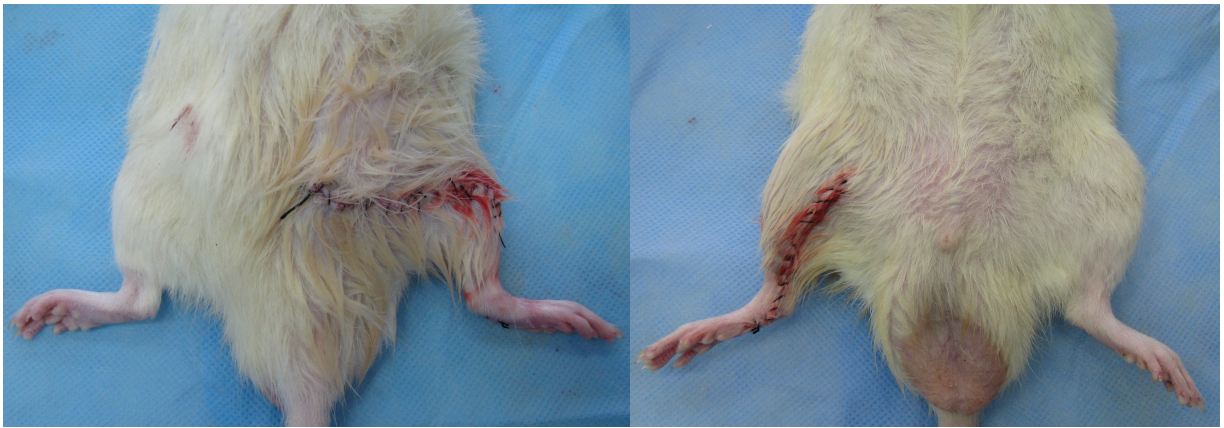
Streptozotosin ile diyabetik hale getirilen sıçanlara postoperatif 8. haftada, sağlıklı kontrol grubu ile aynı işlemler uygulandı.

Diyabetik Perinörötomî :

Streptozotosin ile diyabetik hale getirilen sıçanlara postoperatif 8. haftada, sağlıklı perinörötomî grubu ile aynı işlemler uygulandı.



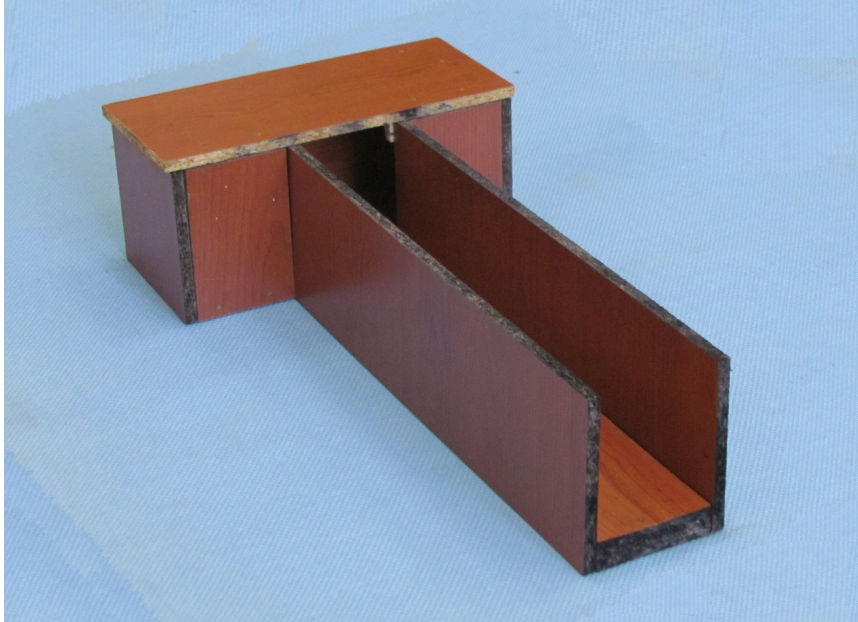
Şekil. 3.8. Perinörotomi uygulanmış sinir enine kesiti (Sarı oklar: sağlam perinöriumun olmadığı yerler; kırmızı oklar: sinir çevresinde serbest rejenere akson kümeleri) *Toluidin* mavisi boyası, x20 ve x200 orijinal büyütme.



Şekil 3.9. Sıçanların postoperatif görünümü (sırasıyla arka-ön)

3.4. Yürüme Yolu Analizi

Tüm deneklere 0 (ameliyattan önce), 2, 4, 6, 8, 10 ve 12. haftalarda yürüme yolu analizi uygulandı. Bu amaçla, sonu karanlık bir kutuya açılan 8,2 X 42 cm boyutlarında yürüme yolu içeren bir düzenecek kullanıldı (Şekil 3.10) (89). Yürüme yolu tabanına uygun şekilde kesilen A3 kağıtları yerleştirildi. Deneklerin arka ayakları, siyah çini mürekkebine (Monopol, İstanbul) batırıldı ve yol üzerinde yürümeleri sağlandı. Motifler üzerinde izlerden, ayak uzunluğu (PL), ayak yayılımı (TS) ve orta ayak yayılımları (ITS) belirlendi (Şekil 3.1). Bu değerler, Bain – Mackinnon - Hunter (BMH) formülüne uygulandı (89).



Şekil 3.10. Yürüme yolu düzeneği

3.4.1 Değerlendirme

Sinir iyileşmesini değerlendiren geleneksel yöntemler motor ve duyu geri dönüşü tam olarak gösteremezler (90). Yürüme yolu analizi sıçanlarda periferik sinir yaralanması sonrası fonksiyonel geri dönüşün değerlendirilmesinde faydalıdır (91). Bu yöntemde hayvanın arka ayak izleri incelenerek ve ölçümler yapılarak siyatik fonksiyon indeksleri elde edilir. Bu indeksler fonksiyonel gelişimin değerlendirilmesini sağlamaktadır. Sıçanlarda yapılan periferik sinir çalışmalarında yürüme yolu analizinin kullanılması;

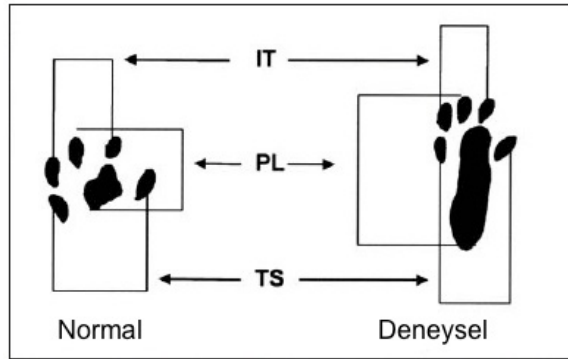
siyatik, peroneal ve tibial sinirlerde iyileşmesinin fonksiyonel olarak değerlendirilmesini sağlamıştır.

1979'da Hruska ve arkadaşlarının ortaya attığı, deMedinecelli ve arkadaşları tarafından geliştirilen yürüme yolu analizinin duyarlılığı Bain-Mackinnon-Hunter formülleri ile arttırılmıştır (Şekil 3.11)(89, 92).

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

$$TFI = -37.2 \frac{(EPL - NPL)}{NPL} + 104.4 \frac{(ETS - NTS)}{NTS} + 45.6 \frac{(EIT - NIT)}{NIT} - 8.8$$

$$PFI = 174.9 \frac{(EPL - NPL)}{NPL} + 80.3 \frac{(ETS - NTS)}{NTS} - 13.4$$



SFI = Siyatik fonksiyon indeksi (Sciatic function indeks)

PFI = Peroneal fonksiyon indeksi (Peroneal function indeks)

TFI = Tibial fonksiyon indeksi (Tibial function indeks)

PL = Ayak uzunluğu (Printh length)

TS = Ayak yayılımı (Toe spread)

ITS = Orta ayak yayılımı (Intermediate toe spread)

EPL = Deney uygulanan tarafta ayak uzunluğu (Experimental print length)

NPL = Deney uygulanmayan tarafta ayak uzunluğu (Normal control printh length)

ETS = Deney uygulanan tarafta ayak yayılımı (Experimental toe spread)

NTS = Deney uygulanmayan tarafta ayak yayılımı (Normal control toe spread)

EIT = Deney uygulanan tarafta orta ayak yayılımı (Experimental intermediate toe spread)

