

**165154**

T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULAN  
SIÇANLARDA SİYATİK SİNİRDE LAMİNİN, TİP 4  
KOLLAGEN VE FİBRONEKTİN DAĞILIMLARININ  
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK  
İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. AHMET NACAR**

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Suna ÖMEROĞLU

**ANKARA - 2005**

## TEŞEKKÜR

Bu deneysel çalışmanın her aşamasında sabırla bana yol gösteren ve yardım eden tez danışmanım Doç. Dr. Suna ÖMEROĞLU'na, uzmanlık eğitimim süresince tecrübeleri ve fikirleri ile bana destek olan Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN'a, Türkçe'yi doğru kullanma konusunda duyarlılığımı artıran Prof.Dr. M. Tahir Hatiboğlu'na ve benim için iyi bir öğrenme ortamı oluşmasındaki katkılarından dolayı Anabilim dalımızın diğer öğretim üyeleri Prof.Dr. Celal Ilgaz ve Prof.Dr.Candan Özoğul'a çok teşekkür ediyorum. Ayrıca uzmanlık eğitimime başladığım yıl kendisini tanımaktan çok mutlu olduğum ancak amansız bir hastalık sonucu aramızdan ayrılan Prof. Dr. Müfide Görgün'ü de rahmetle anıyorum.

Tez çalışmalarımda büyük katkıları olan Öğr. Gör. Çiğdem Elmas'a, ve başta Uzm. Dr. Neşe Lortlar olmak üzere diğer çalışma arkadaşlarıma, ve laboratuvar çalışmalarında desteğini gördüğüm Teknisyen Recep Orhan ve Tekin Koçak'a teşekkür ederim.

Son olarak bu büyük heyecanı benimle paylaşan Eşim Uzm. Biyolog Emel NACAR'a ve aileme sevgi ve şükranlarımı sunarım.

## İÇİNDEKİLER

<b>I.</b>	<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>GENEL BİLGİLER</b>	
	II.1. SİNİR SİSTEMİ EMBRİYOLOJİSİ	5
	II.2. SİNİR SİSTEMİ ANATOMİSİ	11
	II.3. SİNİR SİSTEMİ HİSTOLOJİSİ VE FİZYOLOJİSİ	17
	II.4. BAZAL LAMİNA	33
	II.4.1. LAMİNİN	35
	II.4.2. FİBRONEKTİN	39
	II.4.3. TİP IV KOLLAGEN	43
	II.4.4. İNTEGRİNLER	45
	II.5. SİNİR DOKUSUNDA YARALANMA VE YENİLENME	50
	II.6. DİYABETES MELLİTUS VE KRONİK KOMPLİKASYONLARI	52
<b>III.</b>	<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>59</b>
<b>IV.</b>	<b>BULGULAR</b>	<b>62</b>
<b>V.</b>	<b>TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	<b>80</b>
<b>VI.</b>	<b>ÖZET</b>	<b>94</b>
<b>VII.</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>95</b>
<b>VIII.</b>	<b>KAYNAKLAR</b>	<b>96</b>

## I. GİRİŞ ve AMAÇ

Sinir sistemi, dış ortamdan ve vücut içinden gelen uyarıları almak, iletmek ve yanıtlamak için farklılaşmış hücrelerden oluşur. Merkezi sinir sistemi beyin, beyincik, beyin kökü ve omuriliği içerir. Periferik sinir sistemi ise kraniyal ve spinal sinirler, gangliyonlar ve reseptörleri kapsar. Periferik sinir sistemi, içinde bulunduğumuz dış ortam ile merkezi sinir sistemi arasındaki bağlantıyı sağlar. Dış ortamdan alınan bilgiler, periferik duyu sinirlerince merkezi sinir sistemine getirilir. Uyarı burada değerlendirilir ve oluşan yanıt ilgili uç organa yine periferik sinirler aracılığıyla taşınır. Periferik sinir yapısını ve işlevini olumsuz yönde etkileyen bazı nedenlerle bu veri alış- verişi kesintiye uğrayabilir ve vücut içi ile dışı arasındaki denge bozulabilir.

Periferik sinirlerin yapı ve işlevinin bozulmasına periferik nöropati denilir. Bu akut yada kronik olabilir. En iyi bilinen akut nöropati Guillain-Barre sendromudur. Çoğunlukla solunum yolu enfeksiyonlarını izleyerek gelişir. Kronik nöropatiler ise genetik hastalıklara (akut intermitan porfiri, Charcot-Marie-Tooth hastalığı), metabolik (diyabet, B<sub>12</sub> vitamini eksikliği) ve besinsel bozukluklara (alkolizm, tiyamin eksikliği), karsinomlara (akciğer kanseri), zehirlenmelere (kurşun) ve immünolojik bozukluklara (amiloidoz, plazma hücresi hastalıkları) koştur olarak ortaya çıkabilir.<sup>1,2</sup> Tüm bu nedenlerin başında, sinir ve dolaşım sistemi organlar başta olmak üzere birçok organı etkileyen diyabet gelir. Diyabet dünya üzerinde gittikçe yaygınlaşan bir sağlık sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, 2010 yılında dünya üzerinde diyabetli hasta sayısı yaklaşık 220

milyon olacaktır. Artan görülme sıklığı ve zamanla tüm vücutta oluşturduğu yıkıcı etkiler, diyabeti günümüzde en önde gelen sağlık sorunlarından biri yapmıştır.

Diyabetteki temel patoloji, kan glukoz düzeyinin çeşitli nedenlerle sürekli yüksek olmasıdır. Bu yüksek glukoz düzeyi zamanla, başta periferik sinirler olarak, pek çok organda geri dönüşümsüz arazlara neden olmaktadır. Diyabete bağlı periferik sinir tutulumuna diyabetik nöropati denir. Bu olgu diyabetli hastaların yaklaşık yarısında görülmektedir.<sup>3</sup> Sinir yapısındaki bozulmanın geri dönüşümsüz olması, yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemesi ve tedavi giderlerinin çok yüksek olması son yıllarda birçok araştırmacıyı bu konuya yöneltmiştir. Vücutta diyabetin neden olduğu değişiklikleri anlamaya yönelik bu çalışmalar sonucunda, diyabette sinir yenilenmesi konusu da gündeme gelmiştir. Diyabetik nöropatide, sinir yenilenmesini hızlandırabilen ve kolaylaştırabilen pek çok iç ve dış faktör tanımlanmıştır. Bunların başında büyüme faktörleri, hücre adhezyon molekülleri, genler ve hücre dışı matriks bileşenleri gelmektedir.

Hücre dışı matrikste yer alan glikoproteinler hücre adhezyonu, çoğalması, farklanması, göçü, moleküler seçicilik ve geçirgenlik gibi çok değişik hücresel erklerde rol alarak hücresel düzenlenimlerin gelişim ve sürekliliğini sağlarlar. Özellikle bazal membran yapısının önemli bir bileşeni olan lamininin, embriyonal gelişim sürecinde ve sinir yaralanmalarında akson-hedef doku etkileşiminde çok önemli işlevleri vardır.<sup>4,5,6,7,8</sup>

Laminin, Engelbreth-Holm-Swarm tümörü matriksinden elde edilmiştir. Bazal membranın en önemli glikoproteinlerindedir. Her laminin molekülü  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  polipeptit zincirlerinden oluşan 500-900 kDluk bir heterotrimerdir. Bir zincirin

ağırlığı ise 200-450 kD arasındadır. Şu ana değin 5  $\alpha$ , 3  $\beta$  ve 3  $\gamma$  zinciri tanımlanmıştır. Tüm epitel ve endotel hücreleri, düz kas, iskelet ve kalp kası hücreleri, kemik iliği hücreleri, sinirlerce ve retinada sentezlenir. Hücre-hücre dışı matriks etkileşiminin yanında hücre adhezyonu, hücre göçü ve farklılaşmasında işlevseldirler. Etkilerinin çoğunu integrinler aracılığı ile yaparlar.(makale)

İntegrinler, tüm insan hücrelerinde bulunan, hücre-hücre ve hücre-hücre dışı matriks ilişkilerine katılan bir adezyon molekül sınıfıdır. Hücre dışı adezyon proteinlerinin hücre iskeletine sıkıca tutunmasını sağlayan integral membran glikoproteinleridir. Farklı alfa ve beta altbirimlerden oluşan dimerleridir ve fibronektin, kollagen ve laminin için hücre yüzey reseptörleri içerirler. İntegrinler kovalent olmayan bağlarla birbirine bağlanmış alfa ve beta altbirimlerinden oluşmaktadır. İntegrin ailesi en az 14 alfa, 8 yada daha fazla beta altbirimini kapsarlar. Beta 1 ve beta 3 alt grupları fibronektin, kollajen ve laminine bağlanırken, beta 2 alt grubu çoğunlukla hücre-hücre adhezyonuyla ilişkili bulunmuştur.  $\alpha 3\beta 1$  ve  $\alpha 6\beta 1$  integrinler ve daha zayıf şekilde  $\alpha 1\beta 1$  ve  $\alpha 2\beta 1$  integrinler, laminin reseptörü olarak işlev görürler.  $\alpha 4\beta 1$  ve  $\alpha 5\beta 1$  integrinler de fibronektinin farklı serilerini tanır.  $\alpha 1\beta 1$ ,  $\alpha 2\beta 1$  ve  $\alpha 3\beta 1$  ise kollajen reseptörüdür.

Fibronektin, doku onarımı, embriyogenezis, kan pıhtılaşması ve hücre adhezyonu ve göçü gibi pekçok hücreysel olayda rol oynar. 220-250 000 Dalton'luk iki alt birimin disülfid bağıyla biraraya gelmesiyle oluşan heterodimerdir. Amino asit dizilimleri, sekonder ve tersiyer yapıları aynı; biyolojik aktiviteleri, sudaki çözünürlükleri birbirinden farklı 2 ana şekli

vardır. bunlardan birisi hücre dışı matrikste bağlayıcı rol oynayan ve çözünmeyen dimer şeklindedir. Diğeri ise plazmada bulunur ve disülfid bağı çözünebilir şeklindedir. Plazma şekli hepatositlerce sentezlenirken hücre dışı matriks şekli fibroblastlar, kondrositler, endotel hücreleri, makrofajlar ve bazı epitel hücrelerince sentezlenir. Hücresel şekli yüksek tutundurucu özellik gösterir. Yapısında heparin, fibrin, jelatin, ve integrinlere özgü bağlanma bölgesi olan RGD dizilimi içerir.

Tip 4 kollagen, bazal membranın en önemli yapıtaşlarından biridir. Molekül ağırlığı 550 kD'dur. Alfa 1 ve alfa 2 olarak adlandırılan iki çeşit zinciri vardır. Üçlü heliks yapısındadır. Laminin, heparan sülfat ve heparinle etkileşir. Tüm epitel ve endotel hücreleri ve yenilenen hepatositlerce sentezlenir. Diğer kollagen tiplerine karşın daha çok hidroksilizin ve hidroksiprolin içerir. Bazal laminada bulunan şekilde iki adet alfa 2 ve bir alfa 1 zinciri kapsar. Bazal membranda en çok bulunan protein olduğundan Tip IV kollagen metabolizmasındaki sorunlar, hücre farklılaşması ve göçünde önemli aksaklıklara neden olmaktadır.

Bu çalışmada, deneysel olarak diyabet oluşturulmuş sıçan siyatik sinirinde laminin, fibronektin ve tip IV kollagen dağılımlarının immünohistokimyasal olarak araştırılması amaçlandı.

Bu çalışma ile elde edilecek bulgularla, periferik sinir hücre dışı matriksinde, diyabete koşut gelişen yapı ve düzenlenim değişikliklerinin aydınlatılması tedaviye yönelik klinik çalışmalara ışık tutacaktır kanısındayız.

## **II. GENEL BİLGİLER**

### **II.1. Sinir Sistemi Embriyolojisi**

Sinir sistemi üçüncü haftanın başlarında, terlik şeklindeki kalınlaşmış ektodermal bir kalınlaşma halinde belirir. Buna nöral plak denir. Bu plak, primitif çukurun önünde, orta-dorsal bölgede yerleşmiştir. Nöral plağın yan kenarları, kısa sürede yükselir ve nöral katlantıları oluşturur.<sup>9,10,11</sup>

Gelişimin daha ileri evrelerinde, nöral katlantılar daha da yükselir, orta hatta birbirine yaklaşır ve sonuçta nöral tüpü oluşturmak üzere kaynaşırlar. Kaynaşma servikal bölgede başlar ve baş-kuyruk yönünde ilerler. Ancak, embriyonun baş ve kuyruk bölgelerinde kaynaşma daha geç olaylandığından, nöral tüp ön ve arka sinir delikleri (nöropor) ile amniyon boşluğuyla ilişkidir. Ön sinir deliği tam olarak 18-20 somit evresinde (25. gün), arka sinir deliği ise bundan yaklaşık iki gün sonra kapanır.<sup>10,12,13</sup>

Nöral tüpün sefalik ucunda, primer beyin vezikülleri denilen üç genişleme ortaya çıkar: (a) prosensefalon yada önbeyin, (b) mezensefalon yada ortabeyin ve (c) rombensefalon yada arkabeyin. Sefalik uçta aynı süreçte, iki büküntü (fleksür) oluşur: (a) arka beyinle medulla spinalisin birleşim yerinde servikal büküntü, ve (b) ortabeyin bölgesinde sefalik büküntü. Önbeyinden beyin hemisferleri, talamus, hipotalamus, epifiz ve hipofiz bezleri; ortabeyinden mezensefalon, arkabeyinden ise pons, bulbus ve medulla spinalis gelişir.<sup>14</sup>

#### **Medulla Spinalis**

#### **Nöroepitelyal, Manto ve Marjinal Katmanlar**

Yeni kapanmış nöral tüpün duvarları, nöroepitelial hücrelerden yapılıdır. Bu hücreler, duvarın tüm kalınlığı boyunca uzanarak, kalın bir yalancı çok katlı epitel oluştururlar. Hücreler birbirleriyle, bağlantı birimleri ile ilişkidir. Nöral oluk evresinde ve tüpün kapanmasından hemen sonra, bu hücreler hızla bölünmeye başlayarak, giderek daha fazla sayıda nöroepitelial hücre üretirler. Sonuçta bu hücreler tümüyle nöroepitelial katman yada nöroepiteliyum olarak adlandırılır.<sup>14,15</sup>

Nöral tüp kapandıktan sonra, nöroepitelial hücreler geniş, yuvarlak çekirdekli, soluk sitoplazmalı ve çekirdekçikleri koyu boyanan bir diğer hücre tipini oluşturmaya başlarlar. Bu hücreler, ilkel sinir hücreleri yada nöroblastlardır. Nöroblastlar, nöroepitelial katmanın çevresinde manto katmansı olarak bilinen bir kat oluştururlar. Bu kat, daha sonra medulla spinalisin gri maddesini yapacaktır.<sup>16</sup>

Medulla spinalisin en dış katmanı, manto katmansındaki nöroblastlardan çıkan sinir liflerini içerir ve marjinal katman olarak isimlendirilir. Bu kat sinir liflerinin myelinizasyonu sonucu beyaz bir görünüm alır ve medulla spinalisin beyaz maddesini yapar.<sup>9,15</sup>

### **Bazal, Alar, Tavan ve Taban Plakları**

Manto katmansına sürekli yeni nöroblastların katılmasının bir sonucu olarak, nöral tüpün her iki yanında, bir dorsal ve bir de ventral kalınlaşma belirir. Bazal plaklar olarak bilinen ventral kalınlaşmalar, ventral motor boynuz hücrelerini içerir ve medulla spinalis'in motor bölümünü oluştururken, alar plaklar olarak isimlendirilen dorsal kalınlaşmalar da duyu (sensorial) bölgelerini yaparlar. Bu iki kalınlaşma bölgesi arasındaki sınırı, sulkus limitans denilen longitudinal bir

oluk oluşturur. Nöral tübün dorsal ve ventral orta hat bölgeleri tavan ve taban plakları kapsar. Bu bölgeler nöroblast içermezler ve asıl görevleri bir yandan diğer yana geçen sinir liflerine zemin oluşturmaktır. <sup>14,16,17</sup>

Ventral motor boynuz ve dorsal sensoryal (duyu) boynuz ek olarak, bu iki bölge arasında kümelenen bir grup nöron, küçük bir ara boynuzun oluşmasına neden olur. Bu boynuzda otonom sinir sisteminin sempatik bölümüne ait nöronlar bulunur. Bu yapılanma medulla spinalisin torasik ve üst lumbar (L<sub>2</sub>-L<sub>3</sub>) bölgelerinde görülür. <sup>11</sup>

## **Histolojik Farklanma**

### **Sinir Hücreleri**

Nöroblastlar yada ilkel sinir hücreleri, nöroepitelial hücrelerin bölünmesiyle oluşurlar. Başlangıçta, lümene doğru uzanan merkezi bir uzantıya (geçici dendrit) sahipken manto katmansına göç ettiklerinde bu çıkıntı kaybolur. Nöroblastlar geçici bir süre için yuvarlak şekilli ve kutupsuz hale gelirler. Farklanmanın daha ileri aşamasında, hücre gövdesinin aksi taraflarında iki yeni sitoplazmik uzantı belirir, böylelikle bipolar nöroblastlar oluşur.