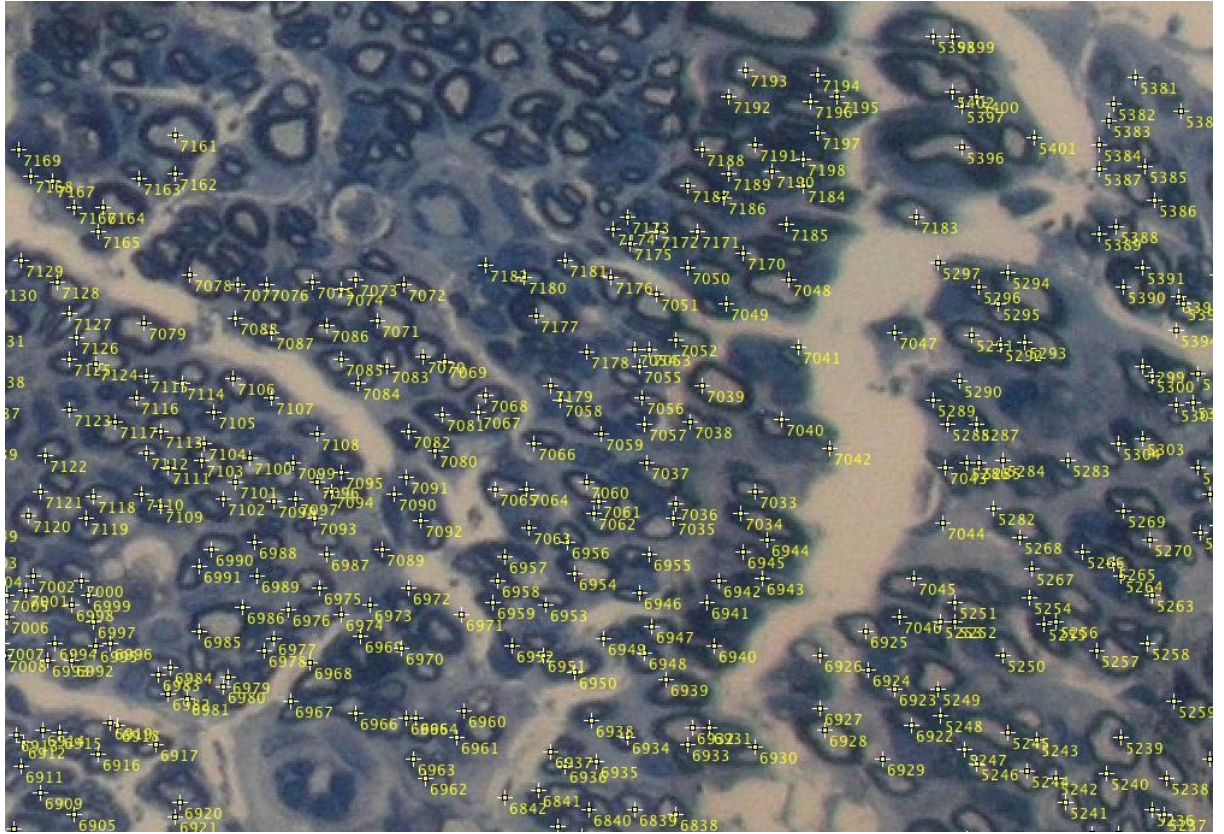
NIT = Deney uygulanmayan tarafta orta ayak yayılımı (Normal control Experimental intermediate toe spread)

Şekil 3.11. Ayak izi üzerinde yapılan ölçümler; BMH formülüne göre siyatik, peroneal ve tibial sinir fonksiyon indeksleri.

3.5. Morfometrik Analiz

Çalışma sonunda, 12. haftadaki son yürüme yolu analizi sonrası, tüm deneklerin ameliyat alanları explore edildi. Her grup için siyatik sinirden sütür hattı dahil distal kısımdan 1 cm lik sinir eksize edildi. Elde edilen periferik sinir örnekleri % 2,5'luk glutaraldehit (0.1 M Fosfat tamponunda - PBS, phosphate buffered saline) içerisinde, +4 °C'de, 4 saat boyunca fikse edildi. Sonrasında 0.1 M PBS ile yıkanan dokulara osmiyum tetroksit ile 1 saat süreyle postfiksasyon uygulandı. PBS ile yıkanan dokular yüksek alkol serilerinden (% 70, % 90, % 96, % 100) geçirilerek dehidrate edildi. Saf propilen aşamasından sonra dokular 1:1 propilen oksit:epon karışımına alınarak 1 gece boyunca rotarda tutuldu. Saf epon içine gömülen örnekler 1 gece boyunca 60 °C'de polimerize edildi. Epon bloklardan Leica Ultracut R ultramikrotom ile alınan 1 mikron kalınlığındaki kesitler *Toluidin* Mavisi boyası ile boyandı. Kesitler ışık mikroskobunda (Olympus BX51) incelenerek fotoğraflandı. Periferik sinir içerisinde bulunan aksonlar *Image J* Programı yardımı ile bu fotoğraflar üzerinde sayıldı (Şekil 3.12).

Toluidin mavisi boyası ile boyanan yarı - ince (1 µm) kesitlerden elektron mikroskobunda incelenecek alan seçildi. Bloklar buna uygun olarak trimlendi ve 60 - 100 nm kalınlığında ince kesitler Coat - Quick 'G' pen (Kiyota International; Elk Grove, IL, USA) ile kaplanmış 200 mesh bakır gridler üzerine alındı. Uranil asetat ve kurşun sitrat kullanılarak zıt boyama uygulanan kesitler Morada CCD kamera sisteminin bağlı olduğu JEOL-JEM-1200EX II geçirimli elektron mikroskobu ile incelenerek fotoğraflandı.



Şekil 3.12. *Image J* programı ile miyelinli akson sayısı

3.6. İstatistiksel Analiz

Araştırmada elde edilen bilgilerin değerlendirilmesi için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 istatistik yazılım paket programı kullanıldı. Verilerin analizi yapılırken tanımlayıcı istatistiklerden aritmetik ortalama ve standart sapma kullanıldı. Veriler arasındaki farkların karşılaştırılmasında *Kruskal Wallis* testi ve *Mann Whitney U* testi kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışma süresince sağlıklı kontrol (grup 1) ve sağlıklı perinörotomi (grup 2) gruplarına ait birer hayvanın opere edilen bacağında otokanibalizasyon gözleendiği için çalışmadan çıkartıldı. Diyabetik kontrol grubuna ait 3 hayvan 6, 7 ve 9. haftalarda; diyabetik perinörotomi grubuna ait 4 hayvan ise 6, 9 ve 10. haftalarda öldüğü için çalışmadan çıkartıldı. Kalan hayvan sayıları istatistiksel değerlendirmede yeterli olduğu için çalışmaya devam edildi.

4.1. Yürüme Yolu Analizi

Siyatik fonksiyon indeksleri, her deney grubunda ve her intervalde ayrı olarak ortalama ve standart sapma değerleri ile hesaplandı (Tablo 4.1).

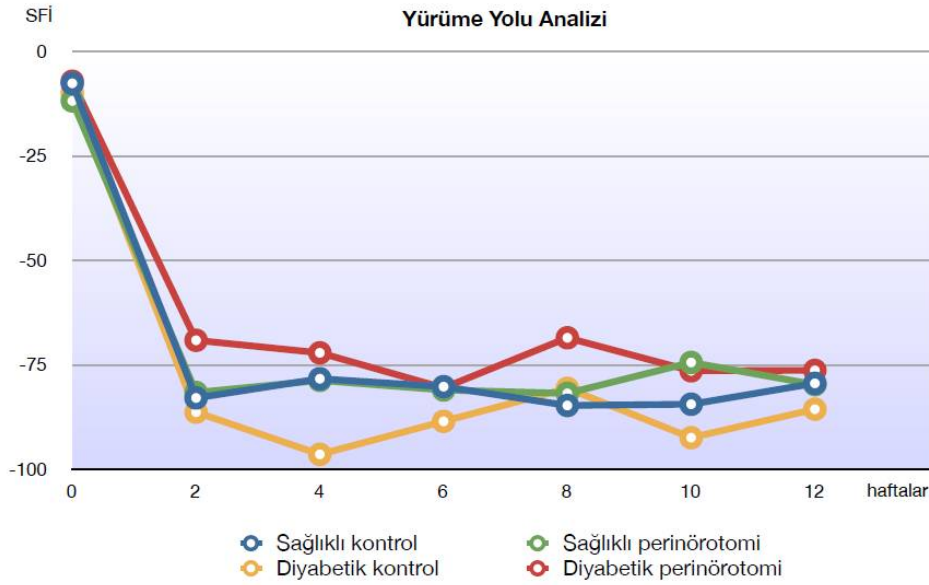
Yürüme yolu analizine göre grupların tamamında ameliyattan sonra siyatik fonksiyon indekslerinde bozulma görüldü, ve hiçbir ameliyat sonrasında normale dönmedi (Şekil 4.1). Ancak gruplar arasında yapılan karşılaştırmada siyatik fonksiyon indekslerinin diyabetik kontrol grubunda en kötü olduğu gözleendi. Diyabetik perinörotomi grubu siyatik fonksiyon indekslerinin ise diğer gruplara göre daha iyi düzeyde olduğu görüldü. Sağlıklı kontrol ve sağlıklı perinörotomi grupları arasında fark gözlenmedi. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda grup 1 ve grup 2 arasında fark gözlenmezken ($p>0.05$), grup 3 ve grup 4 arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

4.2. Akson Sayımı

Yapılan miyelinli akson sayımı sonucunda (Tablo 4.2, Şekil 4.2) sağlıklı kontrol ve sağlıklı perinörotomi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$), ancak diyabetik kontrol ve diyabetik perinörotomi grupları arasında, perinörotomi grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözleendi ($p<0,05$). Diyabetik gruplar, sağlıklı gruplarla karşılaştırıldığında değişik derecelerde aksonal dejenerasyon gözleendi. Yapılan dejenere akson sayımı sonucunda, diyabetik gruplarda dejenere aksonların belirgin derece artmış olduğu gözleendi (Tablo 4.3, Şekil 4.3).

Tablo 4.1. Ortalama Siyatik Fonksiyon İndeksleri (SFI)

HAFTALAR	Sağlıklı Kontrol	Sağlıklı Perinörotomi	Diyabetik Kontrol	Diyabetik Perinörotomi
0	- 7.72 ± 4.6	-11.9±7.6	-9.95±7.5	-7.2±9.1
2	-83±6.7	-81.7±10.1	-86.4±6.6	-69.2±14.5
4	-78.4±8.5	-78.8±8.7	-96.5±3.2	-72.2±7.1
6	-80.3±7.8	-81.1±5	-88.6±3.6	-80.6±2
8	-84.8±10.6	-81.9±14.2	-80.7±12.5	-68.6±10.5
10	-84.5±10.6	-74.5±9.4	-92.5±7.2	-76.5±14.5
12	-79.5±9.6	-79.8±6.8	-85.7±7.6	-76.4±3.5



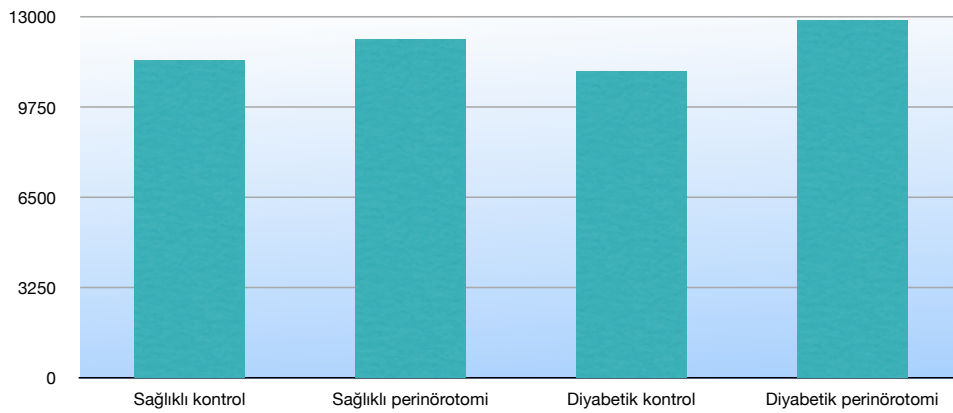
Şekil 4.1. Siyatik Fonksiyon İndekslerindeki gelişmenin seyri

Aksonal dejenerasyon diyabetik kontrol grubunda daha belirginken, diyabetik perinörotomi grubunda daha azdı. Diyabetik ve diyabetik olmayan

gruplar arası farklılık anlamlı bulundu ($p<0.05$). İstatistiksel değerlendirmede grup 3 ve grup 4 arasındaki farklılık anlamlı bulundu ($p<0,05$). Diyabetik olmayan gruplarda ise dejenerasyon akson sayısının perinörotomi grubunda daha yüksek olduğu gözlemlendi, ancak aradaki farklılık anlamlı değildi ($p>0,05$).

Tablo 4.2. Akson sayım sonuçları

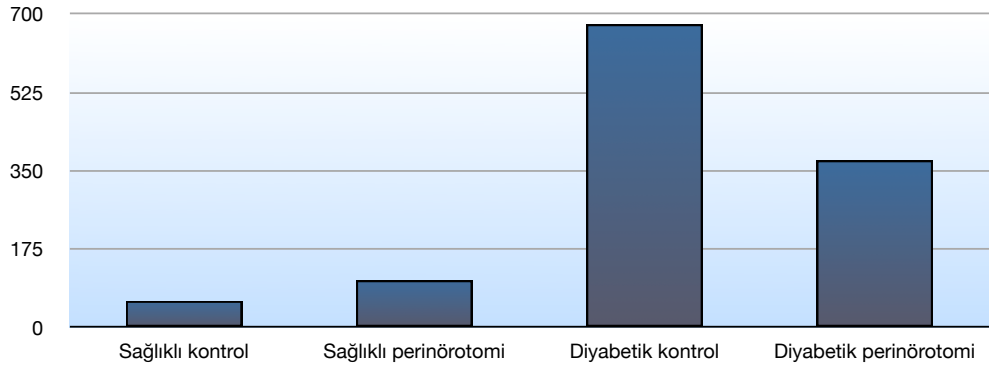
DENEK NO	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	11713	14134	10710	12735
2	9701	11376	10456	12565
3	9182	11158	11422	13840
4	15227	13712	10862	12315
5	13790	11940	11738	13174
6	13344	13178	10629	12678
7	10397	13685	11591	
8	10085	9332		
9	9397	11171		
Ortalama	11426±2201	12187±1593	11058±513	12884±545



Şekil 4.2. Akson sayım sonuçları

Tablo 4.3. Dejenere akson sayım sonuçları

DENEK NO	Grup 1	Grup2	Grup 3	Grup 4
1	5	61	184	521
2	79	79	762	241
3	12	26	601	536
4	17	88	472	168
5	232	127	1094	346
6	32	87	787	429
7	60	34	843	
8	83	299		
9	13	152		
Ortalama	59.2±71.2	105.8±82.7	677.5±292	373.5±149.5



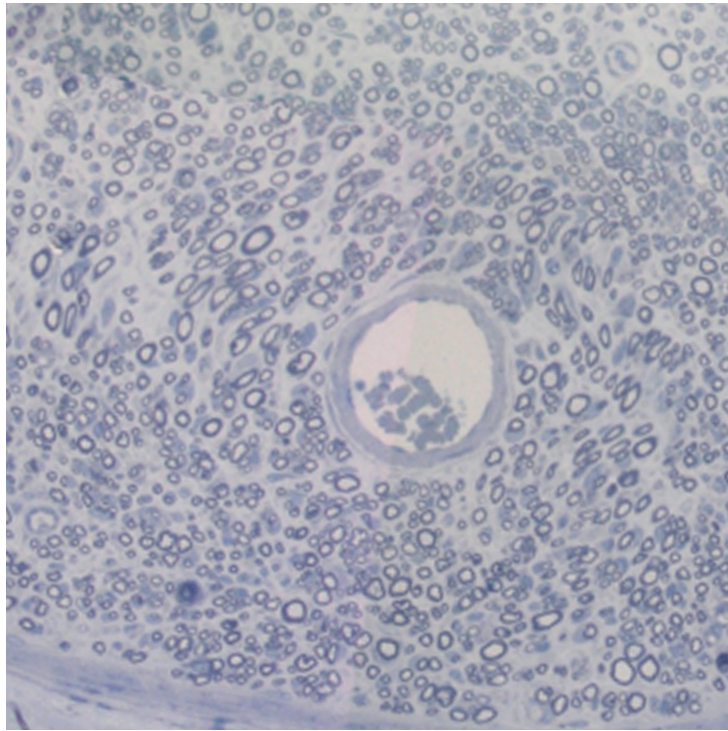
Şekil 4.3. Dejenere akson sayım sonuçları

4.3 Histoloji

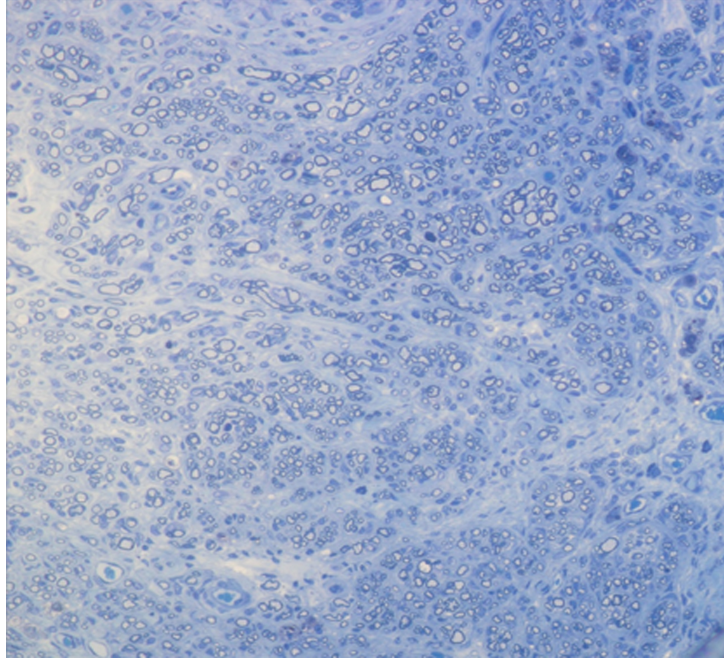
Toluidin mavisi ile boyanan yarı - ince kesitlerin incelenmesinde sağlıklı kontrol ve sağlıklı perinörotomi gruplarında düzgün morfolojide miyelinli lifler içeren periferik sinir izlenmekteydi (Şekil 4.4). Diyabetik kontrol grubunda belirgin miyelinli akson hasarı ve çok sayıda ovoid yapılar dikkati çekmekteydi (Şekil 4.6). Diyabetik kontrol grubundaki sıçanlarda gözlenen

belirgin akson hasarına karşın, diyabetik perinörotomi grubunda akson profili sağlıklı kontrol grubuna benzerdi. Diyabetik perinörotomi akson profili düzgün morfolojide izlenmekle beraber az sayıda hasarlı akson içermektedir. Rejenere akson kümeleri mevcuttu (Şekil 4.7).

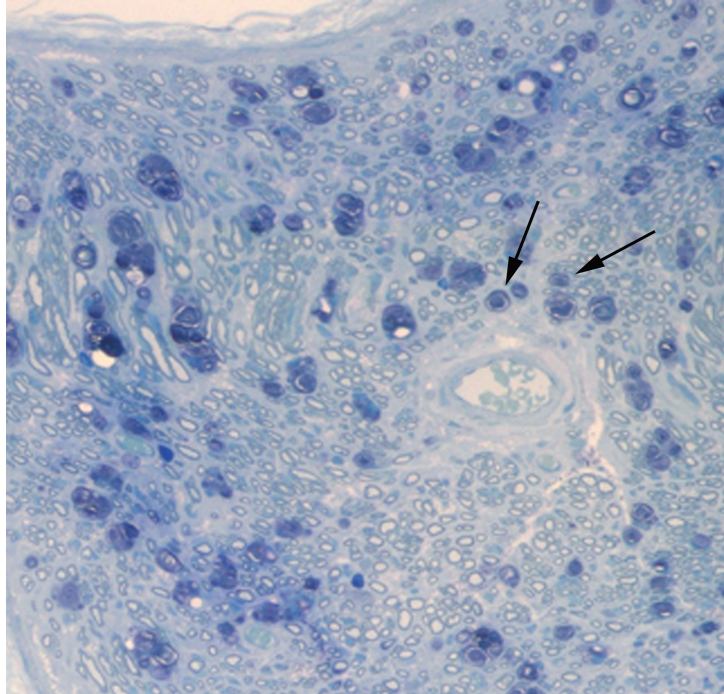
Periferik sinirlerin enine kesitlerinin elektron mikroskobu ile incelemesinde, sağlıklı kontrol ve sağlıklı perinörotomi gruplarında normal görünümde nörofilamanlar içeren düzgün akson morfolojisi izlenmekteydi (Şekil 4.8 ve Şekil 4.9). Diyabetik kontrol grubundaki sıçanların sinirlerinin incelenmesi, miyelin kılıf hasarı ve kıvrımlı miyelin kılıf altında pek çok vakuolizasyona sahip akson ortaya koydu (Şekil 4.10). Diyabetik perinörotomi grubunda, miyelin kılıf düzgün görünümde izlenmekteydi. Vakuolizasyonlar belirgin derecede azalmıştı (Şekil 4.11).