Hücrenin bir tarafındaki uzantı hızla uzayarak primitif aksonu meydana getirirken, diğer taraftaki uzantıda, ilkel dendrit denilen bazı sitoplazmik dallanmalar ortaya çıkar. Hücre bu haliyle multipolar nöroblast olarak adlandırılır ve gelişmesini sürdürerek erişkin sinir hücresi (nöron) haline gelir. Hücre nöroblast haline geldikten sonra, bölünme yeteneğini kaybeder. Bazal plaktaki nöronların aksonları, marjinal bölgeyi delerek medulla spinalisin ventral tarafında

izlenirler. Spinal sinirlerin ventral motor kökü olarak bilinen bu aksonlar, medulla spinalis'ten kaslara giden motor uyarıları taşırlar. Dorsal duyu boynuzundaki (alar plak) nöronların aksonları ise medulla spinalis'in marjinal katmanına girerek, daha aşağı yada yukarı düzeylere ulaşan bağlantı nöronlarını yaparlar.<sup>16,17,18</sup>

### **Glia Hücreleri**

İlkel destek dokusu hücreleri olan glioblastların büyük bir kısmı, nöroblastların üretiminin durmasını izleyerek, nöroepitelial hücrelerce oluşturulur. Glioblastlar, nöroepitelden manto ve marjinal katmanlara göç ederler. Manto katmanında farklanarak protoplazmik ve fibröz astrositlere dönüşürler.

Bir diğer destek hücresi tipi de, olasılıkla glioblastlardan köken alan oligodendroglia hücreleridir. Esas olarak marjinal katmanda bulunan bu hücre, burada inen ve çıkan aksonların çevresindeki myelin kılıflarını oluşturur.

Gelişimin ikinci yarısında, merkezi sinir sisteminde üçüncü bir destek hücresi tipi olan mikroglia hücreleri görülür. Mezenşimal kökenli olan bu hücreler, yüksek fagositoz erkine sahiptirler.

Nöroepitelial hücreler, nöroblast ve glioblastlara farklandıktan sonra, medulla spinalisin santral kanalını döşeyen ependimal hücreleri oluştururlar.<sup>18</sup>

### **Nöral Krista Hücreleri**

Nöral plağın katlanması sırasında, nöral oluğun her iki kenarı boyunca farklı birer hücre grubu ortaya çıkar. Bu hücreler ektodermal kökenlidirler ve nöral krista hücreleri olarak isimlendirilirler. Nöral tüp ile yüzeydeki ektodermi arasında geçici bir bölge oluştururlar. Bu ara bölge nöral tüpün tüm uzunluğu boyunca uzanır ve krista hücreleri buradan laterale doğru göç ederler. Bu

hücrelerin bazıları daha sonra, spinal sinirlerin duyu ganglionlarını (dorsal kök ganglionu) yapar.

Gelişimin daha ileri dönemlerinde, duyu ganglionlarının nöroblastları iki uzantı oluşturur. Santral olarak büyüyen uzantı, nöral tübün dorsal bölümüne girer. Medulla spinaliste, ya arka boynuzda sonlanırlar, ya da marjinal katman içinden daha üst beyin merkezine yükselirler. Bu uzantılara topluca spinal sinirin dorsal duyu kökü denir. Perifere doğru büyüyen uzantılar ise, ventral motor kök lifleriyle birleşirler ve spinal sinirin gövdesinin oluşumuna da katılırlar. Böylece, duyu reseptör organlarında sonlanırlar. Kısaca, duyu ganglionlarındaki nöroblastlar, arka kök nöronlarını oluştururlar.

Nöral kista hücreleri, duyu ganglionlarını oluşturmanın yanısıra, sempatetik nöroblastlara, Schwann ve pigment hücrelerine, odontoblastlara, meninkslere ve yutak yaylarının mezenşimine de farklanırlar.<sup>18,19</sup>

### **Spinal sinirler**

Motor sinir hücreleri, medulla spinalisin bazal plaklarındaki (ön boynuz) sinir hücrelerinden köken alarak, gelişimin dördüncü haftasında oluşurlar. Demetler şeklinde biraraya gelen bu lifler ventral sinir kökleri olarak isimlendirilirler. Dorsal sinir kökleri de, dorsal kök ganglionlarındaki spinal ganglion hücrelerinden oluşmuş lif demetleri şeklindedir. Bu gangliondan çıkan merkezi çıkıntılar bir demet halinde arka boynuzların aksi yönünde spinal kordun içine doğru büyürler. Distal çıkıntılar ventral sinir kökleriyle birleşerek spinal siniri oluştururlar. Hemen ardından da spinal sinir, dorsal ve ventral primer ramus'lara bölünür. Dorsal primer ramus dorsal aksiyel kasları, vertebral

eklemleri ve sırtın derisini sinirlendirir. Ventral primer ramus ise, ekstremiteleri ve vücut ön duvarını sinirlendirir ve ana sinir pleksuslarını (kranial, brakial, lumbosakral) oluşturur.<sup>19,20</sup>

### **Miyelinizasyon**

Periferik sinirlerin miyelinizasyonu Schwann hücrelerince gerçekleştirilir. Nöral kristadan kaynaklanan bu hücreler, perifere doğru göç ederek aksonların çevresini sararlar ve böylelikle nörolemma kılıfını oluştururlar. Fetal yaşamın dördüncü ayının başında, birçok sinir lifi, üzerinde Schwann hücresi membranının akson üzerinde birçok kez kıvrılması sonucu oluşan miyelin birikmesiyle, beyazımsı bir görünüm kazanmaya başlarlar.

Medulla spinalis içindeki sinir liflerini çevreleyen myelin kılıfı, oligodendroglia hücrelerince oluşturulduğu için, tümüyle farklı bir kaynağa sahiptir. Her ne kadar spinal kordondaki sinir liflerinin myelinasyonu, intrauterin yaşamın yaklaşık dördüncü ayında başlarsa da, yüksek beyin merkezlerinden medulla spinalise inen motor liflerin bazıları miyelinizasyonunu postnatal birinci yaşta tamamlar. Sinir sistemindeki traktuslar, fonksiyon görmeye başladıklarında miyelinize olurlar.<sup>18,19</sup>

## II.2. Sinir Sistemi Anatomisi

Sinir sistemi anatomik olarak ikiye ayrılır:

Merkezi Sinir Sistemi (MSS): Beyin ve omurilikten oluşur.

Periferik Sinir Sistemi (PSS): Kranial ve spinal sinirler ve ilgili ganglionlardan oluşur.

MSS, birbirinin devamı şeklinde olan beyin ve medulla spinalis'ten oluşur. Medulla spinalis canalis vertebralis'te, beyin ise cavum cranii'de bulunur. MSS'nin her iki bölümü de substantia alba ve substantia grisea denilen iki ayrı yapıyı kapsar. Beyinde substantia alba içte, substantia grisea dışta; omurilikte ise substantia alba dışta ve grisea içte yerleşiktir.<sup>21</sup>

Cerebrum, beyaz cevherden yapıli corpus callosum'la birbirine bağlanan iki hemispherium cerebralis'ten oluşur. İki hemisfer birbirinden, aralarına falx cerebri'nin girdiği fissura longitudinalis cerebri ile ayrılırlar.<sup>22,23</sup>

Her hemisferin üst katmanı, gri maddeden (korteks) oluşur. Cortex cerebri, sulcus yada yarıklarla ayrılmış gyrus'lardan oluşmuştur. Bazı büyük oluklar her hemisferin yüzeyini loblara ayırırlar.

Her iki hemisfer içinde bulunan boşluklara ventriculus lateralis denir. Ventriculus lateralis'ler foramen interventriculare aracılığıyla üçüncü ventriküle bağlanır.

Cerebrum diencephalon, mesencephalon ve rhombencephalon denilen üç bölümden oluşur. Diencephalon talamus, hipotalamustan, epitalmus ve subtalamusu içerir. Beynin üçüncü ventrikülünü çevreler ve serebral hemisferler tarafından kuşatılır.<sup>22,24</sup>

Hypothalamus, üçüncü ventrikül tabanını ve dış yan duvarının alt kısmını oluşturur.

Mesencephalon, diencephalon ve 3. ventrikül ile pons arasında yer alır. Prosencephalon ile rhombencephalon'u birbirine bağlar. İki yanda birer pedunculus cerebri'den oluşur. Mesencephalon'un dar boşluğuna aqueductus cerebri denir ve üçüncü ventrikülü dördüncü ventriküle bağlar.<sup>25,26</sup>

Rhombencephalon pons, bulbus ve cerebellum'dan oluşur. Pons cerebellum'un ön yüzünde, mesencephalon'un aşağısında ve bulbus'un üstünde yer alır. Cerebellum'un iki yarımını birleştiren sinir liflerinden oluşmuştur.

Bulbus, koni şeklindedir ve pons'u medulla spinalis'e bağlar.

Cerebellum, fossa cranii posterior'da tentorium cerebelli'nin altında, pons'un ve bulbus'un arkasında yerleşiktir. Vermis denilen orta kısımla birbirine bağlı iki hemisferden oluşur.

Rhombencephalon'un boşluğu dördüncü ventrikül'dür. Aşağıda medulla spinalis'in canalis centralis'i ile devam eder.

Beyin, a. carotis interna ve a. vertebralis tarafından beslenir. Beyin venleri, kas dokusu içermeyen, çok ince duvarlı, kapaksız venlerdir. Beyinde serebral, serebellar ve beyin sapı venleri bulunur.<sup>22,27,28</sup>

Medulla spinalis, MSS'nin canalis vertebralis içinde kalan kısmıdır. Ortalama 40-45 cm uzunluğunda, 1 cm çapında ve 30 gr ağırlığındadır. MSS'nin %2'sini oluşturmasına karşın çok önemli işlevleri vardır. Başlıca işlevleri:

1) Vücudun büyük bölümünden gelen uyarılar medulla spinalisten geçerek beyne ulaşır.

2) İstemli hareketleri başlatan uyarılar yine medulla spinalisten geçerek iskelet kaslarına gider.

3) Birçok organın otonomik innervasyonunu sağlayan lifler buradan geçer.

Medulla spinalis atlas kemiğinin üst kenarı düzeyinde beynin, medulla oblongata bölümü ile birleşir. Koni şeklindeki alt ucu erişkin erkeklerde 1. ve 2. lumbal vertebralar arasındaki discus intervertebralis düzeyine, kadınlarda ise 2. lumbal vertebranın ortaları yada alt sınırına kadar uzanır. Koni şeklindeki alt ucuna conus medullaris denir. Medulla spinalis, conus medullaris'ten aşağı doğru filum terminale olarak uzanır. Medulla spinalis, meninges denilen 3 kat zarla sarılıdır. Bu zarlar, dıştan içe doğru dura mater, arachnoidea ve pia mater'dir.

Medulla spinalis, 33 segmentten oluşur. Her bir spinal segmentten bir çift spinal sinir çıkar. Ancak son iki segmentin rudimenter olması nedeniyle, sadece bir çift koksigeal spinal sinir vardır.

İçte gri, dışta beyaz madde içerir. Gri cevherde hücre gövdeleri ve myelinsiz lifler, beyaz cevherde ise myelinli sinir lifleri bulunur.<sup>21,29</sup>

### **Periferik Sinir Sistemi**

Kranial sinirler, spinal sinirler ve ilişkili ganglionlardan oluşmuştur.

12 çift olan kranial sinirler, beynin bulbus, pons ve mesencephalon bölümlerine bağlanırlar. Bunlar kafa iskeleti tabanında bulunan geçitlerden geçerek dışarı çıkar yada içeri girerler. Kafa çiftleri, Romen rakamlarıyla gösterilebildiği gibi, her birinin özel isimleri de vardır. Bunlar:

I. N. Olfactorius

II. N. Opticus

III. N. Oculomotorius

IV. N. Trochlearis

V. N. Trigemini

VI. N. Abducens

VII. N. Facialis

VIII. N. Vestibulocochlearis

IX. N. Glossopharyngeus

X. N. Vagus

XI. N. Accessorius

XII. N. Hypoglossus

Medulla spinalis'den çıkan ve canalis vertebralis içinde bulunan ön ve arka kökler, kanaldan çıkabilmek için foramen intervertebrale'de biraraya gelerek spinal siniri oluştururlar. 3 koksigeal segmentin son ikisi rudimenter olduğu için de, bunlardan spinal sinir çıkmaz. Bu nedenle 33 medulla spinalis segmentinden 31 çift spinal sinir çıkar. 31 çift spinal sinirin bölgelere göre dağılımı şu şekildedir:

8 tane nervi cervicales

12 tane nervi thoracici

5 tane nervi lumbales

5 tane nervi sacrales

1 tane nervi coccygeus

**Plexus cervicalis:** İlk 4 servikal spinal sinirin ön dallarının birleşmesinden oluşur. Motor dalları ile baş ve çene hareketlerini sağlarken, duyu dalları ile kafa

arkası derisinin duyusunu alır. Frenik sinir bu pleksustan doğar. Vücudun en önemli spinal siniridir. Solunum işlevi için en hayati kas olan diyafragma kasını sinirlendirir.

**Plexus brachialis:** Özellikle üst ekstremitede dağılan bu pleksus, 5.-8. servikal ve 1. torakal spinal sinirlerin ön dallarının tümü ile 4. servikal ile 2. torakal sinirlerin ön dallarından gelen bir grup liften oluşur. Motor dalları ile omuz kuşağı, üst göğüs duvarı, kol ve el kaslarını sinirlendirirken, duyu dalları ile omuz ve ellerin deri, kemik ve kas duyularını alır.