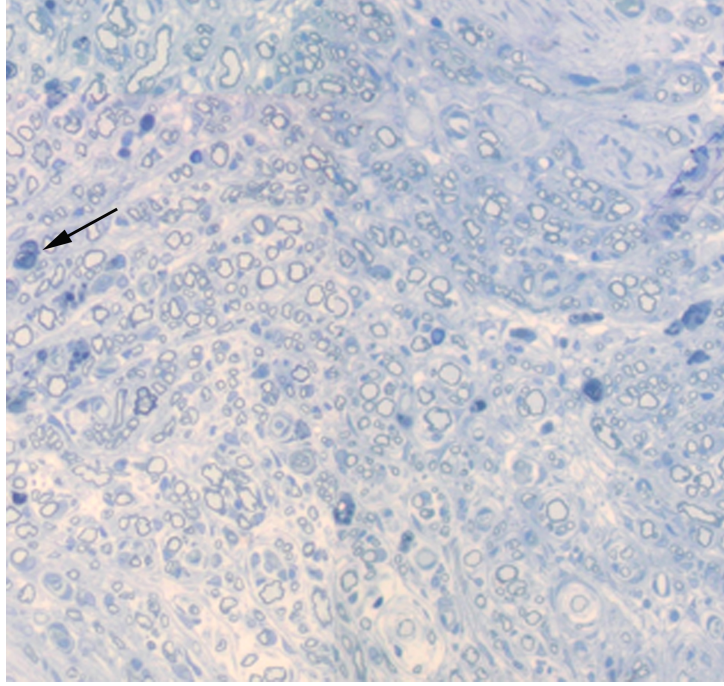
Şekil 4.4. Sağlıklı kontrol grubu periferik sinir enine kesiti. *Toluidin* mavisi boyası, x200, orijinal büyütme.



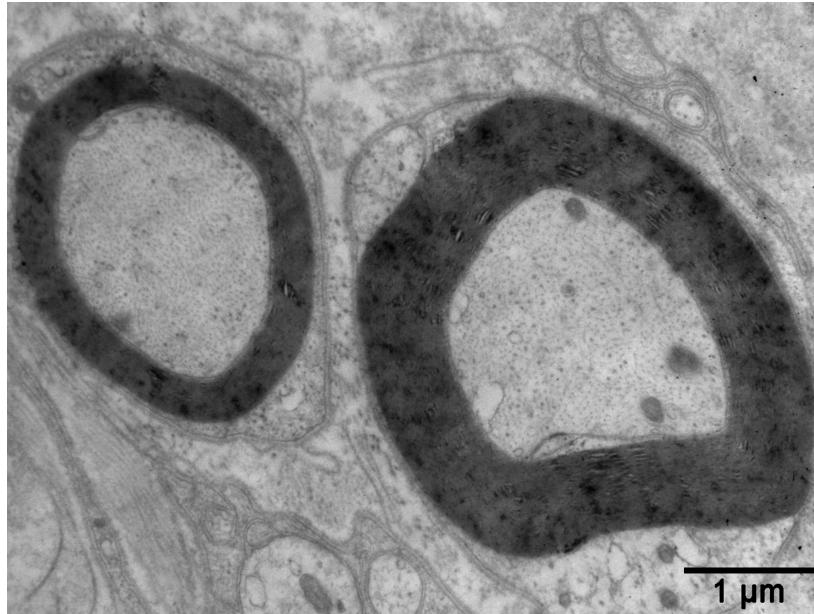
Şekil 4.5. Sağlıklı perinörotomi grubu periferik sinir enine kesiti. *Toluidin* mavisi boyası, x200, orijinal büyütme.



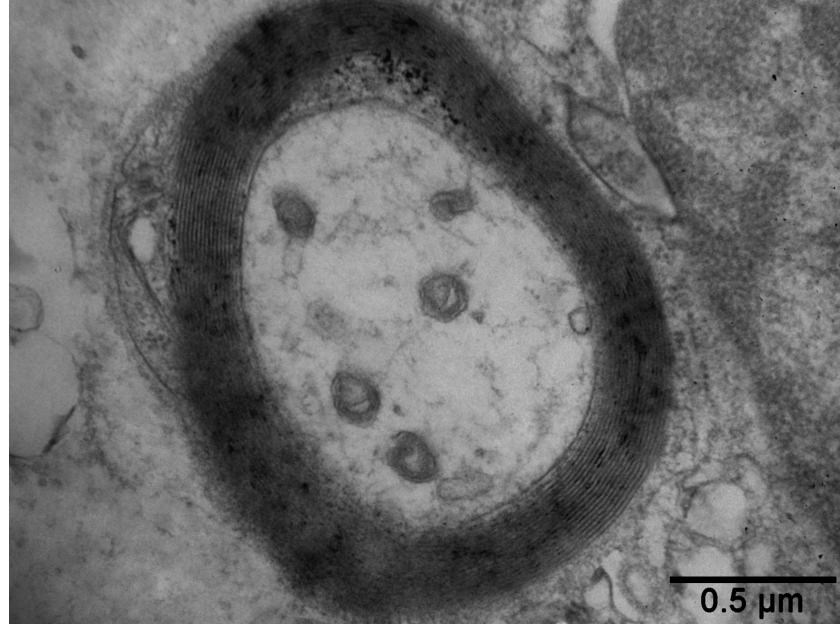
Şekil 4.6. Diyabetik kontrol grubu periferik sinir enine kesiti. Büyük miyelinli aksonların kaybı ve aksonal dejenerasyonun bulgusu olan çok sayıda ovoid yapılar (oklar) izlenmektedir. *Toluidin* mavisi boyası, x200, orijinal büyütme.



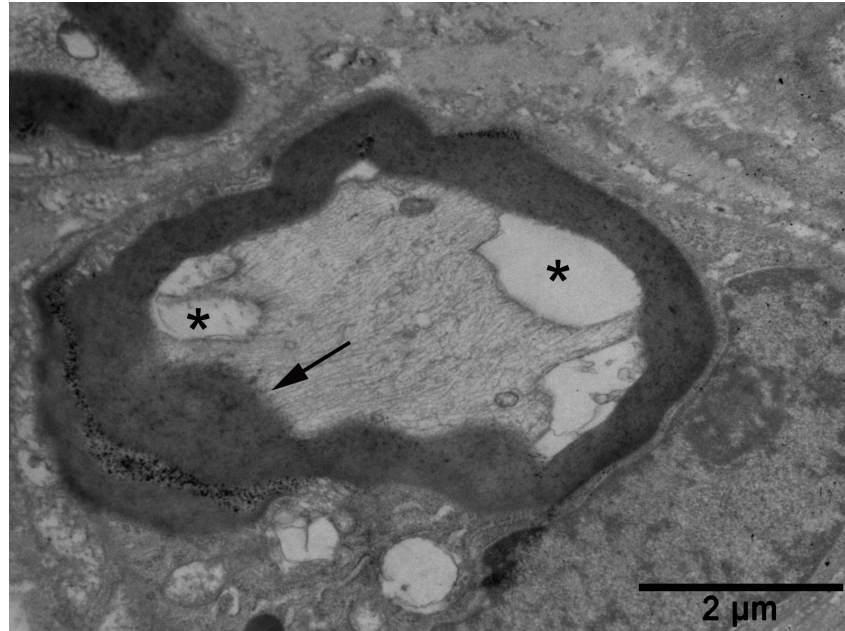
Şekil 4.7. Diyabetik perinörotomi grubu periferik sinir enine kesiti. Az sayıda hasarlı akson (ok) görülmektedir. *Toluidin* mavisi boyası, x200, orijinal büyütme.



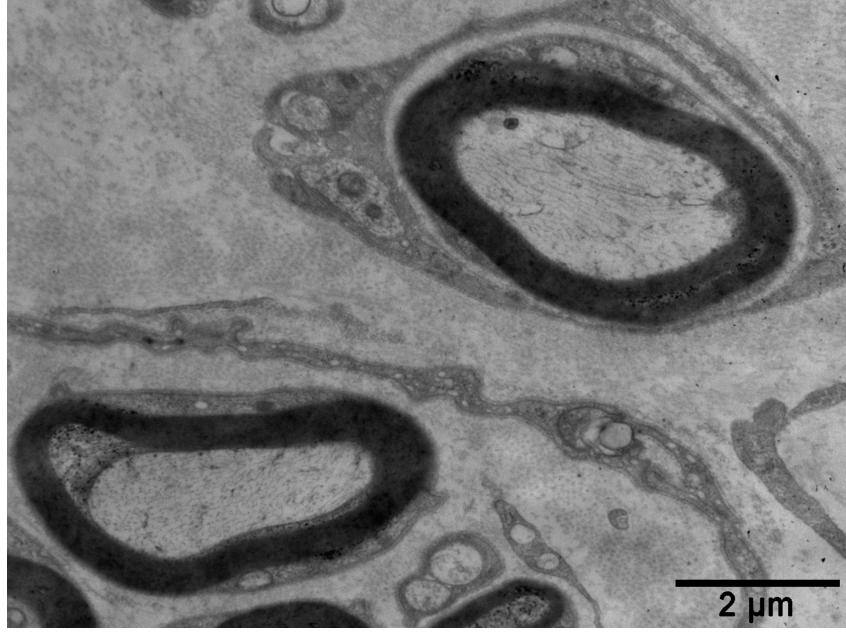
Şekil 4.8. Sağlıklı kontrol grubu periferik sinir enine kesiti. Düzgün görünümde nörofilamanlar içeren normal miyelinli akson morfolojisi izlenmektedir.



Şekil 4.9. Sağlıklı perinörotomi grubu periferik sinir enine kesiti. Düzgün miyelinli akson morfolojisi izlenmektedir.



Şekil 4.10. Diyabetik kontrol grubu periferik sinir enine kesiti. Dejeneratif aksonal değişiklikler, bozulmuş kıvrımlı miyelin kılıf (ok) içerisinde vakuolizasyonlar (*) izlenmektedir.



Şekil 4.11. Diyabetik perinörotomi grubu periferik sinir enine kesiti. Miyelinli akson morfolojisi diyabetik olmayan kontrol grubuna benzer düzgün morfolojide izlenmektedir.

TARTIŞMA

Periferik sinir rejenerasyonu; yaralanmanın yeri, yaş, cerrahi onarım zamanlaması, ilave yaralanma varlığı gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Proksimal ve distal sinir uçlarının rejenere aksonlarla birleşmesi ve aksonların olgunlaşabilmesi için yoğun metabolik destek gereksinimi vardır. Diyabetik hastalar akut sinir sıkışmalarına veya tuzaklanmalara çok hassastırlar (121). Sinire olan bası demiyelinizasyon ve aksonal dejenerasyona neden olabilir (122).

Diyabetes Mellitus dünya çapında nüfusun % 5.1 'ini etkileyen hiperglisemi ile karakterize metabolik bir bozukluktur ve gelişmiş tedavilere rağmen diyabet halen önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir (1). Hasta morbiditesinin ana nedeni ise diyabetik nöropatidir (2). Diyabet otonomik ve sensorimotor sinirleri, tek ya da çoklu sinirleri etkileyebilir ve proksimal veya distalde oluşabilir. Periferik diyabetik nöropati, tip I diyabetin % 54, tip II diyabetin % 45'inde gözlenmektedir (3). Diyabetik nöropati patofizyolojisinde birçok mekanizma yer almaktadır. İlk olarak hiperglisemi poliol yolağındaki aktiviteyi artırır ve sinirlerde sorbitol ve fruktoz birikimi olur. Bunu sodyum retansiyonu, ödem, miyelinde ödem, aksoglial ayrılma ve sonuç olarak sinir dejenerasyonu izlemektedir. Hiperglisemi aynı zamanda glukoz ve kollajen arasında enzimatik olmayan reaksiyonu da başlatır ve glukozun kollajene bağlanmasına yol açar (93). Glikozillenmiş son ürünler, fleksör tendon kılıflarında ve muhtemelen sinirlerde de kalınlaşmaya neden olur. İkinci olarak diyabete bağlı mikrovasküler bozukluktan kaynaklanan antinöronal antikolar, oksidatif stress ve sinir iskemisi gibi mekanizmaların tamamı nöropati gelişimine neden olur (94 - 96). Üçüncü olarak diyabet, nöronal tamir mekanizmalarını bozar. Hiperglisemi, nöronal hasar alanına yapısal proteinlerin taşınmasını sağlayan, nöronal aksoplazmik akımın azalmasına neden olur (97).

Diyabetin ana komplikasyonlarından birisi olan periferik diyabetik nöropati geleneksel olarak geri döndürülemez bir durum olarak düşünülmüştür. Bu nedenle uygulanan geleneksel tedaviler de altta yatan patolojik durumun düzeltilmesinden ziyade, komplikasyonların gelişimini önlemeye yönelik

olmuştur. *Double-crush* fenomenine göre sinir sıkışması periferik diyabetik nöropati patofizyolojisinde rol almaktadır. Bu nedenle yeni bir konsept olarak periferik diyabetik nöropatinin geri dönüşlü olabileceği düşünülmüştür (11). Sinir sıkışması dekompresyon cerrahisi ile başarılı bir şekilde düzeltilebileceğinden dolayı, hastaların bir kısmında periferik nöropati geri dönüşlü olma potansiyeli taşımaktadır. Sinir dekompresyon cerrahisinin periferik diyabetik nöropati üzerindeki faydalı etkileri birçok klinik ve deneysel çalışmada gösterilmiştir (8, 9). Diyabetik nöropatinin patofizyolojisinde kompresyonun rolü olduğu ilk olarak 1973 yılında *double crush* hipotezi ile ortaya atılmıştır ve daha sonra rat modeli ile de doğrulanmıştır. Hipoteze göre sinirin seyri boyunca bir yerde lokal hasara uğraması sinir hücresinin genel fonksiyonunu, siniri distalde ikinci bir basıya daha hassas hale getirecek şekilde bozar (11, 99, 100). Ayrıca silikon bant ile sıçan siyatik sinirlerine bası uygulandığında, streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanların siyatik sinirlerinde, diyabetik olmayan sıçanlara göre sinir iletim hızında daha fazla düşüş gözlenmiştir (123).

Diyabetik nöropatinin etyolojisi multifaktöryeldir ve klinik bulguların ortaya çıkışından çeşitli mekanizmalar sorumludur (79, 95). Periferik sinirlerin potansiyel sıkışma yerlerinde tuzaklanması diyabetli hastalarda kompresif nöropati gelişimine yol açan önemli bir faktördür. Diyabetik nöropatinin ilerleyişinin değiştirilmesi ve istenmeyen sekellerinin önlenmesi için birçok çalışma yapılmıştır (98, 101). Çalışmalar diyabetik sinirlerin potansiyel sıkışma yerlerinde cerrahi dekompresyon uygulamasının diyabetik nöropatisi olan hastalarda yaşam kalitesini arttırdığı fikrini desteklemektedir (8, 9). 1992'den beri diyabetli hastalarda periferik sinir dekompresyonunu inceleyen birçok çalışma hem üst hem de alt ekstremitelerde ağrı ve iki nokta ayırımında düzelme olduğunu belirtmiştir (102 - 111). Anamnez, fizik muayene ve nörosensorial testlere dayanan klinik çalışmalar, semptomatik olan kompresif nöropatili hastalarda elektif dekompresyon işlemini desteklemektedir (104, 105, 107, 111, 112). Siemionow ve arkadaşları 2007 yılında yaptıkları deneysel çalışmada; diyabetik nöropati ilerlemeden yapılacak sinir dekompresyonunun da faydalı olduğunu belirtmişlerdir (13).

Sinirin cerrahi dekompresyonu sonucu; diyabetik hastalarda yaşam kalitesinde artış olması, ağrıda, iki nokta ayırımında düzelme olması, hatta elektif dekompresyon işleminin önerilmesi sinire olan basının, sinir fonksiyonunu ne denli etkilediğini ve cerrahinin faydasını açıkça ortaya koymaktadır (8, 9, 13, 102 - 112). Ancak diyabetli hastalarda sinirin kalınlaşması sonucu dışarıdan bası olduğu gibi sinirin iç basıncında da artış olmaktadır. Bunun nedeni ise perinöriumun yapısıdır. Perinörium, fasikülleri saran, mekanik olarak kuvvetli bağ dokusudur ve esnekliği azdır. Çevresindeki interstisyel doku basıncının hafif olarak daha yüksek olması sebebiyle devamlı bir basınç altındadır. Perinöriuma damarlar oblik olarak girerler, bu nedenle basınç artışlarında kanlanma bozulmaktadır (23, 24). Basınç artışı sonucu kanlanmanın bozulması sinirde demiyelinizasyona neden olmaktadır (117).

Kale ve arkadaşları diyabetik hastalarda intranöral basınç artışını birinci hasar (*crush*), sinire olan basıyı ikinci hasar (*crush*) olarak tanımlamışlar ve sinir dekompresyonu yanında perinörotomi yapılmasının *double crush* fenomeninin iki bacağını da tedavi edebileceğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında streptozotosin ile diyabetik hale getirilen sıçanları kontrol, dekompresyon + epinörotomi ve dekompresyon + perinörotomi olmak üzere üç gruba ayırmışlar, sonuçları yürüme yolu ve histolojik inceleme ile değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak dekompresyon + perinörotomi grubunda en iyi sonuçları elde etmişlerdir (9). Biz de buradan esinlenerek perinörotominin diyabetik hayvanlarda sinir yaralanmaları sonrası cerrahi onarımı üzerindeki etkisini incelemek için bu çalışmayı planladık. Ayrıca yaptığımız literatür taraması sonucunda diyabetik sıçanlarda perinörotomi uygulamasının sinir yaralanmaları onarımı üzerindeki etkisini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlamadık.