**Plexus lumbosacralis:** Lumbal, sakral ve koksigeal spinal sinirlerin ön dalları oluşturur. Plexus lumbales ve sacralis alt ekstremiteyi; plexus sacralis ayrıca plexus pudentales aracılığı ile perineum'u, plexus coccygeus aracılığı ile de koksigeal bölgeyi sinirlendirir.<sup>21,28,30</sup>

#### **N. ischiadicus (Siyatik Sinir)**

Plexus sacralis'in dalıdır. Vücudun en kalın siniridir. Ayak derisinin tümü ile bacak derisinin büyük kısmına duyusal dallar, uyluğun arka tarafındaki kaslar ile bacak ve ayağın tüm kaslarına somatomotor lifler gönderir. Plexus sacralis'in devamı şeklinde olan siyatik sinir pelvisi foramen infrapiforme'den terkeder; m. priformisin alt kenarından uyluğun alt 1/3'üne kadar uzanır. Burada uç dalları olan n. tibialis ile n. peroneus communis'e ayrılır. N. tibialis daha kalın olup, siyatik sinirin devamı şeklinde görülür.<sup>21,22</sup>

Siyatik sinir gluteal bölgede m. gemellus superior, m. gemellus inferior, m. obturator internus ve m. quadratus femoris'in arkasında, m. gluteus maximus'un önünde bulunur.

Burada n. cutaneus femoris posterior ve a. glutea inferior ile birlikte seyreder. Uylukta m. adductor magnus'un arkasında ve m. biceps femoris'in önünde bulunur. M. biceps femoris'in uzun başı siniri yukarıdan aşağıya ve içten dışa doğru çaprazlar.

Plexus sacralis'in arka bölüm liflerinden n. peroneus communis, ön bölüm liflerinden ise n. tibialis oluşur. Bu iki sinir birlikte, siyatik sinir adı altında fossa poplitea yakınına kadar, bir kılıfla sarılı olarak uzanır. Ancak fossa poplitea yakınında birbirinden ayrılırlar.

Terminal dalları olan n. tibialis ve n. peroneus communis'e ayrılmadan önce n. tibialis bölümünden, kalça eklemine duyuşsal dallar ile, m. semitendinosus, m. semimembranosus ve m. biceps femoris'in uzun başına somatomotor dallar; n. peroneus communis bölümünden ise sadece m. biceps femorisin kısa başına somatomotor dallar gelir.

N. tibialis ve n. peroneus communis olarak iki terminal dalı vardır. N. Tibialis, terminal dalların daha kalın olanıdır. N. peroneus communis, siyatik sinirin terminal dallarından daha dışta ve ince olanıdır.<sup>21,29</sup>

### II.3. Sinir Sistemi Histolojisi ve Fizyolojisi

Sinir dokusu, bilgi alışverişi için özelleşmiş bir dokudur. Bu dokunun iki esas işlevi vardır:

- 1) Isı, ışık gibi duyuşsal uyarıların ya da organizmanın iç ve dış ortamında oluşun mekanik ve kimyasal değışimlerin oluşturduğu bilgileri almak, değlendirmek ve bunları, sistemin bir kısmından diğer kısmına gönderen iletişim ağı yapmak.
- 2) Organizmanın, özellikle motor, visseral, endokrin ve zihinsel aktiviteleri gibi birçok işlevlerini doğrudan ya da dolaylı olarak organize ve koordine etmek.

Anatomik olarak sinir sistemi ikiye ayrılır;

Merkezi sinir sistemi (MSS): kafatası boşluğu ve spinal kanal içinde yerleşmiş beyin, beyincik ve medulla spinalisten oluşur.

Periferik sinir sistemi (PSS): Beyinden çıkan kraniyal sinirler, medulla spinalisten çıkan spinal sinirler ve ilgili gangliyonlar.<sup>31,32,33</sup>

İşlevsel olarak ise yine ikiye ayrılır;

Somatik sistem: Duyunun alınması ve isteğe bağlı yanıtın oluşturulmasını sağlar.

Otonom sistem: Kalp kası, düz kas ve bez epitellerinin aktiviteleri gibi istem dışı olayları düzenler.

Sinir dokusu da diğer dokular gibi hücreler ve hücreler arası maddeden oluşmuştur. Tüm sinir dokusundaki asıl yapısal ve işlevsel birime nöron yada sinir hücresi denir.<sup>31,34</sup> Bu hücreler çevresindeki fiziksel ve kimyasal değışiklikleri algılayıp bunlara tepki göstermek için özelleşmişlerdir.<sup>35</sup> Periferik sinir sistemini oluşturan sinir dokusunda sinir hücreleri ve tellerinin arasını bağ dokusu doldururken, MSS de ara maddeyi özel bir doku yapar, bu dokuya nöroglia

denir. Bu dokuyu oluşturan hücreler nöroglia hücreleridir. Gliya hücreleri, nöronlar arası boşluğu tümüyle doldurarak nöronlara fiziksel destek ve kapiller damarlarla nöronlar arasında bağlantı kurarak metabolik destek sağlarlar.<sup>31</sup>

### **Nöron:**

İnsan sinir dokusunda 10 milyardan fazla nöron bulunur. Büyüklük ve şekil yönünden çeşitlilik göstermelerine karşın işlevsel olarak 3 esas gruba ayrılırlar;

- 1) Duyu nöronları: Uyarıları çevreden merkeze ileten (afferent) sinir hücreleridir.
- 2) Motor nöronlar: Uyarıları merkezi sinir sisteminden ya da gangliyonlardan çevreye ileten (efferent) sinir hücreleridir.
- 3) Ara nöronlar: Duyu ve motor nöronlar arasında iletişim sağlayıcı ve tamamlayıcı ağlar oluştururlar. Tüm nöronların yaklaşık %99.9'u bu gruptandır.

31,36

Sinir hücreleri, hücre gövdelerinden çıkan uzantıların sayılarına göre de sınıflandırılırlar. Buna göre;

-Multipolar nöronlar: Bir aksona ve iki ya da daha çok dendrit içerirler.

-Bipolar nöronlar: Bir akson ve bir dendrit kapsarlar.

-Unipolar (gerçekte psödounipolar) nöronlar: Hücre gövdesine yakın iki uzun uzantıya bölünen aksona sahiptirler.

Nöronların birbirleriyle ilişki kurdukları özel birleşme bölgelerine sinaps denir. Sinapslarda, biyokimyasal ve elektriksel sinyaller bir hücreden diğerine geçer. Sinyal geçişi genelde tek yönlüdür. Yapısal olarak dört tip sinaps vardır:

- 1) Aksodendritik: Akson ve dendrit arasında,

- 2) Aksosomatik: Akson ve hücre gövdesi arasında,
- 3) Aksoaksonik: Aksonlar arasında
- 4) Dendrodendritik: Dendritler arasında olabilir.

Sinapslar kimyasal ve elektriksel olarak da sınıflandırılabilirler. Kimyasal sinapslarda, nörotransmitter denilen bazı kimyasal maddeler, presinaptik nöronlarca salgılanır. Bu nörotransmitter madde hücrelerarası boşluğa geçer, buradan da postsinaptik nöron zarı üzerindeki özel reseptörlere bağlanıp zarda iyon geçirgenliğinde değişikliğe yol açar.

Elektriksel sinapslar, daha çok omurgasızlarda görülür. Elektron mikroskop incelemelerinde bu bölgeler iyonların geçişine olanak veren ve böylece akımın bir nörondan diğerine doğrudan yayılmasını sağlayan delik geçit bölgeleri olarak belirlenmiştir.

Bir sinir hücresi çekirdeği kuşatan gövde (perikaryon) ve buradan çıkan uzantılardan oluşur. Kısa ve çok sayıdaki uzantılara dendrit, tek bir uzun uzantıya da akson denir.

Nöronun hücre gövdesi olan perikaryon, çekirdek ve sitoplazmadan oluşur. Sitoplazmada bol miktarda granüllü endoplazma retikulumu (gER) ve serbest ribozomlar bulunur. Bu yapılanma belirgin bir protein sentez erkinin olduğunu göstermektedir. Nöron perikaryonunda bulunan birbirine koşut düzenlenmiş, granüllü endoplazmik retikulum sisternaları ve poliribozomlar bazik boyalarla boyandıklarında, sitoplazmada yığınlar halinde görülürler. Bu bazofilik materyale Nissl cisimcikleri denir. Nissl cisimcikleri özellikle motor ve büyük nöronlarda daha iri ve bol miktarda bulunur.<sup>32,35,36,37</sup> Perikaryonda ayrıca çok

sayıda mitokondriyon, çekirdek çevresinde Golgi kompleksi, lizozomlar, mikrotübüller, nörofilamanlar, veziküller ve inklüzyonlar da vardır. Nissl cisimcikleri dendritlerde de bulunur, ancak aksonda ve aksonun sinir gövdesinden çıktığı yer olan akson tepciğinde görülmez. Nissl cisimciklerinin yaralanmaya verdikleri yanıtı kromatolizis denir. Yaralanmalarda Nissl cisimcikleri dağılır, sitoplazmadaki bazofili kaybolur.<sup>38,39</sup>

Golgi kompleksi tüm sinir hücrelerinde görülür. Osmiyum ve gümüşlü boyalarla boyandığında ışık mikroskobunda nörofibrillerin oluşturduğu ağı yapıdan daha kalın dalgali ipliklerin düzensiz ağı şeklinde izlenir. Elektron mikroskopta ise, yassılaştırmış kesecikler halinde sisternalardan oluşmuştur. Golgi sisternaları granülsüz endoplazmik retikulumun düz yüzlü tübüler yapılarıyla bağlantı halindedir. Golgi kompleksi çekirdek yakınında bir yay şeklinde yer alır.<sup>40</sup>

Çubuk şeklinde yada ipliksi yapıdaki mitokondriyonlar, Nissl cisimcikleri ve nörofibriller arasında bol miktarda bulunur. Akson sonlanmalarında özellikle çok fazla sayıdadırlar. Kristalar, mitokondriyonların boyuna koşut yerleşimlidir. MSS'deki gliya hücrelerinde bulunan mitokondriyonların boyuna yerleşim gösteren kristaları prizma şeklindedir.<sup>35</sup>

Nöronlarda organellere ek olarak inklüzyonlar da bulunur. İnküzyon, nöron metabolizmasının sonucu sitoplazmada açığa çıkan artık cisimlerdir. Melanin granülleri, MSS'nin belirli bölgelerinde (çoğunlukla substansiya nigra ve lokus seruleus, daha az sıklıkla vagus siniri arka motor çekirdeğinde ve medulla spinaliste) ve PSS'nin sempatik gangliyonlarında bulunan koyu kahverengi siyah

renkteki yapılardır. Melanin öncüsü olan dihidroksifenilalanin yada metildopa (DOPA) aynı zamanda dopamin ve nonadrenalin gibi nörotransmitterlerin de öncül bileşikleri olduğundan, melaninin bu nörotransmitterlerin sentezi sırasında biriktiği düşünülmektedir.

Lipofuksin, düzensiz şekilli ve sarımsı renkte bir pigmenttir. Lizozomal enzimatik aktivitenin kalıntısı olduğu düşünülür. Yaşla birlikte sitoplazma içerisinde öylesine çoğalabilir ki, diğer organelleri bir kenara iterek hücre işlevlerini bozabilir. Ancak bazı hücre tiplerinde (Purkinje hücreleri) lipofuksin pigmenti birikmez.

Yağ damlacıkları da nöron sitoplazmasında görülebilen metabolizma artıklarındandır. Nörosekretuar hücrelerde ayrıca salgı granülleri de izlenebilir.<sup>32</sup>

Nöronların bir diğer belirgin özelliği nörofibrillerin varlığıdır. Gümüşleme yöntemi ile hazırlanan ışık mikroskop preparatlarda perikaryonda, akson ve dendritler içine uzanmış halde görülürler. Nörofibriller, mikrofilament (nörofilament) ve mikrotübüllerden (nörotübül) oluşurlar. Nörotübüllerin çapları yaklaşık 25 nm'dir ve diğer hücrelerdekine benzerler. Nörofilamanların çapı yaklaşık 10 nm'dir ve diğer hücrelerdeki ara filamentlere eşdeğerdirler. Nörofibriller bir yandan sinir hücresi bütünlüğünü korurken, diğer yandan da hücre içi madde taşınımında önemli roller üstlenirler.<sup>41</sup>

Nöron çekirdeği büyük, soluk renkli (ökromatik), küre yada hafifçe uzamış şekilli olup, genellikle perikaryonun merkezinde yerleşim gösterir. Çoğunlukla tek bir çekirdekçik içerir. Sinir sistemi gelişimini tamamladıktan sonra çekirdek mitoz bölünme geçirmez.<sup>35</sup>

Primer lizozomlara özellikle Golgi bileşigi çevresinde rastlanır. Hücresel metabolizmanın son ürünlerinin yıkımında görevlidirler. Sekonder lizozomlar da yaşa koşut artarlar ve bazıları lipofuksin granüllerine dönüşürler.<sup>41</sup>

### **Nöron uzantıları**

Nöronların en göze çarpıcı özellikleri sitoplazmik uzantılarıdır. Tüm nöronlarda iki tür uzantı bulunur. Bunlar dendrit ve aksondur. Dendritler perikaryondan çıkan kısa sitoplazmik uzantılardır, nöronun uyarı alan yüzeyini oluştururlar. Bir nöron genelde birden çok dendrit taşır. Dendritlerin perikaryondan çıktığı yerler kalıncadır ve uca doğru yavaş yavaş incilir.<sup>35</sup>

Dendritlerin asıl görevi, dış çevreden yada diğer nöronlardan gelen bilgileri almak ve bu bilgiyi hücre gövdesine taşımaktır.<sup>36</sup>

Dendritlerin yüzeyi sayısız iğne şeklinde çıkıntılarla kaplıdır. Bu çıkıntılar sinaptik iletişim bölgelerini oluştururlar. Sayıları yaşla birlikte ve kötü beslenme sonucunda azalır.<sup>32</sup>

Dendritler birçok dallara ayrılarak, dendritik ağaç denilen yapıyı oluştururlar. Dendritik ağaç nöronun almaç yüzeyini artırır. Genellikle hücre gövdesi ve dendritlerin içeriği Golgi bileşigi dışında benzerdir. Golgi özellikle çekirdeğe yakın yerleşim gösterirken diğer organeller dendritlerde, özellikle de dendrit tabanında yer alırlar.

Aksonun ana işlevi, bilgileri hücre gövdesinden diğer bir nörona yada iskelet kası hücresi gibi bir efektör (alıcı) hücreye taşımaktır.<sup>36</sup> Nöronda sadece bir akson bulunur ve bu oldukça uzundur. MSS'de motor çekirdeklerin nöronlarının (Golgi Tip I nöronlar) aksonları 1 m'den daha fazla uzaktaki alıcı

hedeflere (iskelet kasları gibi) ulaşabilirler. MSS'deki ara nöronlar (Golgi Tip II nöronlar) kısa bir aksona sahiptirler. Akson, hücre gövdesinin yakınlarında birden fazla sayıda yan kollar (kollateraller) verebilir. Akson, hücre gövdesinin konik bir çıkıntısından (akson tepesi) köken alır. Bu çıkıntı genelde sitoplazmik organellerden (Nissl cisimcikleri ve Golgi gibi) yoksundur. Mikrotübüller, nörofilamentler, mitokondriyonlar ve veziküller akson tepesi içinden aksona geçerler. Burası, hücre gövdesinden sentezlenen moleküllerin, nöronun uzaktaki bölümlerine taşınması için aksonal taşıma sistemine katıldığı yerdir. Akson tepesinin apeksi ve myelin kılıfının başlangıcı arasındaki bölge başlangıç segmenti olarak isimlendirilir. Başlangıç segmenti, nörona gelen uyarıcı ya da durdurucu uyarımların toplanıp uyarılma eşiği düzeyine ulaşarak sinirsel uyarıma (aksiyon potansiyeli) dönüştüğü yerdir. Bu dönüşümde, bu kısma ait plazma membranında bulunan değişik tipteki iyon kanalları rol oynarlar.<sup>31</sup>

Sinir hücrelerinin çoğunun aksonları bir myelin kılıfla örtülüdür. Aksonun myelin kılıfı, o nöronun bir bölümü değildir, diğer bir hücre tarafından oluşturulur. Aksonun myelin kılıf içerip, içermemesi onun fizyolojik işlevleri üzerine etki eder.

Bununla birlikte myelin kılıfı olmayan aksonlar da vardır. Bunlara myelinsiz aksonlar denir. Sinir uyarıları, myelinli aksonlarca, myelinsiz aksonlara göre çok daha hızlı iletilirler. Uyarı iletimine ek olarak aksonun bir diğer işlevi, çeşitli maddelerin nöron gövdesi ve akson terminali denilen aksonun son dallanma bölgeleri arasında taşınmasıdır.<sup>32</sup> İki çeşit madde taşınımı vardır. Perikaryondan akson ucuna doğru "öne doğru taşınma" (anterograd) ve buna aksi yönde "geriye

doğru taşınma” (retrograd).<sup>35</sup> Organeller, veziküller, aktin, myozin ve klatrin gibi makromoleküller ve nörotransmitter sentezi için gerekli bazı enzimler “öne doğru taşınma” ile aksonun ucuna doğru taşınıırken; nörotübül ve nörofilament proteinleri, endositoz yoluyla alınan maddeler (virüsler, toksinler gibi) ve yıkıma uğratılacak olan proteinler ve küçük moleküller de “geriye doğru taşınma” ile hücre gövdesine doğru taşınırlar.<sup>32,35</sup>

### **Nöroglia (sinir bağ dokusu)**

Merkezi ve periferik sinir sistemi’nde nöronlarla yakın ilişkili olan, onlara desteklik veren, besleyen ve koruyan hücreler bulunur. Bu hücre tiplerine nöroglia yada glia hücreleri denir. Nöroglia hücrelerinin sitoplazma ve uzantıları, nöron uzantılarından ayırdedilemediğinden, histolojik incelemelerde saptanmaları oldukça zordur. Bu hücreleri ışık mikroskopunda görebilmek için gümüşlü ve altınlı boyalarla boyamak gerekir.<sup>35</sup>

Merkezi sinir sisteminde, her bir nöron için 10 glial hücre olduğu düşünölmektedir. Nöroglia hücreleri çok küçüktürler, ancak sinir dokusunun toplam hacminin yarısını oluştururlar.<sup>33</sup>

### **MSS’ te bulunan nöroglia hücreleri:**

#### **Astrositler:**

Yıldız şeklinde uzantıları olan en büyük glia hücreleridir. Çekirdek, hücrenin ortasında yerleşik, yuvarlak biçimlidir ve açık renk boyanır. Sinir dokusu incinmelerinde, ölen nöronların ve gliyaların yerlerini astrositler doldururlar. Astrosit uzantıları piameter altında bir katman yaparlar. Bu katman piameterin bağ dokusunu sinir hücrelerinden ayırır. Sitoplazmalarında 8-11 nm lik ara

filaman demetleri bulunur. Bu demetlerde astrositlere özgü bir yapı olan glial fibriler asidik protein vardır.<sup>32,33,35</sup>

Sitoplazmik uzantılarının şekline göre iki tür astrosit bulunur:

- a) Fibröz astrositler: Az sayıda uzun, ince ve düz uzantıları vardır. Sitoplazma oylumu daha azdır. Daha çok beyaz maddede bulunurlar. Uzantıları damar duvarında ayakçık yaparak sonlanır.
- b) Protoplazmik astrositler: Sitoplazmik uzantıları daha kısa, kalın, ancak çok sayıdadır. Çoğunlukla gri maddede görülürler. Kan-beyin bariyerini oluştururlar.<sup>35</sup>

Nöron mikroçevresinde biriken glutamat, potasyum iyonları ve GABA gibi nöron metabolizma artıklarını temizlerler.<sup>32</sup>

### **Oligodendrositler:**

Uzantıları daha az ve kısadır. Astrositten daha küçüktürler. Çekirdekleri astrosit'inkinden daha küçüktür ve daha koyu boyanır. Ak maddede myelinli sinir telleri boyunca görülürler. MSS' teki aksonların myelin kılıfı oligodendrositlerce oluşturulur. Birden fazla aksonun myelinizasyonunu gerçekleştirirler. İnterfasiküler ve satellit olarak iki tipleri vardır. İnterfasiküler tip, myelin üretimiyle yükümlüdür. Satellit tip ise nöron gövdelerine yakın yerleşir. İşlevi tam olarak bilinmemektedir.<sup>32,35</sup>

Astrositler ve oligodendrositler ektodermal kökenlidir.<sup>35</sup>

### **Mikroglia:**

Mezodermden köken alırlar. MSS makrofajlarıdır. Glia hücrelerinin %5 ini oluşturur. En küçük glia hücreleridir. Oval biçimli bir çekirdekleri vardır. Ak ve gri maddede bulunurlar.<sup>35</sup>

#### **Ependim hücreleri:**

Nöral tüpün içini döşeyen bölümden gelişir ve epitelyal düzenlenimlerini korurlar. Beyin boşluklarını ve medulla spinalis'in iç yüzeyini döşerler. İçerdikleri apikal siller aracılığı ile beyin omurilik sıvısının hareketliliğini sağlarlar.<sup>33,35</sup>

#### **Periferik sinir sistemindeki nöroglia hücreleri:**

##### **Schwann hücreleri**

1839 da ilk defa, Profesör Theodore von Schwann tarafından tanımlanmışlardır.

Nöral kristadan köken alırlar. Büyümekte olan aksonlarla birlikte, gelişen periferik sinirlere doğru göç ederler. Schwann hücreleri, gelişim ve sinir yenilenmesi sırasında büyüme faktörleri salgırlar. Schwann hücre sitoplazması mitokondriyon, poliribozom, Golgi kompleksi ve granüllü endoplazmik retikulumdan zengindir.

Schwann hücresi, myelinli ve myelinsiz liflerle ilişkilidir. Schwann hücrelerinin bazal membranı bulunur. Bu özelliğiyle, endonöryumdaki diğer hücrelerden kolaylıkla ayırt edilirler. Yaralanmış sinirlerde, perinöral hücreler de endonöral aralığı geçebilirler. Bu durumda Schwann hücreleri bu hücrelerden, sıkı bağlantı birimleri içermemesiyle ayrılırlar.

Laminin, entaktin ve fibronektin içeren bir bazal membrana sahip olmasının yanında, Schwann hücreleri heparan sülfat, Tip I, III, IV ve V kollagen

ve beta-1 ve beta-4 integrin salgırlar. Salgılanan tüm bu ürünler, Tip I ve II kollagen dışında, bazal membran yapısına katılırlar.

Schwann hücresi, anti glialfibrilerasidik protein (GFAP) antikoru ile işaretlenebilir. Periferik sinir kılıflarında GFAP immün reaktivitesi enterik ganglionlarda, olfaktör sinir hücrelerinde ve siyatik, splenik ve vagus sinirlerindeki Schwann hücrelerinde gösterilmiştir.

Schwann hücresi farklılıkça ve bazal membran ürettikçe, bazı bazal membran bileşenleri (laminin ve fibronektin) ile kendi hücre iskeleti arasında bir etkileşim olaylanır ve bunun sonucunda Schwann hücresinde kutuplaşma olur. Schwann hücresi hemen yakınındaki aksone uzantılarını gönderir. Akson bu uzantıyla ilişkiye geçince bir çekim oluşur ve Schwann hücresi aksonu sarmaya başlar. Miyelin oluşumundan önce bazal membran biçimlenmiş olmalıdır. Bazal membran yokluğunda miyelinleşme olmaz.<sup>42</sup>

#### **Uydu hücreleri (Satellit hücreler):**

Periferik ganglionlardaki nöronların perikaryonların çevresinde yer alırlar.

#### **Sinir telinin yapısı**

Sinir teli, bir akson ve ektodermal kökenli kılıflardan yapılıdır.<sup>35</sup> Sinir telleri grupları beynin ve medula spinalisin traktuslarını ve periferik sinirleri oluşturur. Sinir lifleri kılıfları, liflerin merkezi yada periferik sinir sisteminde olmasına göre farklılıklar gösterir. Erişkin sinir dokusundaki çoğu akson, tek ya da birden fazla kılıfla sarılıdır. Bu kılıflar merkezi sinir sisteminde oligodendrositler, periferik sinir sisteminde ise Schwann hücrelerince yapılırlar. Küçük çaplı aksonlar çoğunlukla myelinsizdir. Aksonlar kalınlaştıkça artan

sayılardaki konsantrik miyelin kılıflarıyla sarılırlar. Myelin kılıflarca sarılmış olan liflere myelinli sinir lifleri denir.<sup>33</sup>

Embriyolojik çalışmalar myelin oluşmasında ilk adımın Schwann hücre sitoplazmasında bir yarığa aksonun tutunması olduğunu göstermiştir. Yarığın kenarları mezaksonu oluşturmak için bir araya gelir.<sup>33</sup> Schwann hücresi zarı akson çevresinde birkaç kez ile 50 yada daha fazla kez dönüp, sarılarak miyelin kılıfı biçimlendirir. Schwann hücresi zarının birbirleriyle ilk karşı karşıya geldikleri yere mezakson denir. Mezaksonda iki zar karşılıklıdır. Schwann hücresi aksonu sarmayı sürdürürken bu mezakson içte kalır. Bu konumda iç mezakson olarak adlandırılır. Birçok kez akson üzerinde dolanan zar böylece myelin kılıfı oluşturur. Myelin kılıfın en üstünde Schwann hücre zarının karşı karşıya geldiği yere ise dış mezakson denir.<sup>35</sup>

Elektron mikroskopta, miyelin kılıfın yineleyen şekilde açık ve koyu çizgilerden oluştuğu görülür.<sup>31</sup> Düzenli koyu çizgilere esas yoğun çizgiler denir ve Schwann hücre membranlarının sitoplazmik yüzeylerinin kaynaşma çizgilerini oluşturur. Daha az düzenli açık çizgilere ise ara çizgiler denir, bunlar Schwann hücre membranının komşu katmanlarının hücre dışı yüzeylerinin yakın bağlantı alanlarıdır, ancak kaynaşma yoktur.<sup>35</sup>

Myelin katman içinde Schwann hücre sitoplazmalarının bulunduğu alanlar vardır. Bunlara Schmidt-Lantermann yarıkları yada çentikleri denir. Bunlar, gerçekte kılıfın dışından içine doğru uzanan heliks şeklinde sitoplazmik tünellerdir.<sup>33</sup> Schmidt-Lantermann yarıklarının sayısı aksonun çapı ile doğru

orantılıdır.<sup>36</sup> Bu yarıklar, iç ve dış Schwann hücre sitoplazmaları arasında bir iletişim sağlar.<sup>42</sup>

Myelin kılıf akson boyunca belirli aralıklarda kesintiye uğrayarak boğumlar oluşturur. Bu boğum yerlerine Ranvier boğumları denir. İki Ranvier boğumu arasında kalan myelin, internodal segmenttir. Myelinin kalınlığı aksonun çapına göre değişkendir, ancak bir akson boyunca sabittir.<sup>31,33,35</sup>

Merkezi sinir sisteminde Ranvier boğumları görülmeyebilir ve Schmidt-Lanterman yarıkları yoktur.

Merkezi ve periferik sinir sisteminin her ikisinde de aksonların tümü myelin ile kaplanmamıştır. Periferik sinir sisteminde tüm myelinsiz aksonlar, Schwann hücrelerinin basit kılıfı ile çevrelenmiştir. Myelinsiz sinir liflerinde Ranvier boğumu bulunmaz. Bitişik Schwann hücreleri sürekli kılıf oluşturmak için uzunlamasına birleşirler. Merkezi sinir sisteminde myelinsiz akson sayısı daha fazladır.<sup>33</sup>

#### **Sinir kılıfı bileşenleri:**

Periferik sinirler bağdokudan kılıflarla sarılı binlerce akson içerir. Enine kesitte bir sinirin %25-85 i bağdokusudur. Siniri en dıştan saran bağ dokusu kılıfına epineurium denir. Sinirin daha küçük demetlerinin her biri perinöryum ile örtülüdür. Her bir sinir teli ise endonöryum ile kaplıdır.

#### **Epinöryum:**

Perinöryum ile sarılmış olan sinir lifi demetlerini dıştan saran sıkı bağ dokusudur. Periferik siniri saran yağ dokusu ile kaynaşmıştır. Fibroblast ve mast

hücreleri içerir. Bol miktarda kollagen ve daha az oranda elastik lif kapsar. Kan ve lenf damarları epinöryumda uzanır ve perinöryumu delerek sinire ulaşırlar.<sup>36,42</sup>

### **Perinöryum:**

19. yüzyılda Friedrich G. H. Henle tarafından tanımlanmıştır. Mezotelyum, perilemma, nörotelyum, perinörotelyum ve perinöral epitelyum gibi çeşitli isimlerle anılmıştır. Kollagen lif katmanlarıyla birbirinden ayrılmış yassı hücre katmanlarından oluşur. Hücre katmanlarının sayısı sinirden sinire değişir ve sinir demetinin büyüklüğüne bağlıdır. Örneğin sural sinirde 8-12 perinöral hücre katmanı vardır. Sinir dallandıkça ve son dallara geldikçe tek bir perinöral hücre katmanı kalır.

Perinöryum, metabolik olarak aktif bir diffüzyon engeli oluşturur. Sarmış olduğu sinir liflerinin iyonik ortamını korur. Perinöral hücreler, maddelerin perinöryumdan aktif taşınması için enzimler, taşıyıcılar ve reseptörler içerir.

Her perinöral hücre katmanı yassı hücrelerden oluşur. Bu hücreler her iki yüzlerinde de bazal lamina kapsarlar. Perinöral hücrelerin diğer belirgin yapıları, içerdiği yoğun aktin mikofilamanları, pinositik veziküller ve sitoplazmik yoğunluklardır. Bu özellikleri ile düz kas hücrelerine benzerler. Ayrıca sitoplazmalarında mitokondriyonlar, gER ve serbest ribozomlar da bulunur. Bu hücreler birbirlerine sıkı bağlantı birimleriyle bağlanmışlardır. Ferritin gibi işaretleyiciler kana verildiğinde, bu maddeler periferik sinire giremez. Bu maddelerin geçişi endonöral kapillerlerdeki ve içteki perinöral hücre katmanlarındaki sıkı bağlantılarca önlenir. Bu şekilde bir kan-sinir engeli oluşturulmuş olur. Bu engel doğumu izleyerek gelişir, böylece ilaç ve benzeri

maddelerin sinir işlevlerini bozması engellenir. Böylesine bir engelleyici yapı arka kök ve sempatik ganglionlarda yoktur. Bu nedenle periferik sinir sisteminin bu bölgeleri civa benzeri toksinlere duyarlıdır.