Yaptığımız istatistiksel inceleme sonucunda miyelinli akson sayımı sonuçlarında sağlıklı kontrol (grup1) ve sağlıklı perinörotomi (grup 2) grupları arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Siyatik fonksiyon indeksleri içinde grup 1 ve 2 arasında farklılık gözlenmemesi, perinörotomi uygulamasının diyabetik olmayan sıçanlarda sinir iyileşmesine kötü veya iyi yönde etkisi

olmadığını göstermektedir. Sağlıklı kontrol (grup 1) ve diyabetik kontrol (grup 3) grupları arasında akson sayımlarında fark olmaması literatürle uyumluydu (87, 114 - 116). Diyabetik nöropati modeli deneysel hayvanlarda yoğun olarak çalışılmasına rağmen, sinir iletimindeki yavaşlamayı açıklayabilecek, akson kaybı veya yoğun demiyelinizasyon gösterilememiştir (116). Sharma ve arkadaşları tibial sinirde yaptıkları çalışmalarda 4 aya kadar diyabetik ve diyabetik olmayan sıçanlar arasında sinir rejenerasyonunda fark olmadığını, 4. aydan sonra diyabetik sıçanlarda sinir rejenerasyonunun daha kötü olduğunu belirtmiştir (85, 114). Babovic ve arkadaşları 90 adet dişi Sprague Dawley sıçan üzerinde sinir iyileşmesini incelemek için yaptıkları çalışmada; 45 hayvanı streptozotosin ile diyabetik hale getirmişler, diyabetik ve diyabetik olmayan hayvanları sham ameliyat, sinir onarımı ve sinir grefti olarak üçer gruba ayırmışlardır. Cerrahi sonrası altı ay süresince, ikişer haftalık aralıklarla yürüme yolu analizi yapmışlardır. Sonuç olarak tibial sinirin kesilip sütüre edilmesi veya greft olarak sütüre edilmesi sonrası sinir rejenerasyonunda diyabetik ve sağlıklı gruplar arasında fark gözlemlenememişlerdir (87). Walker ve arkadaşları ise yaptıkları çalışma sonucunda; rejenere olan miyelinli lif yoğunluğunda, streptozotosin ile diyabetik hale getirilmiş sıçanlarla sağlıklı hayvanlar arasında farklılık bulamamışlardır (116). Sharma ve arkadaşları bir başka çalışmada; sural sinirde ezilme yaralanması oluşturmuşlar, 3, 6 ve 18. haftalarda histolojik inceleme yapmışlardır. Morfometrik incelemeleri sonucunda toplam miyelinli akson sayısında, büyüklük - sıklık dağılımında ve ortalama büyüklükte kontrol grupları ile arada farklılık bulamamışlardır (118).

Elektron mikroskobu incelemesinde, sağlıklı kontrol ve sağlıklı perinörotomi gruplarında normal görünümde nörofilamanlar içeren düzgün akson morfolojisi saptadık. Perinörotomi uygulaması morfolojik olarak diyabetik olmayan grupta bir değişikliğe neden olmamıştır. Diyabetik kontrol grubundaki sıçanların sinirlerinin incelenmesinde ise, miyelin kılıf hasarı ve kıvrımlı miyelin kılıfı altında pek çok vakuolizasyona sahip akson gördük. Diyabetik perinörotomi grubunda ise miyelin kılıfı düzgün görünümde izlenmekteydi ve vakuolizasyonlar belirgin derecede azalmıştı. Perinörotomi

uygulaması diyabetik sinirlerde morfolojik olarak iyi yönde değişimlere neden olmuştur.

Çalışmamızda da sağlıklı kontrol ve diyabetik kontrol grupları arasında akson sayımında istatistiksel farklılık yoktu ($p>0.05$), ancak siyatik fonksiyon indekslerinde diyabetik kontrol ve sağlıklı kontrol grupları arasında anlamlı farklılık saptadık ($p<0.05$). Buradan akson sayımından ziyade rejenere olan akson kalitesinin daha önemli olduğu sonucunu çıkartabiliriz. Nitekim dejenere akson sayım sonuçlarına baktığımızda diyabetik ve sağlıklı gruplar arasındaki farkın ileri derece anlamlı olduğunu görmekteyiz ($p<0.001$). Dejenere akson sayımı ortalamaları ile grupları kendi içerisinde değerlendirdiğimizde diyabetik olmayan sıçanlarda kontrol grubunun, diyabetik olan sıçanlarda ise perinörotomi grubunun daha az sayıda dejenere akson içerdiği görülmektedir. Ancak sağlıklı kontrol (grup 1) ve sağlıklı perinörotomi (grup 2) grupları arasında dejenere akson sayımları açısından da fark görülmedi ($p>0.05$). Diyabetik kontrol (grup 3) ve diyabetik perinörotomi (grup 4) grupları arasında ise anlamlı farklılık gözlemlendi ($p<0.05$). Perinörotomi uygulaması diyabetik sinirlerde dejenere akson sayısını anlamlı derecede azaltmıştır. Moore ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; dejenere akson görünümünün diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre daha yüksek oranda bulunduğunu ve bunun distal aksonopatinin bir göstergesi olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca bu aksonal değişikliklerin artan sıklığının, segmental demiyelinizasyon ve distal aksonal dejenerasyonla ilgili olabileceğini belirtmişlerdir (120).

Yürüme yolu grafiğini incelediğimizde en iyi sonuçların diyabetik perinörotomi grubunda olduğunu gözlemekteyiz. Siyatik fonksiyon indekslerini istatistiksel olarak karşılaştırdığımızda; sağlıklı kontrol (grup 1) ve sağlıklı perinörotomi (grup 2) arasında fark olmadığını ($p>0.05$), diyabetik kontrol (grup 3) ile diyabetik perinörotomi (grup 4) arasında ise anlamlı farklılık olduğunu görmekteyiz ($p<0.05$). Bu da sinir yaralanmaları onarımında perinörotomi uygulamasının, diyabetik sıçanlarda fonksiyonel olarak daha iyi sinir rejenerasyonu sağladığını göstermektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Diyabetik sıçan modelinde, perinörotominin sağlam sinirde diyabetin etkisinin geri döndürülmesi konusunda faydalı olduğu kliniğimizde daha önce yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (9). Çalışmamızda ise diyabetik sıçanlarda sinir onarımından sonra yapılan perinörotomi uygulamasının sinir iyileşmesini hem morfolojik hem de fonksiyonel olarak iyi yönde etkilediği saptanmıştır. Diyabetik sinir yaralanmaları onarımında perinörotomi uygulamasının klinik uygulamada kendine yer bulabilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. The Diabetes Epidemic : Facts., International Diabetes Federation. http://www.idf.org/files/docs/Diabetes_facts.pdf. (03/08/2011).
2. Vinik AL., Park TS., Stansberry KB., Pittenger GL., Diabetic neuropathies. *Diabetologia*. 2000;43:957–973.
3. Dyck PJ., Kratz KM., Karnes JL., Litchy WJ., Klein R., Patch JM., Wilson DM., O'Brien PC., Melton LJ 3rd., Service FJ. The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: the Rochester Diabetic Neuropathy Study. *Neurology*. 1993;43(4):817-24.
4. Siemionow M, Demir Y. Diabetic neuropathy: pathogenesis and treatment. *J Reconstr Microsurg*. 2004;20:241–252.
5. Coppini DV., Spruce MC., Thomas P., Masding MG. Established diabetic neuropathy seems irreversible despite improvements in metabolic and vascular risk markers - a retrospective case-control study in a hospital patient cohort. *Diabet Med*. 2006;23(9):1016-20.
6. Vinik AL., Holland MT., Le Beau JM., Liuzzi FJ., Stansberry KB., Colen LB. Diabetic neuropathies. *Diabetes Care*. 1992;15(12):1926-75.
7. Perkins BA., Olaleye D., Bril V. Carpal tunnel syndrome in patients with diabetic polyneuropathy. *Diabetes Care*. 2002;25(3):565–569.
8. Dellon AL. A cause for optimism in diabetic neuropathy. *Ann Plast Surg*. 1988;20:103–105.
9. Kale B., Yuksel F., Celikoz B., Sirvancı S., Ergün O., Arbak S. Effect of various nerve decompression procedures on the function of distal limbs in streptozocin-induced diabetic rats: further optimism in diabetic neuropathy. *Plast Reconstr Surg*. 2003;111(7):2265-72.
10. Dellon AL., Mackinnon SE., Seiler WA. Susceptibility of the diabetic nerve to chronic compression. *Ann Plast Surg*. 1988;20:117–119
11. Upton AR., McComas AJ. The double crush in nerve entrapment syndromes. *Lancet*. 1973;2:359–362.

- 12.Barrett SL., Dellon AL., Fleischli J., Gould JS., Wang C. Metabolic and Compressive Neuropathy Foot&Ankle Spec. 2010 3(3):132-9.
- 13.Siemionow M., Sari A., Demir Y. Effect of Early Nerve Release on the Progression of Neuropathy in Diabetic Rats. Ann. Plast. Surg. 2007 59(1):102-8.
- 14.Kale B., Streptozotosin ile diyabetik hale getirilmiş sıçanlarda, gelişen diyabetik nöropatinin önlenmesinde, çeşitli sinir dekompresyon yöntemlerinin etkinliği, Tıpta Uzmanlık Tezi, GATA HEH Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Servis Şefliği, İstanbul, 2002.
- 15.Terzis JK., Smith KL. Repair and grafting of the peripheral nerve. McCarthy JG, May JW, Litter WJ, editors. Plastic surgery. Philadelphia: WB Saunders; 1990. Volume 1, p: 630–97
- 16.Shenaq SM, Kim JYS. Repair and grafting of peripheral nerve. In: Mathes SJ, editor. Plastic surgery. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006. Volume 1, p: 719–43
- 17.Wilgis EF., Brushart TM. Nerve Repair and Grafting. In:Green, PD.(ed.), Operative Hand Surgery, Churchill Livingstone,1315-1324; 1993
- 18.Mescher AL. Junqueira's Basic Histology , 12th ed, McGraw Hill Lange, P. 140-141, Singapur, 2010.
- 19.Mathes SJ., Hentz VR., Mathes Plastic Surgery, Saunders Elsevier, Philadelphia, Vol. 7, 472-473, 2006.
- 20.Abrahamson PA., Santos MF., Zorn TMT. Basic Histology text&atlas, 11th ed, McGraw Hill, New York, 2005.
- 21.Mescher AL. Junqueira's Basic Histology text&atlas, 12th ed, McGraw Hill Lange, Singapur, 2010.
- 22.Thomas PK., Ohia J. Microscopic anatomy of peripheral nerve fibers. Peripheral neuropathy. Saunders Cop, Philadelphia, p; 39-96, 1984.
- 23.Brushart TM. Nerve repair and grafting, Green's Operative Hand Surgery, 1999; 2: 1382
- 24.Terzis JK., Smith KL., Repair and grafting of the peripheral nerve. In: McCarthy, Plastic Surgery General Principles, 1990; 1: 642-4.