Perinöral hücre katmanları arasında kollagen fibriller izlenirken, fibroblastlar görülmez. Bu hücrelerin, sıkı bağlantılar ve bazal laminalarıyla, bir engel oluşturacak şekilde düzenlenimleri, epitel dokusunu anımsatmaktadır; kontraktıl yapılar içermeleri ve kollagen sentezleyebilmeleri ise, bu hücreleri düz kas hücresi ve fibroblasta benzetmektedir. Endonöryumda sınırlı sayıda bağ dokusu hücresi olması, perinöryumun oynadığı koruyucu rolü yansıtmaktadır. Lenfositler, plazma hücreleri gibi tipik immün sistem hücreleri, endonöral ve perinöral bölümlerde bulunmaz. Bu eksiklik, perinöral hücrelerce oluşturulan koruyucu engelle aşılır.<sup>36,42</sup>

#### **Endonöryum:**

Endonöryum aksonları, onları saran Schwann hücrelerini, kollagen lifleri, fibroblastları, kapillerleri ve birkaç mast hücrelerini içeren bölgedir. Periferik sinir kesitlerinde görülen çekirdeklerin %90'ı Schwann hücrelerine, %5 'i fibroblastlara ve geri kalan ise mast hücresi ve kapiller endotel hücreleri gibi diğerlerine aittir.

Endonöral bölgedeki kollagen, Schwann hücrelerince üretilmektedir. Kollagen lifler, sinir telleri çevresinde iki kılıf oluştururlar. İçteki sinir teline göre uzunlamasına seyrederken, dıştaki kollagen kılıf oblik, ve enlemesindedir.<sup>36,42</sup>

Dört bileşen sınıfı kapsar. Bunlar kollagenler, kollagen olmayan proteinler (fibronektin, tenaskin, lamininler, trombospondin), glikozaminoglikanlar ve proteoglikanlardır.



## II.4. Bazal Lamina

Hücre dışı matriksin (HDM) özelleşerek, çok ince katman halini almış yapısına bazal lamina denir. Epitel dokusunu altındaki bağdokudan, ilişkili olduğu diğer hücreleri de çevrelerinden ayıran çok ince bir katmandır. Çeşitli fibrillerden ve ECM bileşenlerinden oluşur.

Bazal laminanın içeriği dokudan dokuya değişiklik göstermesine karşın, tüm bazal laminaların yapısında esas olarak dört grup molekül bulunur.

- 1) Kollagen: Çeşitli kollagen tipleri içermesine karşın en çok tip 4 kollagen kapsar. Tip 4 kollagen ve bazal laminanın diğer kollagenleri, epitel hücreleri ve bazal lamina olan diğer hücrelerce üretilir. Hücre zarındaki integrinlere tutunarak bazal lamina yapısal bir bütünlük verirler. Tip 4 kollagen, diğer kollagen tiplerinden daha çok hidroksiprolin ve hidroksilizin ve daha çok sayıda karbohidrat yan zinciri içerir.<sup>36</sup>
- 2) Laminin: 3 polipeptit zincirinden ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) oluşur. 18 tipi tanımlanmıştır. Bazal laminanın en önemli bileşenlerinden biridir. Laminin 2, Schwann hücresinde ve kas liflerinde; laminin 5 deri bazal membranında ve laminin 11 kas-sinir kavşağında bulunur. Heparan sülfat, tip 4 kollagen ve entaktin gibi ECM molekülleri için bağlanma bölgeleri taşır. Akson büyümesi sırasında, aksonun hedefine doğru bir şekilde ilerlemesinde önemli rolü vardır. Ayrıca laminini kodlayan geninde bir mutasyona sahip fareler, bazal lamina oluşturamadıklarından embriyogenezis sırasında ölmektedir.<sup>1,29,43</sup>

- 3) Fibronektin ve entaktin: Fibronektin, büyük bir glikoprotein molekülüdür. Kollagen, heparin ve hücre yüzey reseptörleri için (integrin gibi) bağlanma bölgeleri taşır. Tüm bu elementler arasında adhezyon sağlar. Yara iyileşmesi ve embryogenezis sırasında rolü vardır. Entaktin de küçük sülfatlı bir glikoproteindir ve tip 4 kollagen için bağlanma bölgesi içerir.
- 4) Proteoglikanlar: Bazal lamina hacminin büyük bir kısmını kaplar. Yüksek anyonik özelliği nedeniyle çok su tutar. Bazal laminadan iyon geçişinde önemli rol oynar.<sup>36</sup>

Bazal lamina, kas, yağ ve Schwann hücrelerini çevrelerindeki bağ dokusundan ayırır. Böbrek glomerulusu ve akciğer alveolleri gibi bölgelerde iki farklı hücre katmanı arasında bulunarak seçici bir filtre olarak işlev görür. Hücre farklılaşması ve gelişmesinde, hücre metabolizması ve göçünde önemli rol oynar. Blastula oluşum evresinde, blastomerler arasında ya da üzerinde bulunan bazal lamina bileşenleri, hücre kutuplaşmasının oluşturulması ve hücre iskeletinin düzenlenmesinde işlev yapar. Doku yenilenmesinde rol oynar. Kas, epitel ve kısmen de sinir gibi dokular incindiğinde bazal lamina kalır ve yenilenen hücrelerin göç edebilmelerine olanak sağlar.<sup>43</sup>

### II.4.1. Laminin

Lamininler, bazal laminanın ana bileşenlerindedir. 3 önemli işlevleri vardır. Bunlardan birincisi, bazal laminanın önemli yapısal bir elemanı olarak bir çatı oluşturup diğer bazal lamina bileşenlerinin tutunmasını sağlamaktır. İkincisi, distroglikanlar gibi hücre yüzey reseptörleri için tutunma bölgeleri yaparlar. Üçüncüsü, integrinler üzerinden sinyal molekülleri gibi davranarak hücre göçü, farklılaşması ve çoğalması gibi önemli hücresel işlevlerde bulunurlar.<sup>44</sup>

İlk ve en iyi tanımlanan laminin 1, Engelbreth Holm Swarm tümöründen elde edilmiştir.<sup>45</sup> Lamininler heterotrimerik moleküllerdir. Bir  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  zincirinin disülfid bağlarıyla bağlanmasıyla oluşurlar. Günümüzde 5  $\alpha$ , 3  $\beta$  ve 3  $\gamma$  zinciri tanımlanmıştır. Bu zincirlerin birleşmesiyle, 45 farklı laminin izoformu oluşabilir gibi görünse de; bu olası değildir. Çünkü bazı zincirler sadece belirgin zincirlerle bağ yaparlar. Örneğin,  $\gamma$ 2 zinciri sadece  $\alpha$ 3 ve  $\beta$ 3 zincirleriyle birleşmektedir.<sup>46</sup> Günümüzde 14 farklı laminin zinciri klonlanmıştır. Bu zincirlerden yaklaşık 15 laminin trimeri oluşmaktadır.<sup>44</sup> Laminin zincir kurgusu tablo 1 de verilmiştir.

**Tablo 1:** Laminin zincir kurgusu

Eski adı	Yeni adı	Zincir yapısı	Referans
EHS laminin	laminin 1	$\alpha$ 1 $\beta$ 1 $\gamma$ 1	Timpl <i>ve ark.</i> , 1979
Merosin	laminin-2	$\alpha$ 2 $\beta$ 1 $\gamma$ 1	Ehrig <i>ve ark.</i> , 1990
S-laminin	laminin-2	$\alpha$ 1 $\beta$ 2 $\gamma$ 1	Engvall <i>ve ark.</i> , 1990
S-merosin	laminin-4	$\alpha$ 2 $\beta$ 2 $\gamma$ 1	Engvall <i>ve ark.</i> , 1990
Kalinin/ Nicein/ Epiligrin	laminin-5	$\alpha$ 3 $\beta$ 3 $\gamma$ 2	Rousselle <i>ve ark.</i> , 1991
K-laminin	laminin-6	$\alpha$ 3 $\beta$ 1 $\gamma$ 1	Marinkovich <i>ve ark.</i> , 1992

KS-laminin	laminin-7	$\alpha 2 \beta 2 \gamma 1$	Champliaud ve ark., 1996
	laminin-8	$\alpha 4 \beta 1 \gamma 1$	Miner ve ark., 1997
	laminin-9	$\alpha 4 \beta 2 \gamma 1$	Miner ve ark., 1997
	laminin-10	$\alpha 5 \beta 1 \gamma 1$	Miner ve ark., 1997
	laminin-11	$\alpha 5 \beta 2 \gamma 1$	Miner ve ark., 1997
	laminin-12	$\alpha 2 \beta 1 \gamma 3$	Koch ve ark., 1999
Netrin-1	laminin-13	$\Gamma 4$	Serafini ve ark., 1994
Netrin-2	laminin-14	$\Gamma 5$	Serafini ve ark., 1994
Netrin-3	laminin-15	$\Gamma 6$	Wang ve ark., 1999

Lamininlerde çoğunlukla ortak bir yapı vardır. Haç ya da “T” şekillidirler. 3 kısa ve bir uzun koldan oluşurlar.<sup>46</sup> Her kısa kolda “bölge 4 ve 6” denilen globüler alanlar ve bunlar arasında çubuk benzeri “bölge 5 ve 3” alanları bulunur. Bölge 6’da pek çok sistein artığı vardır.  $\alpha$  zinciri 2 adet “bölge 4” kapsar: Bunlar 4a ve 4b’dir. Çubuk benzeri alanlar olan bölge 5 ve 3, EGF benzeri yinelemeler gibi, sisteinden zengindir. Ancak lamininde 8 sistein artığı bulunurken, EGF benzeri yinelemelerde sadece 6 artık yer alır. Uzun kol ise heterotrimerik bir yapıdır ve uzun kolun yapısına her üç zincir de katılır. Bu üçlü zincir yapısı bölge 1 ve 2’yi yaparken, globüler G bölgesini sadece  $\alpha$  zinciri oluşturur.<sup>45</sup> Uzun kol “G bölgesi” denilen globüler bir yapıyla sonlanır. Kısa kollar N-terminal bölgelerinden oluşur. G bölgesi  $\alpha 1$  zincirince yapılı ve 400 kDa’luk ağırlığıyla laminin molekülünün en ağır zinciridir.  $\beta$  ve  $\gamma$  zincirleri ise yaklaşık 200 kDa’dur. Bu temel yapı laminin 5-9 dışındakilerde aynıdır.<sup>46</sup> Laminini parçalayan enzimler pepsin, pankreatik elastaz, tripsin ve katepsin G’dir.

Laminin; tip 4 kollagen, nidojen ve perlekanla birlikte bazal laminanın ana bileşenlerini oluştururlar.<sup>47,48</sup> Tip 4 kollagene bağlanan laminin, lamina lusida

bölgesinde daha fazladır. İşlevsel birkaç ucu vardır. Bunlardan birisi ile perlekana diğeri ile nidojene ve diğer uçlarıyla da hücre yüzeyindeki reseptörüne bağlanır. Laminini kodlayan geninde bir mutasyona içeren fareler bazal lamina oluşturamadıklarından embriyogenezis sırasında ölmektedirler.<sup>43</sup>

Memeli gelişimde lamininin önemi, laminin-1'in fare embriyonlarında eksprese edilen ilk hücre dışı matriks proteini olmasıyla açığa çıkmıştır. Bu ilk olarak morula evresinde ve daha sonra da farklı antikolar yardımıyla iki blastomer evresinde de gösterilmiştir. Bazal membran düzenleniminde en önemli olgu tip 4 kollagen ve laminin-1 ağının oluşumudur. Laminin-kollagen ağı nidojen, perlekan, heparan sülfat proteoglikanları, agrin, fibulin-1 ve fibulin-2 gibi diğer moleküllerle de desteklenir. Ayrıca lamininler, fibroblast, nöronlar, hepatosit ve tümör hücreleri gibi bazı hücrelerin tutunması ve yayılımlarında da etkindirler.

Laminin-1 Schwann hücrelerinin, primer böbrek kortikal tübül epitel hücrelerinin ve kemik iliği kökenli makrofajların büyümesini uyarır. Laminin-1 EGF reseptörü ile işlevsel yada topolojik olarak eşdeğer reseptörlere sahip olduğundan DNA sentezi ve hücre büyümesini stimüle edebilir. Ayrıca epitel hücre kutuplaşmasını, akson ve nörit büyümesini, periferik ve merkezi sinir yenilenmesini ve nöron göçünü de uyarır. Laminin-1 endotel hücrelerinin in-vitro kapiller benzeri yapılar oluşturmasını ve IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerin salgılanmasını uyararak makrofaj gelişimini ve işlevini etkiler.<sup>45, 49</sup>

Lamininler yara iyileşmesi ve sinir dokusu dışında pek çok dokunun yenilenmesinde etkindir. Örneğin laminin-5 ekspresyonu deri yaralarında artırır.

Laminin-5'in alfa3 ve gama2 zincirlerinin epitel göçünde ve yara kapanmasında etkili olduğu gösterilmiştir. Hepatosit ve laminin-1 etkileşiminin de karaciğer yenilenmesinde önemli olduğu saptanmıştır.<sup>45</sup>

Normal dokulardaki işlevlerinin yanısıra, lamininler ve reseptörleri tümör hücre büyümesi ve metastazında da işlevseldirler. Laminin-1 tümör hücrelerinin tutunma ve göçlerini uyararak, hücre dışı matriksin yıkımına katkıda bulunup metastazı kolaylaştırırlar.

Lamininlerin bazı zincirlerindeki nokta mutasyonlar insanda çeşitli hastalıklara neden olur. Örneğin, laminin-5'in zincir yapısındaki mutasyonlar epidermolizis bulloza hastalığına neden olur. Laminin-2'nin  $\alpha 2$  zincirindeki bir mutasyon ise konjenital musküler distrofi hastalarda saptanmıştır.<sup>45</sup>, laminin expression in adult and developing retina).

## II.4.2 Fibronektin

Fibronektin (fibre = fibril + nectin = bağlamak, yapıştırmak) hücre dışı matriks, plazma ve hücre yüzey proteinidir. Plazma fibronektini ilk kez 1948' de Morrison tarafından "soğukta çözünmeyen globulin" (cold insoluble globulin) olarak tanımlanmıştır. 1968'de Mosesson, ovaryum kanserli, yineleyen trombozisi ve kriyofibrinojemisi (hastanın plazması ve serumu 0-4 °C de inkübe edildiğinde plazmada çökelti oluşurken serumda oluşmaması olgusudur) olan bir hastada yaptığı çalışmada suda çözünmeyen globulin'in herkeste bulunan bağımsız bir plazma proteini olduğunu saptamıştır.

1970'lerde araştırmacılar, kültürdeki normal fibroblastların çevresinde büyük bir glikoprotein farketmişlerdir. Bu glikoprotein normal fibroblastlarda görülürken, transforme edilen (örn; bir onkojenik virüsle enfekte edilen yada sarkomlardan alınan) fibroblastların çevresinde görülmemiştir. Bu proteine yüzey fibroblast antijeni, galaktoprotein A, LETS (large, external, transformation sensitive: büyük, dış, transformasyona duyarlı) proteini ve hücre yüzey proteini gibi adlar verilmiştir. Bu proteine karşı antikolar, dokulardaki ve büyük oranda da plazmadaki antijenlerle tepkime verdiler. Daha sonraki çalışmalarda bu proteinin, fibroblastların kültür kabına tutunmasını ve jelatine bağlanmasını sağladığı görülmüştür. Tüm bu araştırmaların sonunda fibronektinin bir hücre yüzeyi proteininden çok hücre dışı matriks elemanı olduğu ve en önemli işlevinin hücreleri ve hücre dışı matriksi birbirine bağlamak olduğu anlaşılmıştır.

Fibronektin, hem vücut sıvılarında hem de dokularda bulunur. Hücrelerle ve diğer makro moleküllerle etkileşimi nedeniyle üzerinde yoğun araştırmalar

yapılmaktadır. Hücre dışı matris'in (HDM) ana bileşenlerindedir. En önemli işlevi embriyogenezis ve yara iyileşmesinde dokunun düzenlenimine aracılık etmesidir. Fagositoz ve kan pıhtılaşması gibi diğer fizyolojik olaylarda da etkindir.

Fibronektin'in plazmadaki şekli çözünebilirken, dokularda bulunan fibriller şekli çözünmez. Plazmadaki yoğunluğu yaklaşık 300 µg/ml'dir. Çözünen şekli amniyotik, seminal ve eklem sıvılarında ve BOS'da bulunur. Çözünmeyen şekli ise fibriller hücre dışı yapıların ve bazal membranın bir bileşeni olarak, sinir sistemi hariç, tüm dokularda yer alır.<sup>50,51,52,53</sup>

Fibronektin, 250 kD ağırlığındaki iki polipeptit zincirinin birbirine karboksil uçlarından disülfid bağlarıyla kovalent olarak bağlanmalarıyla oluşur. Her monomer 3 tip yineleyici birimden yapılıdır: Tip I, Tip II, Tip III. Fibronektin 12 adet Tip I, 2 adet tip II ve 15-17 adet Tip III tekrarı içerir. Tip I tekrarı 40 amino asit artığı ve 2 disülfid bağı, Tip II'de 60 amino asit ve 2 disülfid bağı, ve Tip III'de ise arada hiç disülfid bağı olmaksızın yaklaşık 90 amino asit artığı vardır. Bu amino asit yinelemeleri bir fibronektin monomerinin yaklaşık %90'ını oluşturur. (fibronektin at a glance). Ayrıca bir fibronektin zincirinde yaklaşık %5-10 karbohidrat da bulunmaktadır. Karbohidrat içeriği erişkinde düşük iken, embriyonik ve tümör hücre kaynaklı fibronektinler daha çok şeker içerir. Karbohidratlar fibronektin polipeptidini hidrolize karşı korur. Fibronektin'in iki alt birimi birbirlerine karboksil uçlarından bağlıdır. Tip I segmenti, polipeptidin amino ve karboksil uçlarını oluştururken, 60 a.a. lik iki adet tip II segmenti amino terminalindeki 9 tip I segmentinin arasına yerleşmiştir. Son olarak da 15-17 tip II

segmenti de polipeptidin ortasını yapar. Polipeptit, toplamda yaklaşık 2500 a.a. içerir.<sup>54,55,56,57</sup>

1979'da fibronektin'in kollagen bağlayan ve hücreye tutunan bölgelerinin ayrı segmentlerde yerleşik olduğunun saptanmasından sonra fibronektin polipeptidindeki bağlanma bölgeleri üzerinde araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda fibronektin polipeptidinin üzerinde kollagen, heparin, fibrin, stafilokoklar, immün globulinler, trombospondin, mikroorganizmalar, plazminojen ve hücreler için bağlanma bölgeleri bulunmuştur. Amino terminalinde fibrinojen, heparin ve stafilokoklar için birer bağlanma bölgesi vardır. Heparine ve fibrine zayıf bağlanır. Stafilokokların fibronektine bağlanması ise enfeksiyon gelişimi açısından çok önemlidir.<sup>56</sup>

Fibronektin kollagene, özellikle denatüre kollagene (jelatin) bağlanır. Jelatin, denatüre tip I kollagendir. Tenaskin ise doğal, bozulmamış kollagene bağlanır. Fibronektin tip I, II, III, IV ve V kollagenlere bağlanabilir.<sup>50,51,52</sup>

Fibronektin, heparin ve heparan sülfat gibi sülfatlı glikozaminoglikanlara da tutunur. Heparinin fibronektine bağlanması, jelatinize partiküllerin makrofajlarca yenmesinde önemlidir. Heparin ve heparan sülfat, fibronektin'in doğal ve denatüre tip I ve tip III kollagenlere bağlanmasını kolaylaştırır. Heparin fibronektin'i dokulardan serbestleştirir ve fibroblastları tutundukları kollagen yüzeylerden ayırır. Fibronektin-heparan sülfat etkileşimi ise HDM düzenleniminde önemlidir. Fibronektin zinciri üstünde 2 veya 3 heparin bağlama bölgesi vardır. Amino terminalindeki bağlama gücü, karboksi terminalindekinden zayıftır. Kalsiyum varlığında bağlanma kolaylaşır.<sup>51,52,56</sup>

Hücreler için tutunma bölgesi, fibronektin zincirinin ortasındaki tip III modülündedir. (3,mohri). Bu segmentteki RGD dizilimi (R: Arginin, G: Glisin, D:Aspartik asit) hücre yüzey reseptörlerince tanınır. RGD sekansının çıkarılması hücre adhezyon aktivitesinin kaybolmasına neden olur. Pekçok hücre  $\alpha 5\beta 1$  integrinleriyle ve plateletler de  $\alpha IIb\beta 3$  integrinleriyle RGD sekansını tanıyarak fibronektin'e tutunur.

RGD sekansı,hücre adhezyonundaki önemli işlevlerine ek olarak trombüs oluşumunda da etkindir. Plateletlerdeki  $\alpha IIb\beta 3$  integrinlerle etkileşerek trombüs oluşumuna aracılık eder.

Hücre adhezyonunda RGD sekansı ve integrin etkileşiminin çok önemli olmasına karşın başka hücre yüzey makromolekülleri ve fibronektin zincirindeki başka bölgeler de hücre adhezyonunda rol alır. C- terminalindeki heparin bağlayan fragmanların normal ve tümör hücre adhezyonunda etkin oldukları bulunmuştur.<sup>56</sup>

### II.4.3 Tip IV Kollagen

Tip IV kollagen, memeli bazal membranının en önemli yapısal bileşenlerindedir ve laminin, heparan sülfat proteoglikanları ve nidojen gibi diğer makromoleküllerin tutunmasını sağlayan bir çatı oluşturur.<sup>58</sup>

Tip IV kollagen proteini 3 alfa zincirden oluşan üçlü sarmal bir moleküldür. Bugüne değin 6 adet tip IV kollagen alfa zinciri tanımlanmıştır. Her zincirde Gly-Xaa-Yaa tekrarlarını taşıyan ve kollagen olmayan kısa zincirlerle yer yer kesintiye uğrayan 1400 artıklık kollagen bir bölge vardır. X ve Y çoğunlukla prolin ve lizin artıklarına karşılık gelmektedir. Amino ucunda 15 rezidülük kollagen olmayan bölge ve karboksi ucunda ise 230 artıklık kollagen olmayan bir bölge (NC1) vardır. Amino ucundaki kollagen olmayan segment ve bitişiğindeki sisteinden zengin kollagen dizi 7S bölgesi olarak bilinir. Alfa zincirler yüksek oranda glikozillenmiştir. Alfa zincirde pek çok hidroksilizin bağlı oligosakkarit birimler ve 7S bölgesinde asparagin bağlı bir oligosakkarit birim vardır. Kollagen bölgedeki her üç amino asitten birinin glisin olması önemlidir. Çünkü sadece glisin kollagen üçlü sarmalının merkezinde yer alabilecek kadar küçüktür. Gly-X-Y tekrar dizileri arasındaki kesintilerin üçlü sarmal molekülüne esneklik kazandırdığı düşünülmektedir.<sup>58,59</sup>

Tüm bazal membranlarda bulunan tip IV kollagen'in en yaygın izoformu 2alfa(IV) ve 1 alfa2(IV) zincirinden oluşan trimerdir.

Tip IV kollagen zincirleri iki sınıfa ayrılır. Alfa1(IV), alfa3(IV) ve alfa5(IV) zincirleri alfa1 benzeri sınıfa; alfa2(IV), alfa4(IV) ve alfa6(IV) zincirleri de alfa2 benzeri sınıfa dahildir. Bir diğer sınıflandırmaya göre de, alfa1 ve alfa2

zincirleri pek çok dokuda bulunduğundan klasik zincirler olarak sınıflandırılırken; alfa3-alfa6 zincirler ise dokuya özel zincirler olarak sınıflandırılmıştır.

Kollagen olmayan karboksi ucundaki NC1 bölgelerinin 2 önemli işlevi olduğu öne sürülmüştür. Bu bölge üçlü sarmal yapısının oluşmasıyla sonuçlanan doğru zincir bağlantılarının kurulması için gereklidir. Ayrıca tip IV kollagen kurgusunun ağ yapısını kazanmasında da önemlidir. Bu sırada komşu zincirlerin NC1 bölgeleri arasında disülfid bağları kurulmaktadır.

Kollagen bölgelerin karakteristik bir özelliği amino ucundaki 7S bölgesinde 4 sistein artığının korunmasıdır. Bu sisteinler 4 adet üçlü sarmalın birbirlerine disülfid bağlarıyla bağlanması için gereklidir. Alfa3 ve alfa4 zincirlerdeki sistein sayısı daha fazladır ve dolayısıyla bu zincirleri kapsayan izoformlar daha fazla bağ yaparlar. Bu ise daha fazla stres altında kalan bazal membranlar için önemlidir. Bu varsayım şu gözlemlerle de desteklenmiştir: embriyon bazal membranında alfa1:alfa2 ağı baskınken, doğum sonrası alfa3:alfa4:alfa5 ağı daha baskın olmaktadır.<sup>59</sup>

Alport sendromu kalıtsal bir böbrek hastalığıdır. Bu sendromda tip IV kollagen alfa5 zincirini kodlayan gende mutasyonlar saptanmıştır. Goodpasture sendromu ise kanda anti-glomerüler bazal membran antikorlarının dolaştığı otoimmün bir hastalıktır. Bu antikorların hedefi tip IV kollagen alfa3 zincirinin NC1 bölgesidir. Sonuçta glomerüler bazal membran yapısı ve devamında da böbrek işlevleri bozulmaktadır.<sup>59,60,61</sup>

#### II.4.4. İntegrinler

İntegrinler, hücre yüzey reseptörleri ailesinden olup adhezyona aracılık ederler. Adhezyon; hücrenin tutunması, göçü, büyümesi ve farklanmasında çok önemlidir. İki farklı hücre tutunması vardır: hücre-hücre ve hücre-matriks adhezyonu. İntegrinler esas olarak hücre-matriks adhezyonunda etkili iken hücre-hücre adhezyonunda pek çok molekül ailesi ile birlikte işlev yaparlar.

İntegrinler, 1980'lerin ortalarında bulunmuşlardır. Hücre içi iskeletini hücre dışı matrikse bağladığı için isimlerini işlevlerinden alarak "İntegrinler" olarak adlandırılmışlardır.<sup>62</sup>

İntegrinler, heterodimerik hücre adhezyon molekülleridir. İnsanda 24 tipi vardır.  $18\alpha$  ve  $8\beta$  alt birimi bulunur.  $\alpha$  ve  $\beta$  alt birimlerin kombinasyonu integrinlerin bağlanma yeri (ligand) özgünlüğünü belirler.  $\alpha4$ ,  $\alpha5$ ,  $\alpha8$ ,  $\alphaIIb$ ,  $\alphaV$  alt birimlerini içeren integrinler RGD (R: Arginin, G: Glisin, D:Aspartik asit ) dizilimine sahip olan fibronektin, vitronektin gibi hücre dışı matriks (HDM) bileşenlerine bağlanırlar.<sup>63,64</sup>

$\alpha$  ve  $\beta$  alt birimleri birbirlerine kovalent olmayan bağlarla bağlanırlar. Bir hücre dışı bölgesi, bir trans membran bölgesi ve bir hücre içi bölgesi (yaklaşık 60 amino asitlik oldukça kısa bir bölgedir.) vardır. Her bir  $\alpha$  birimi yaklaşık 1000-1150 amino asit (aa) diziliminden oluşur ve 140-220 kDa ağırlığındadır.  $\beta$  alt birimi 730-800 aa diziliminden oluşur ve 90-130 kDa ağırlığındadır.  $\alpha$  zincirinin baş bölgesinde homolog yinelenen 7 aa içeren özelleşmiş bir bölge bulunur. Buraya kalsiyum ve magnezyum gibi divalent metal iyonları bağlanır. Elektron mikroskopta globüler bir baş ve iki bacak görünür. Globüler baş, integrinlerin

ligand bağlayıcı bölgesidir. İntegrinlerin çoğu  $\alpha$  zincirindeki I. bölgelerini yitirmişlerdir. Bu eksiği disülfit bağlarıyla bağlanarak tamamlarlar.  $\beta 1$  zincirinde 48-56 sistein artığı vardır.  $\alpha$  ve  $\beta$  zincirlerin kombinasyonu her zaman reseptör oluşturmaz. Örneğin  $\beta 4$  zinciri yalnızca  $\alpha 6$  alt zinciri ile heterodimer oluşturken  $\beta 1$  zinciri 10 farklı  $\alpha$  zincirine bağlanabilir.<sup>65,66,67</sup>

Çok geç aktive olan antijenler (VLA) olarak adlandırılan  $\beta 1$  alt birimi içeren integrinler; embriyonik gelişim, hücre tutunması, göçü ve farklanması, tümör metastazı, hücreler arası sinyal iletimi ve apoptozisde önemlidirler.<sup>68,69,70,71</sup>

Yara iyileşmesi sırasındaki hücre hareketleri integrin aracılı etkileşimlere bağlıdır. Normal deriden izole edilen keratinositler fibronektin reseptörü eksprese etmezler ve fibronektinle kaplanmış yüzeylere tutunmazlar. Ancak kültürde daha uzun süre bekletilirlerse yada bir yara dokusundan izole edilirlerse reseptör ekspresyonu yaparlar ve fibronektine bağlanırlar. Yani keratinositler bir yaraya yakınlattıklarında fibronektin reseptörleri kullanarak fibronektin içeren yara matrisine göç ederler. Bu varsayım embriyonel gelişim sırasındaki çeşitli hücre göç olaylarında fibronektin ve reseptörlerinin önemini vurgulayan çalışmaları desteklemektedir.<sup>72</sup>

Normal hücreler kendi çevrelerinde HDM proteinlerini depolayarak bu proteinlere integrinleri aracılığı ile tutunurlar. Kültür ortamındaki pek çok tümör hücresi matris depolamada normal hücrelerden daha yetersizdirler. Klasik fibronektin reseptörü olarak bilinen  $\alpha 5 \beta 1$  integrin, matris depolanması için gereklidir. Tümör hücrelerinde  $\alpha 5 \beta 1$  integrin ekspresyonunun az olduğu gözlenmiştir.<sup>71</sup>

İntegrinlerin çoğu hücre dışı matris proteinlerine bağlanırlar. Bu integrinlerin hücre dışı ligandları fibronektin, fibrinojen, laminin, çeşitli kollagenler, entaktin, tenaskin, trombospondin, vitronektin ve von Willebrand faktördür. Diğer integrinler ise hücre membran proteinlerine bağlanarak hücre-hücre etkileşimini sağlarlar.<sup>62,73,74,75</sup>