25. Maggi SP., Lowe JB 3rd., Mackinnon SE. Pathophysiology of nerve injury. Clin Plast Surg. 2003;30(2):109–26.
26. Ganong FW., Review of Medical Physiology, 18th ed, Lange, U.S.A. 1997.
27. Dvali L., Mackinnon S. Peripheral nerve repair and transfers, Current therapy in plastic surgery, Saunders Elsevier, Philadelphia, 2006. p: 568-73
28. Mykatzyn TM., Mackinnon SE., Microsurgical Repair of Peripheral Nerves and Nerve Grafts, In: Graab&Smith's Plastic Surgery, editors, Thorne CH., Beasley RW., Aston SJ., Barlett SP., Gurtner GC., Spear SL., 6th ed, Lippincott Williams & Wolters Kluwer, pp 73-83, 2007.
29. Winograd JM., Mackinnon SE., Peripheral Nerve Injuries: Repair and Reconstruction. In: Mathes Plastic Surgery, editors Mathes SJ., Hentz VR., Saunders Elsevier, Philadelphia, Vol. 7, 482-485, 2006.
30. Winograd JM., Mackinnon SE., Peripheral Nerve Injuries: Repair and Reconstruction. In: Mathes Plastic Surgery, editors Mathes SJ., Hentz VR., Saunders Elsevier, Philadelphia, Vol. 7, 479, 2006.
31. Avcı G., Akan M., Yıldırım S., Aköz T. Sinir Onarımı ve Greftleme. T Klin Tıp Bilimleri Dergisi, 22, 428-437, 2002.
32. Watanebe O., Mackinnon SE., Tarasidis G., Hunter DA., Ball DJ. Long term observation of the effect of peripheral nerve injury in neonatal and young rats. Plast Reconstr Surg; 102: 2072-81, 1998.
33. Brushart TM., Nerve Repair and Grafting, Green's Operative Hand Surgery, 4th ed, New York, Edinburgh, London, Philadelphia, San Francisco, Churchill Livingstone, 1381-1403; 2000.
34. Politis MJ., Ederle K., Spencer P.S., Tropism in Nerve Regeneration in Vivo. Attraction of Regenerating Axons by diffusable Factors Derived from Cell in Distal Nerve Stump of Transected Peripheral Nerve. Brain Res., 253:1-12, 1982.
35. Winograd JM., Mackinnon SE., Peripheral Nerve Injuries: Repair and Reconstruction. In: Mathes Plastic Surgery, editors Mathes SJ., Hentz VR., Saunders Elsevier, Philadelphia, Vol. 7, 480-481, 2006.

36. Green DP., Hotchkins RN., Pederson WC., Wolfe SW., Green's Operative Hand Surgery, Elsevier Churchill Livingstone, volume I pg 1087, Philadelphia, 2005.
37. Viterbo F., Trindade J.C., Hoshino K., Mazzoni A., Two End-to-Side Neurorrhaphies and Nerve Graft with Removal of the Epineural Sheath: Experimental Study in Rats. Br. J. Plast. Surg. 47: 75-80; 1994.
38. Yuksel F., Karacaoglu E., Guler M.M., Nerve Regeneration through Side-to-side Neurorrhaphy Sites in a Rat Model: A New Concept in Peripheral Nerve Surgery. Plast. Reconstr. Surg. 104: 2092; 1999.
39. Ulkur E., Yuksel F., Acikel C., Okar I., Celikoz B., Comparison of functional results of nerve graft, vein graft, and vein filled with muscle graft in end-to-side neurorrhaphy. Microsurgery. 23(1): 40-48; 2003.
40. McAllister WV., Cober SR., Norman A., Using intact nerve to bridge peripheral nerve defects: an alternative to the use of nerve grafts. J. Hand Surg. Am. 26: 315-325; 2001.
41. Eren F, Yüksel F, Ülkür E, Cavdar S, Ercan F, Celiköz B. Nerve regeneration through a healthy nerve trunk: a new and hopeful conduit for bridging nerve defects. Plast. Reconstr. Surg. 116 (6): 1697-1705; 2005
42. Birch R., Nerve Repair. In: Green's Operative Hand Surgery, Elsevier Churchill Livingstone, editors, Green DP., Hotchkins RN., Pederson WC., Wolfe SW., volume I pg 1090, Philadelphia, 2005.
43. Birch R., Nerve Repair. In: Green's Operative Hand Surgery, Elsevier Churchill Livingstone, editors, Green DP., Hotchkins RN., Pederson WC., Wolfe SW., volume I pg 1094, Philadelphia, 2005.
44. Merle M., Dautel G., Vascularized nerve grafts. J. Hand. Surg. Br. 16: 483-488; 1991.
45. Bozkurt M., Kapı E., Külahçı Y., Periferik sinir onarımlarında konduit uygulamaları, temel ve güncel yaklaşımlar: literatürün gözden geçirilmesi. Türk plastik rekonstrüktif ve estetik cerrahi dergisi, Cilt 17, Sayı 2 sf 74-83, 2009.

46. Tierney M., McPhee J., Papadakis MA., Current medical Diagnosis & Treatment. International edition, 1203–1215, Lange Medical Books/McGraw-Hill, New York, 2009
47. The history of Diabetes Mellitus in Maltese Island, http://staff.um.edu.mt/csav1/books/diabetes_hist.pdf (17.06.2011)
48. History of Diabetes., <http://chinese-school.netfirms.com/diabetes-history.html> (17.06.2011)
49. Powers C., Kasper L., Fauci S., Longo L., Braunwald E., Hauser L., Jameson L., Harrison's principles of internal medicine. 16th ed, McGraw Hill, USA, 2152-2180, 2005.
50. Alan C., Nathan M., Savaria P., Elizabeth N., Copeland P., Turchin A., An Algorithm for the care of type 2 diabetes critical pathways in cardiology. A Journal of Evidence-Based Medicine, Issue: Volume 8(4), December 2009, pp 156-165.
51. Yenigün M., Altuntaş Y., Her Yönüyle Diabetes Mellitus, 2. baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2001.
52. Hatemi H., Diabetes Mellitus'un tarihçesi, Aktüel tıp dergisi, 1996, 7:479-499
53. Pekşen Y., Gülman B., Diabetes Mellitus Epidemiyolojisi, Diyabetik Ayak. 2.Baskı, Samsun Ofset, 11-26, 2000.
54. King H., Aubert RE., Herman WH., Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. Diabetes Care. 1998 Sep, 21(9):1414-1431.
55. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care, 2004 27(5):1047–53.
56. Data from the 2011 National Diabetes Fact Sheet (released Jan. 26, 2011), <http://www.diabetes.org/diabetes-basics/diabetes-statistic>
57. Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması, http://www.turkendokrin.org/files/file/TURDEP_II_2011.pdf.
58. T.C. Sağlık bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha merkezi başkanlığı Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü Başkent Üniversitesi Ulusal Hastalık Yükü

- Maliyet - Etkililik Projesi Hastalık Yüğü Final Rapor Aralık - 2004
<http://www.tusak.saglik.gov.tr/pdf/nbd/raporlar/hastalikyukuTR.pdf>
- 59.** Alvin C., Braunwald E., Fauci A., Kasper D., Hauser S., Lango D., Diabetes Mellitus, Harrison. 15th ed, McGraw-Hill Company, New York 2000
- 60.** American Diabetes Association. Diagnosis and Clasification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care, 2004;27(Suppl 1):5-10.
- 61.** Ş. İmamoğlu., C., Ersoy Ö. Diabetes Mellitus 2009 Multidisipliner yaklaşımla Tanı, Tedavi ve İzlem 2. Baskı, Deomed, İstanbul, 2009.
- 62.** American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care, volume 31, Supplement 1, January 2008
- 63.** Shaw JE., Zimmet PZ. The epidemiology of diabetic neuropathy. Diabetes Rev 1999; 7: 245-52.
- 64.** Said G. Diabetic Neuropathy: on updata. J Neurol 1996; 243: 431–440.
- 65.** Younger DS., Bronfin L., Overview of Diabetic Neuropathy. Seminars in Neurology 1996; 16: 107–113.
- 66.** Ficioglu C., Aydin A., Hakan M., Kiziltan M. Peripheral neuropathy in children with insulin-dependent diabetes mellitus. Türk J. Pediatr 1994; 36: 97–104.
- 67.** DCCT Trial Research group. The effect of intensive diabetes therapy on the development and progression of neuropathy. Ann Intern Med 1995; 122:561-68.
- 68.** Adler AI., Boyko EJ., Ahroni JH., Stensel V., Forsberg RC., Smith DG. Risk factors for diabetic peripheral sensory neuropathy: results of the seattle prospective Diabetic Foot Study. Diabetes Care 1997; 20: 1162-7.
- 69.** Young MJ., Boulton AJ., MacLeod AF., Williams DR., Sonksen PH. A multicentre study of the prevelance of diabetic peripheral neuropathy in the United Kingdom hospital clinic population. Diabetologia 1993; 36: 150-4.
- 70.** Vinik AI., Erbas T. Neuropathy. In: Ruderman N, ed. Handbook of Exercise in Diabetes. Alexandria: American Diabetes Association; 2002.p. 463-96.
- 71.** Vinik AI., Erbas T., Pfeifer MA., Feldman EL., Stevens MJ., Russel JW. Diabetic autonomic neuropathy. In: Porte D, Sherwin RS, Baron A, eds. Ellenberg & Rifkin's Diabetes Mellitus. 6th ed. New York: Mc Graw Hill; 2002. p. 789-804.