Hücre dışı sinyallerin iletimini hücre iskelet proteinlerine bağlanarak yaparlar. HDM ve platelet adhezyon moleküllerine bağlanan integrinler için belirli tanıma bölgeleri vardır. Bu RGD tripeptididir. Asparajin, glysin, aspartik asitten oluşan bu aa dizgesi ilk kez fibronektinde saptanmıştır. RGD bölgesinin düzenlenimi buraya hangi ligandın bağlanacağını belirler.<sup>65</sup>

Son yıllarda integrinlerin transmembran sinyal iletiminde işlevsel oldukları gösterilmiştir. İntegrin aracılı sinyal iletimi tirozin kiraz fosforilasyonunu içerir. pp125FAK yada FAK olarak bilinen fokal adezyon kinaz, hücre adezyon yanıtı için fosforlanan bir sitoplazmik proteindir.<sup>75,76</sup>

1987 yılında adezyona aracılık eden reseptör olduğu Hynes tarafından tanımlanmıştır.  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 5$  integrinlerin sitoplazmik bölümleri sinyal iletimi düzenleniminin başlatılmasında yeterlidir.<sup>24</sup> Yapılan çalışmalarda, tirozin fosforilasyonu için transmembran kısımlarına gereksinme duyulmadığı gösterilmiştir.<sup>66</sup>

Metastatik hastalıkların ilerlemesinde fibronektin ve integrin önemli rol oynar. Tümör hücrelerinin göçü, yayılması ve metastaz da integrin –fibronektin etkileşimleri çok önemlidir. Bu proteinler HDM'ye tutunmayı sağlamanın yanısıra, kemotaksis ve çoğalma denetiminde de işlevseldirler.<sup>72</sup>

İntegrin ve fibronektin etkileşimi hücre göçü, adhezyonu, sinyal iletilmesi gibi morfogenetik olaylarda çok önemli rol oynar. Bu etkileşimle 30'dan fazla proteinden oluşan sinyalleyci molekül ailesini ve hücre iskeleti elemanlarının hiyerarşik transmembran düzenlenimini uyarır. İntegrinler büyüme faktörleriyle birlikte sinyalleri güçlendirirler. Fokal adezyon kinaz ve protein kinaz C, integrin aracılı hücre bağlanmasını aktive eder.<sup>77</sup>

**Tablo:1. İntegrinler ve ligandları**

İNTEGRİNLER	LİGANDLAR
$\alpha 1\beta 1$	Laminin, kollagen I/IV
$\alpha 2\beta 1$	Kollagenler, lamininler, tenaskin
$\alpha 3\beta 1$	Laminin, epiligrin, fibronektin, kollagen, entaktin
$\alpha 4\beta 1$	Fibronektin, VCAM-I
$\alpha 5\beta 1$	Fibronektin, L1/Ng-CAM, invazin, tenaskin
$\alpha 6\beta 1$	Laminin, merozin, invazin, kalinin
$\alpha 7\beta 1$	Lamininler
$\alpha 8\beta 1$	Fibronektin, tenaskin, vitronektin
$\alpha 9\beta 1$	Kollagen I, laminin, tenaskin, VCAM-I
$\alpha V\beta 1$	Vitronekrin, fibronektin, osteopontin
$\alpha 11\beta 1$	Kollagen
$\alpha L\beta 2$ (LFA1)	ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3
$\alpha M\beta 2$ (Mac1)	Fibrinojen, C3b, ICAM-1, X faktör
$\alpha X\beta 2$	Fibrinojen, C3b
$\alpha D\beta 2$	ICAM-1, VCAM-1
$\alpha I\text{b}\beta 3$	Fibronektin, fibrinojen, vitronektin, trombospondin, von Willebrand faktör
$\alpha V\beta 3$	Fibronektin, fibrinojen, vitronektin, trombospondin, von Willebrand faktör, osteopontin, denatüre kollagenler, tenaskin, laminin, PECAM-1, CD-31, L1-CAM

$\alpha 6 \beta 4$	Kalinin, laminin
$\alpha V \beta 5$	Osteopontin, vitronektin, fibronektin
$\alpha V \beta 6$	Fibronektin
$\alpha 4 \beta 7$	Fibronektin, VCAM-1, MadCAM-1
$\alpha 1 E L \beta 7$	E-kaderin
$\alpha V \beta 8$	Fibronektin, vitronektin



## II.5. Sinir Dokusunda Yaralanma ve Yenilenme

Bir nöron yaralandığında, yaralanan nöronun yeri doldurulamaz. Nöronlar bölünüp çoğalamayan hücrelerdir. Ancak bazı araştırmacılar, MSS'de bazı bölgelerde nöronların yenilenebildiklerini öne sürmektedirler. MSS'de oluşan hasarlar kalıcıdır. Ancak bir periferik sinir yaralanırsa yada kesilirse, nöron hasarlı bölgeyi onarmaya ve eski işlevini kazanmaya çalışır. Bunu, akson tepkimesi denen bir dizi metabolik ve yapısal olayla gerçekleştirirler.

### Akson tepkimesi:

Yaralanmaya karşı yanıt, üç bölgede olaylanır:

- 1) Yaralanmanın olduğu yerde, (yerel değişiklikler)
- 2) Yaralanmanın olduğu yerin distalinde (anterograd değişiklikler) ve
- 3) Yaralanmanın olduğu yerin proksimalinde (retrograd değişiklikler)

### Yerel değişiklikler:

Aksonun yaralanan uçları birbirinden uzaklaşır. Kesik uçların zarları, aksoplazma kaybını engellemek için kaynaşır. Aksoplazmik akım sonucu gelen materyalin birikimi sonucu kesik uçlar şişer. Makrofajlar ve fibroblastlar yaralı bölgeye gelirler. Sitokinler ve büyüme faktörleri salgırlar. Makrofajlar bazal laminaya gelirler ve Schwann hücreleri ile birlikte yaradaki artık dokuyu fagosite ederler.

### Anterograd Tepkime:

1) Akson terminali (aksonun hedef dokuya tutunduğu bölge) hipertrofi olur. Bunu izleyerek bir hafta içinde dejenerasyon gelişir. Sonuç olarak postsinaptik zar ile bağlantısı kopar. Schwann hücreleri çoğalır ve akson

terminalindeki artıkları fagosite ederler. Yeni oluşan Schwann hücreleri sinaptik aralığı doldurur.

2) Aksonun distalinde Wallerian dejenerasyonu görülür. Lezyonun distalinde, akson ve myelin birbirinden ayrılır. Schwann hücreleri myelin yapımını durdururlar. Makrofajlar ve Schwann hücreleri myelin artıklarını ortadan kaldırırlar.

3) Schwann hücreleri çoğalır, endonöryumun özgün bazal membranı ile sarılı bir Schwann hücre sütunu oluşur.

#### Retrograd tepkime ve yenilenme:

Yaralanan nöronun perikaryonu hipertrofiye uğrar, Nissl cisimcikleri dağılır, çekirdek bir kenara itilir ve hücresel bazofili kaybolur. Tüm bu değişikliklere kromatolizis denir ve aylarca sürebilir.

Bu değişikliklerden sonra, aksonun proksimal segmenti büyür ve dallanır. Bu uzantılar Schwann hücre sütunları doğrultusunda ilerler. Schwann hücre sütunlarına tutunan lifler, büyümeyi sürdürürler ve hedef organa ulaşırlar.

MSS'te bir nöron hasarı oluştuğunda ise, yaralanan hücreler mikrogliya hücrelerince fagosite edilir ve kalan boşluklar glial hücrelerinin çoğalması ile doldurulur. Bunun sonucunda işlev kayıpları oluşabilir.<sup>32,36,42</sup>

## II.6. Diyabetes Mellitus ve Kronik Komplikasyonları

Diyabetes Mellitus (DM), kandaki glukoz düzeyini dengede tutmada en önemli hormon olan insülinin biyolojik etkinliğinin yada miktarının azalması sonucu ortaya çıkan bir olgudur. 2 klinik tipi vardır:

Tip I: İnsülin bağımlı DM (IDDM): Pankreas beta hücrelerinden çok az insülin salınımı vardır yada hiç yoktur. %90 hastada pankreas beta hücrelerine karşı antikor bulunur.

Tip II: İnsüline bağımlı olmayan DM (NIDDM): 40 yaş üzeri erişkinlerde görülme sıklığı daha fazladır. Dokularda insüline karşı direnç vardır.

DM'un akut ve kronik metabolik komplikasyonları vardır. Akut metabolik komplikasyonları arasında; diyabetik ketoasidoz (DKA) ve ketoasidoz koması, hiperozmolar nonketotik diyabetik koma (HNKDK), laktik asidoz koması ve daha çok bir tedavi komplikasyonu olarak oluşan hipoglisemi ve hipoglisemi koması sayılabilir. DM'un değişik organ ve sistemlerde oluşturduğu değişikliklere ise DM'un kronik komplikasyonları denir.

1) Makrovasküler komplikasyonlar:

Koroner arter hastalıkları

Serebrovasküler hastalıklar

Periferik vasküler hastalıklar

2) Mikrovasküler komplikasyonlar:

Retinopati

Nefropati

3) Nöropatik komplikasyonlar:

Periferik simetrik polinöropati

Mononöropatiler

Otonom nöropati

Diyabetik amiyotrofi

4) Bacak ülserleri

5) Dermopati

### **Periferik Nöropati:**

Periferik sinir hastalığı, tanıdan 25-30 yıl sonra diyabetli olguların yaklaşık %50'sinde görülmektedir. Tip 1 ve Tip 2 DM'da görülen nöropatinin klinik özelliklerinin birbirine benzemesi, bu komplikasyonun gelişiminde insüline karşı doku direncinden çok hipergliseminin rolü olduğunu düşündürmektedir. Gerçekten de hiperglisemi, diyabetteki pek çok komplikasyonu tetikleyen en önemli faktördür. Hiperglisemi hem metabolik hem de vasküler yollar üzerinden pek çok patolojik değişikliklere neden olur. Bu patolojik süreçleri birbirinden ayrı ele almak olası değildir. İççe geçmiş pekçok mekanizma söz konusudur. Bunların başlıcaları:

#### Metabolik:

- 1) Artmış aldoz redüktaz aktivitesi
- 2) Glukozun oto-oksidasyonu ve reaktif oksijen radikallerinin oluşumu
- 3) Proteinlerin enzimatik olmayan şekerlenmesi (glikasyon) sonucu anormal son ürünlerin ortaya çıkması
- 4) Protein Kinaz C (PKC) aktivitesinde dengesizlik

#### Vasküler: Hipoksi ve iskemi

Bütün bu olumsuz değişikliklerin sonucunda nöronda gelişen bozukluklar ise şöyledir:

- Aksonal atrofi
- Demiyelinizasyon
- Sinir lifi kaybı
- Sinir liflerinde yetersiz iyileşme

Anatomik olarak, diyabetik periferel polinöropatide aksonlarda kalınlaşma (aksonal hücre içi sıvı artışına bağlı olabilir), mikrofilamentlerde azalma ve kapiller daralma görülür. Hastalık sürdükçe, sonunda akson kaybı gelişir. Diyabetik nöropatide, hem sinir parankimine hipergliseminin doğrudan zararı vardır, hem de hipergliseminin neden olduğu nörovasküler kan akımı azalması sonucunda nöronal iskemi söz konusudur. Kapillerlerde görülen değişiklikler, endotel hücre aktivasyonu ve proliferasyonu, bazal membran kalınlaşması, perisit dejenerasyonu ve monosit adhezyonudur.

Aksonal enzim aktivitelerinde değişiklikler ve nörotrofik faktör eksikliği de sinir parankimine zarar veren nedenler arasındadır. Endonöral ödem, sinir içi basıncı arttırıp kapillerlere baskı yapması sonucu iskemiye ve dolayısıyla sinir hasarına neden olmaktadır.

Kan akımının bozulması, endotel ve nitrik oksit bağımlı damar genişlemesinin azalması yada endotelin-1 gibi vazokonstrüktör maddelerin açığa çıkmasına bağlı olabilir. Yapılan deneylerde nöron işlevlerindeki kayıplar, oksijen desteği ve damar genişleticiler vererek azaltılmıştır.

PKC, hücre metabolizmasında önemli işlevleri olan bir enzimdir. Hücre dışı matrikste integrin ve laminin etkileşimini düzenlemekte ve akson büyümesine yardımcı olmaktadır. Diyabette PKC aktivitesindeki düzensizlikler, bu etkileşimi bozarak sinir iyileşmesine olumsuz etkide bulunmaktadır.

**Klinik sınıflandırma:**

Diyabetik periferik nöropatinin klinik sınıflandırması tablo-1'de verilmiştir. Bunun, simetrik ve asimetric sendromlar olarak iki ana sınıf vardır. Simetrik sendromlardan en sık görüleni duyusal polinöropatidir. Duyusal polinöropati genellikle sinsi başlar. Ancak sık olarak stres, enfeksiyon ve insülin tedavisine başlanması gibi tetik çekici bir etken bulunur. Duyusal nöropatinin kalın lif tipinde başlıca bulgular dokunma ve vibrasyon duyularında azalma, distal reflekslerin kaybı ve duyusal ataksi'dir. Buna karşın ince lif tipinde hiperestezi ile birlikte derin yakıcı ağrı vardır; çok az olan fizik belirtiler genellikle uçlarda ağrı ve ısıya duyarsızlık ile sınırlanmıştır. Derin tendon refleksleri korunmuştur. Saç kaybı, soluk ve parlak deri, çabuk kırılan mineral içeriği azalmış kemikler, dokular üzerindeki nörotropik etkinin kaybına işaret eder. Psödosiringomyeli durumunda hastada ince lif kaybına koşut ağrı ve ısı hissi kaybı, nörotropik eklemler, ayak ülserleri, fark edilmeyen kesik ve yanıklar olur.

**Tablo 1- Diyabetik periferik nöropatinin sınıflandırılması**

---

**Simetrik**

Duyusal nöropati (kalın lif, ince lif, karışık)

Motor nöropati (akut, subakut)

Sensorimotor nöropati

Otonomik nöropati

### **Asimetrik**

Ekstremitte mononöropati ve radikülopatisi

Torakoabdominal radikülopati

Lumbosakral pleksopati

Kranial mononöropati

### **Diğer**

Diyabetik psödotabes

Lumbosakral paliradikülopati

Diyabetik amiyotrofi

Nöropatik kaşeksi

### **Diyabetik nöropatilerde tedavi**

Diyabet komplikasyonlarının tedavi ve kontrolünün temelleri; sıkı glisemi kontrolü, vücut ağırlığının denetimi ve lipit düzeylerinin kontrolüdür. Kan şekerinin düzenlenmesiyle nöropatiye koşut ağrı hızla azalır ve diğer belirtilerde aylar içinde iyileşme olur.

### **Simetrik sendromlarda koruyucu ve küratif tedavi:**

Bu erekle genel önlemlere ek olarak aşağıda sıralanan ilaç ve yöntemler uygulanır.

1. Aldoos redüktaz inhibitörleri
2. Myo-inositol
3. Gangliosidler
4. Piridoksin (B vitamini)
5. Pentoksifilin
6. Hiperbarik oksijen

#### **Simetrik sendromlarda semptomatik tedavi:**

Nöropatik ağrı tedavisinde başlıca aşağıdaki ilaç ve yöntemler uygulanır:

- Aspirin
- Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar
- Trisiklik antidepresanlar
- Karbamezapin
- Fenitoin
- Transkutan sinir uyarılması
- Fizik tedavi; akapunktur
- Sıcak ve soğuk tatbiki, pamuklu çoraplar, hafif egzersiz.