72. Malik RA. Pathology and pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetes Rev.* 1999; 7: 253-60.
73. Dyck PJ., Zimmerman BR., Vilen TH., Minnerath SR., Karnes JL., Yao JK. Nerve glucose, fructose, sorbitol, myo-inositol and fiber degeneration and regeneration on diabetic neuropathy. *N Engl J Med* 1988; 319: 542-8.
74. Sima AAF., Pierson CR. Metabolic alterations in experimental models. In: *Textbook of Diabetic Neuropathy*, Thieme, New York, 2002.
75. Carrington AL., Litchfield JE. The aldose reductase pathway and nonenzymatic glycation in the pathogenesis of diabetic neuropathy: a critical review for the end of the 20th century. *Diabetes Rev.* 1999; 7: 275-99.
76. Vlassara H. Recent progress on the biologic and clinical significance of advanced glycation end products. *J Lab Clin Med* 1994; 124: 19-30.
77. Low PA. Oxidative stress an integrative view, In: *Textbook of Diabetic Neuropathy*, Thieme, New York 2002.
78. Vinik A., Pittenger G., Stansberry K., Park TS., Erbas T., Skeen M. Neurotrophic factors, In: *Textbook of Diabetic Neuropathy*, Thieme, New York, 2002.
79. Thomas PK. Classification, differential diagnosis, and staging of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes* 1997; 46: 54-8.
80. Terzi M., Cengiz N., Onar MK. Diyabetik Nöropati O.M.Ü Tıp Dergisi 21(1):39-49,2004.
81. Eaton S., Tesfaye S. Clinical manifestations and measurement of somatic neuropathy. *Diabetes Rev* 1999; 7:312-25.
82. Andersen H., Jacobsen J. Motor function in diabetes. *Diabetes Rev* 1999; 7: 326-41.
83. Vinik AL., Erbas T., Stansberry KB., Pittenger GL. Small fiber neuropathy and neurovascular disturbances in diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diab* 2001; 109(Supple 2): 451-73.
84. Vinik AL., Erbas T., Park TS., Stansberry KB., Scanelli JA., Pittenger GL. Dermal neurovascular dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24: 1468-75.

85. Dockey P., Sharma A.K. Ultrastructural abnormalities of myelinated fibres in the tibial nerve of streptozotocin-diabetic rats. *Journal of the Neurological Sciences*. 1990, 98:327-345.
86. Zochodne DW., Guo GF., Magnowski B., Bangash M. Regenerative failure of diabetic nerves bridging transection injuries. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2007;23(6):490-496.
87. Babovic S., Rens MA., Dellon AL., Angel MF., Micheal J.I.M., Manson P.N. Nerve regeneration in diabetic rats. *Microsurgery* 1998;18:9-11.
88. Sharma A.K., Duguid I.G.M., Blanchard D.S., Thomas P.K. The effect of Insulin treatment on myelinated nerve fibre maturation and integrity and on body growth in streptozotocin-diabetic rats. *Journal of the neurological sciences* 1985;67: 285-297,
89. Bain J.R., Mackinnon S.E., Hunter R.T. Functional Evaluation of Complete Sciatic, Peroneal, and Posterior Tibial Nerve Lesions in the Rat. *Plastic and Reconstr. Surg.* 83:129-137; 1989.
90. Hare G.M.T., Evans P.J., Mackinnon S.E., Best T.J., Bain J.R., Szalai J.P., Hunter D.A. Walking track analysis: a long term assessment of peripheral nerve recovery *Plastic and Reconstr. Surg.* 89:2, 251-58; 1992.
91. Artur S.P., Meek M.F., Antonio J.A., Joao A.B., Antonio M.S. Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis. *Journal of Neuroscience Methods* 108 (2001) 1-9.
92. deMedinacelli L., Freed W.J., Wyatt R.J. An Index of the Functional Conduction of Rat Sciatic Nerve Based on Measurements Made From Walking Tracks. *Exp. Neurol.* 77:634-643; 1982.
93. Stitt AW., Jenkins AJ., Cooper ME. Advanced glycation end products and diabetic complications. *Expert Opin Investig Drugs*. 2002;11:1205–1223.
94. Stevens MJ., Feldman EL., Greene DA. The aetiology of diabetic neuropathy: the combined roles of metabolic and vascular defects. *Diabet Med.* 1995;12: 566 –579.
95. Vinik AL. Diabetic neuropathy: pathogenesis and therapy. *Am J Med.* 1999; 107:17–26.

96. Ziegler D., Ametov A., Barinov A., Dyck PJ., Gurieva I., Low PA., Munzei U., Yakhno N., Raz I., Novosadova M., Maus J., Samigullin R. Oral treatment with alpha-lipoic acid improves symptomatic diabetic polyneuropathy: the SYDNEY 2 trial. *Diabetes Care*. 2006;29(11):2365–2370.
97. Jakobsen J., Sidenius P. Decreased axonal transport of structural proteins in streptozotocin diabetic rats. *J Clin Invest*. 1980;66:292–297.
98. Dellon AL., Dellon ES., Seiler WA. Effect of tarsal tunnel decompression in the streptozosin induced diabetic rat. *Microsurgery*. 1994;15:265– 268.
99. Dellon AL., Mackinnon SE. Chronic nerve compression model for the double crush hypothesis. *Ann Plast Surg*. 1991;26:259–264.
100. Melenhorst WB., Overgoor ML., Gonera EG., Tellier MA., Houpt P. Nerve Decompression Surgery as Treatment for Peripheral Diabetic Neuropathy Literature Overview and Awareness Among Medical Professionals, *Ann. Plast. Surg*. 2009, 63(2):217-221.
101. Dellon ES., Dellon AL. Functional assessment of neurologic impairment: track analysis in diabetic and compression neuropathies. *Plast Reconstr Surg*. 1990;88:686–694.
102. Dellon AL. Diabetic neuropathy: review of a surgical approach to restore sensation, relieve pain, and prevent ulceration and amputation. *Foot Ankle Int*. 2004;25:749 -755.
103. Biddinger KR., Amen KJ. The role of surgical decompression for diabetic neuropathy. *Foot Ankle Clin N Am*. 2004;9:239–254. 7.
104. Dellon AL. Treatment of symptomatic diabetic neuropathy by surgical decompression of multiple peripheral nerves. *Plast Reconstr Surg*. 1992;89:689 – 697. 8.
105. Caffee HH. Treatment of diabetic neuropathy by decompression of the tibial nerve. *Plast Reconstr Surg*. 2000;106:813–815.
106. Wood WA., Wood MA. Decompression of peripheral nerves for diabetic neuropathy in the lower extremity. *J Foot Ankle Surg*. 2003;42:268-275. 10.
107. Wieman TJ., Patel VG. Treatment of hyperesthetic neuropathic pain in diabetics, decompression of the tarsal tunnel. *Ann Surg*. 1995;221:660-665.

- 108.** Rader A. Surgical decompression in lower-extremity diabetic peripheral neuropathy. *J Am Podiatr Med Assoc.* 2005;5:446-450.
- 109.** Valdivia JM., Dellon AL., Weinand ME., Maloney CT Jr. Surgical treatment of peripheral neuropathy: outcomes from 100 consecutive decompressions. *J Am Podiatr Med Assoc.* 2005;95(5):451-454.
- 110.** Siemionow M., Alghoul M., Molski M., Agaoglu G. Clinical Outcome of Peripheral Nerve Decompression in Diabetic and Nondiabetic Peripheral Neuropathy, *Ann. Plast. Surg.*, 2006;56(4):385-390.
- 111.** Aszmann OC., Kress KM., Dellon AL. Results of decompression of peripheral nerves in diabetics: a prospective, blinded study. *Plast Reconstr Surg.* 2000;106:816-822.
- 112.** Dellon AL. Preventing foot ulceration and amputation by decompressing peripheral nerves in patients with diabetic neuropathy. *Ostomy/Wound Management.* 2002;48:36-45.
- 113.** Karagöz H., Yüksel F., Ülkür E., Çeliköz B. Early and late results of nerve decompression procedures in diabetic neuropathy: A series from Türkiye, *J Reconstr Microsurg.* 2008 Feb;24(2):95-101.
- 114.** Sharma AK., Bajada S., Thomas PK. Influence of streptozotocin-induced diabetes on myelinated nerve fibre maturation and on body growth in rat, *Acta Neuropathol.* 1981;53(4):257-265.
- 115.** Jakobsen J. Early and preventable changes of peripheral nerve structure and function in insulin-deficient diabetic rats, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 1979;42(6):509-518.
- 116.** Walker D., Carrington A., Cannan SA., Sawicki D., Sredy J., Boulton AJ., Malik RA. Structural abnormalities do not explain the early functional abnormalities in the peripheral nerves of the streptozotocin diabetic rat, *J. Anat.* 1999;195(Pt 3):419-427.
- 117.** Ceylan M,F., Periferik Sinir İyileşmesi Üzerine Etil Alkolün Etkisi, *Tıpta Uzmanlık Tezi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Malatya*, 2006.
- 118.** Sharma AK., Thomas PK. Peripheral nerve regeneration in experimental diabetes. *Journal of the neurological sciences.* 1975, 24:417-424

- 119.** Sigaucho-rossel D., Fromy B., Saumet JL. Diabetic neuropathy in animal models. Drug recovery today: disease models/metabolic disorders. Vol. 4, 39-44, 2007.
- 120.** Moore SA., Peterson RG., Felten DL., O'Connor BL. Ultrastructural axonal pathology in experimentally diabetic and aging control rats Brain Research Bulletin. Vol. 8, pp. 317-323, 1982
- 121.** Kennedy JM., Zochodne DW. The regenerative deficit of peripheral nerves in experimental diabetes: its extent, timing and possible mechanisms. Brain (2000), 123, 2118-2129
- 122.** Dyck PJ., Lais AC., Gianni C., Engelstad JK. Structural alterations of nerve during cuff compression. Neurobiology, Vol. 87, pp. 9828-9832, 1990
- 123.** Sienionow M., Kulahci Y., Agaoglu G. Diabetic Neuropathy: Pathogenesis and Treatment. In: Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders Qureshi GA., Parvez SH editors, pp 543-579, Elsevier 2007.