#### **Otonom fonksiyon bozukluklarının tedavisi:**

Daha çok aşağıda belirtildiği şekilde hastada bulunan değişik belirtilere yönelik semptomatik tedavi şeklindedir.

- **Postural hipotansiyon**

Elastik çoraplar, bacak elevasyonu, fazla tuz alınması, fludrokortizon, efedrin, klonidin, kafein, ergo alkaloidleri, antihistaminikler, beta adrenerjik reseptör bloke ediciler, metaklopramid, somatostatin analogları, prostaglandin sentetaz inhibitörleri (indometazin, ibuprofen, naproksen) ve desmopresin, yararlı etkileri bildirilmiş ilaç ve önlemler arasındadır. Bu hastalarda diüretik ve fenotiazin kullanımından kaçınılmalıdır.

**- Ödem**

Elastik çoraplar, bacak elevasyonu yararlı olur.

**- Disfaji**

Antiasitler ve betanekol yararlı olabilir.

**- Gastrik atoni**

Metoklopramid, domperidon, sisaprid, küçük öğünler faydalı olabilir.

**- Diyare**

Loperamid, difenoksilat, kodein fosfat, tetrasiklin ve klonidin yararlı olabilir.

**Asimetrik sendromların, mononöropatinin tedavisi:**

Tedavide atel uygulaması ve fizik tedavi yapılabilir. Elektromiyografi ile sinirdeki lezyonun yeri saptanır. Hastanın çalışma koşulları sinir üzerine baskısı en aza indirecek şekilde düzenlenir, sinir üzerindeki bası cerrahi olarak giderilir. Hastanın nöropatiye yol açtığı bilinen durumlardan ve maddelerden (solventler, alkol, sigara, nitrofurantoin, hidralazin, dapson, izoniazid, piridoksin) sakınması önerilir. <sup>78,79,80</sup>

### III. GEREÇ VE YÖNTEM

#### **Dokuların elde edilmesi:**

250 – 300 g ağırlığında, erişkin Wistar Albino ratlardan kontrol (n=10) ve diyabetik (n=10) gruplar oluşturuldu. Hayvanlar  $22 \pm 2$  °C’li 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda standart pellet yemle beslendi. Hayvanlar her iki grupta deney süresince gıda ve su kısıtlaması uygulanmadan beslendi. Her gün temizlikleri yapıldı. Grupların 12 saatlik açlık sonrası açlık kan şekeri tespit edildikten sonra, diyabet grubuna tek doz halinde intraperitoneal 50mg / kg dozda STZ uygulandı. STZ taze olarak serum fizyolojik içerisinde çözüldü. STZ uygulandıktan 48 saat sonra kan glukoz seviyesi 250 mg / dl’nin üzerinde olanlar diyabet oluşturulmuş olarak kabul edildi. Denekler servikal dislokasyonla öldürülerek siyatik sinirleri çıkarıldı.

#### **İmmunohistokimyasal yöntem:**

Sinir dokuları %10’luk nötral formalinde 72 saat süreyle tespit edildi. Daha sonra dokular alışılagelmiş ışık mikroskop izleme yönteminden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. Bu bloklardan 4-5 mikrometre kalınlığında kesitler önceden polilizinle kaplanmış lamlara alındı.

#### **İmmün boyamada kullanılan kimyasal maddeler:**

Dokudaki fibronektinin, tip IV kollagenin ve laminin reseptörü olan  $\beta 1$  integrinin saptanması için Neomarkers marka Fibronectin Ab-11 (FBN 11, mouse Mab MS-1351-R7, Lot: 1351R106, Neomarkers, Fremont, CA), Neomarkers marka Collagen IV Ab-3 ((Coctail) Mouse Mab MS-747-RI, Lot: 747R109, 1 ml,

Fremont, CA) ve Santa Cruz marka Laminin  $\beta$ 1 (C-19, cat # SC-6018, lot # E030, goat polyclonal IgG, Santa Cruz Biotechnology) kullanıldı.

PBS tampon için: 8,79 gm NaCL, 0,275 gm KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 1,135 gm Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1000 distile su içinde çözüldü.

Primer antikor Fibronektin kullanıma hazırды.

Primer antikor Tip IV Kollagen kullanıma hazırды.

Primer antikor laminin PBS içinde 1/100 sulandırıldı.

Biyotinlenmiş sekonder antikor (goat-antipolyvalent, cat: TP-060-BN, Lot: PBN21021, Labvision, 47790 Westinghouse, Fremont, CA 94539) kullanıma hazırды.

Streptavidin Peroxidase (cat: TS-060-HR, lot: SHR20921) kullanıma hazırды.

1 ml AEC substrat'a (cat: TA-060-HAS, lot: HAS20702) 1 damla AEC Chromogen (cat: TA-004-HAC, lot: HAC21029) damlatılarak AEC hazırlandı.

Hidrojen peroxit (cat: TA-004-HP, lot: AHP21003) kullanıma hazırды.

ULTRA V Blok (cat: TA-060-UB, lot: AUB21021) kullanıma hazırды.

#### Boyama yöntemi:

Kesitler önce 37 derecelik etüvde 1 gece ve parafinden arınması için 30 dak. ksilol içinde bekletildi. Daha sonra sırasıyla absoli, %96 ve %80'lik alkollerde 10'ar dakika bekletilerek ksilol uzaklaştırıldı. 10 dak. distile suda yıkandı. Antijenik uçların açığa çıkarılması için fibronektinle boyanacak dokular sitrat tamponu (180 ml distile su içine 20 ml sitrat tamponu koyarak hazırlandı) içine yerleştirildi ve mikrodalga fırında 20 dak etkin bırakıldı. Laminin ve Tip IV

kollagenle boyanacak kesitlere proteaz damlatıldı ve 37 derecelik etüvde 20 dak tutuldu. Dokular oda ısısına soğutuldu. Distile su ile 10 dak ve sonra da PBS ile 3x3 dak yıkandı. İnkübasyon kabına dizilen kesitler hidrojen peroxite 15 dak etkin bırakıldı, PBS ile yıkandı, ve Ultra V Blok ile 5 dak etkin bırakıldı. Aralarda PBS ile yıkandı. Sonra sırasıyla primer antikor (1 saat), biyotinlenmiş sekonder antikor (20 dak), streptavidin peroxidase (20 dak) ve AEC (15 dak) damlatıldı. Yine PBS ile yıkanan kesitler Mayer's Hematoksilen'de 2 dak bekletildi. Akar suda 5 dak bekletildi ve UltraMount ile kapatıldıktan sonra Olympus BO2 foto ışık mikroskopta incelenerek fotoğrafları çekildi.

## IV. BULGULAR

### **Fibronektin:**

#### Kontrol:

Anti-fibronektin antikoruna ile işaretlenen N. İschadicus'a ait kontrol grubu kesitlerinde, her üç sinir kılıfı da düzgün bir şekilde izlendi. Epinöryum, gevşek bağ dokusu yapısında ve yağ hücrelerinden zengin olarak izlendi. Epinöryumda sadece kan damarları çevresinde hafif derecede fibronektin tutulumu dikkati çekti. Perinöryumda orta derecede ve yaygın fibronektin tutulumu görüldü. (Resim 1)

Büyük büyültmelerde endonöryumda da yaygın orta dereceli tutulum dikkati çekti. Perinöral yassı hücre çekirdekleri perinöryumun en iç katında belirgin bir şekilde izleniyordu. Bu alanda belirgin fibronektin tutulumu da saptandı. (Resim 2)

#### Diyabet:

Diyabetik gruba ait enine kesitlerde, küçük büyültmelerde, epinöryum yer yer kesintiye uğramış şekilde izlendi. Perinöryum ise düzgün bir şekilde sinir demetlerini sarıyordu. Her üç sinir kılıfında da yaygın kuvvetli fibronektin tutulumu dikkati çekti. (Resim 3)

Büyük büyültmelerde kuvvetli perinöral tutulum daha yakından izlendi. Ama perinöryumun en iç katında fibronektin tutulumu yok denecek kadar azdı. Perinöral yassı hücre çekirdekleri burada açık bir şekilde görüldü. Endonöral tutulum da yaygın ve kuvvetli olarak değerlendirildi. (Resim 4)

Daha büyük büyültmelerde ise endonöryumda Schwann hücre çekirdekleri ve kan damarları görüldü. Endonöral tutulumun özellikle kan damarları çevresinde yoğunlaştığı dikkati çekti. (Resim 5)

Sonuç olarak; diyabetik grupta kontrole oranla, her üç katta da, daha kuvvetli fibronektin tutulumu saptandı. En ilginç bulgu diyabetik sinir perinöryumunda, en iç katta, tutulumun çok zayıf olmasıydı.

### **Laminin**

#### Kontrol:

Anti  $\beta 1$  integrin-laminin antikoru ile işaretlenen kontrol grubuna ait periferik sinir enine kesitinde her üç sinir kılıfı da düzgün bir şekilde izlendi. Epinöryumda yer yer açılmalar olduğu ama genel yapının korunduğu ve epinöryumun yağ hücrelerinden zengin olduğu görüldü. Epinöryumda damar duvarlarında belirgin laminin tutulumu dikkati çekti. (Resim 6)

Büyük büyültmelerde perinöryumdaki tutulumun perinöryumun en iç katmanında ve perinöral kan damarları çevresinde daha olduğu ilgiyi çekti. Perinöral yassı hücre çekirdekleri perinöryumun iç katında açık bir şekilde izlendi. (Resim 7) Ayrıca yer yer oblik ve yer yer enine seyreden sinir lifleri arasında orta derecede bir endonöral laminin tutulumu belirgindi. Myelin kılıfta ve Schwann hücrelerinde belirgin zarsal tutulum izlendi. (Resim 8)

#### Diyabet:

Diyabetik gruba ait kesitlerde, küçük büyültmelerde, her üç sinir kılıfı da açık bir şekilde izlendi. Epinöral damarlarda kuvvetli laminin tutulumu belirgindi. (Resim 9)

Büyük büyültmelerde endonöryumun yaygın kuvvetli olarak boyandığı ve boyanmanın Schwann hücre zarı ve myelin lamellerinde belirgin olduğu gözlemlendi. (Resim 10-11)

Ayrıca perinöral tutulumun en iç katta daha kuvvetli olduğu ilgiyi çekti. (Resim 12)

Sonuç olarak; tutulumun her üç sinir kılıfında da kontrol grubuna oranla artmış olduğu dikkati çekti.

#### **Tip IV kollagen:**

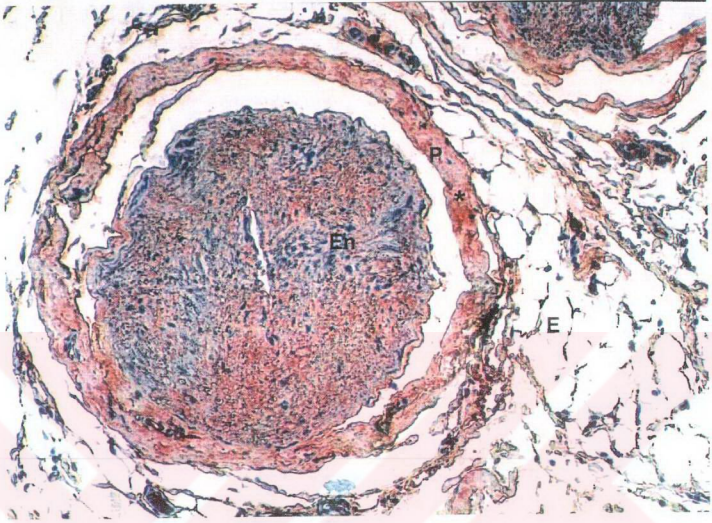
##### Kontrol:

Anti-Tip IV kollagen antikoru ile işaretlenmiş periferik sinir enine kesitlerinde perinöryum ve endonöryum düzenli bir şekilde görüldü. Yer yer oblik, yer yer enine seyreden sinir liflerinin yanı sıra endonöryumda kan damarları da izlendi. Perinöryumda, sinir liflerinin ve endonöral kan damarlarının çevresinde belirgin tip IV kollagen tutulumu saptandı. (Resim 13, 14)

##### Diyabet:

DM grubuna ait kesitlerde kontrol grubunda olduğu gibi perinöryumda ve endonöryumda belirgin tutulum dikkati çekti. Büyük büyültmelerde tutulumun perinöryumda endonöryuma oranla daha yoğun olduğu dikkati çekti. (Resim 15, 16) Bazı aksonlarda ve Schwann hücrelerinde belirgin kuvvetli tip IV kollagen tutulumu olduğu saptandı. (Resim 17)

Sonuç olarak; kontrol ve diyabet grupları arasında periferik sinirde tip IV kollagen tutulumu açısından belirgin bir farklılık saptanmadı.



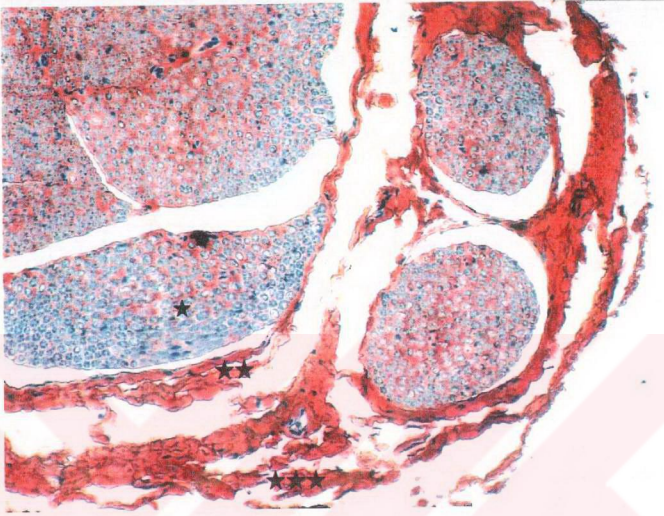
**Resim 1:** Anti-fibronektin antikoruna ile işaretlenen N. İschadicus'a ait kontrol grubu kesitlerinde, her üç sinir kılıfı da düzgün bir şekilde izleniyor. (Epinöryum:E, Perinöryum:P, Endonöryum:En). Perinöryumda orta dereceli fibronektin tutulumu(\*) görülüyor.

İmmünperoksidaz, Hematoksilen X200

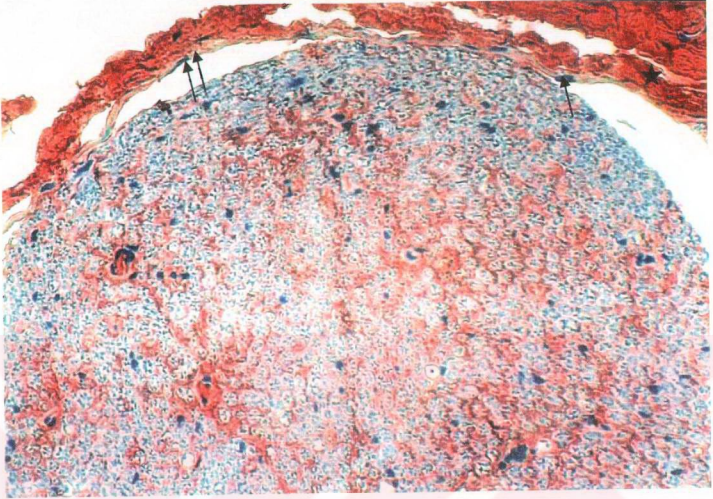


**Resim 2:** Endonöryumda(\*) ve perinöryumda(\*\*) orta dereceli fibronektin tutulumu ve perinöral yassı hücre çekirdekleri(†) izleniyor.

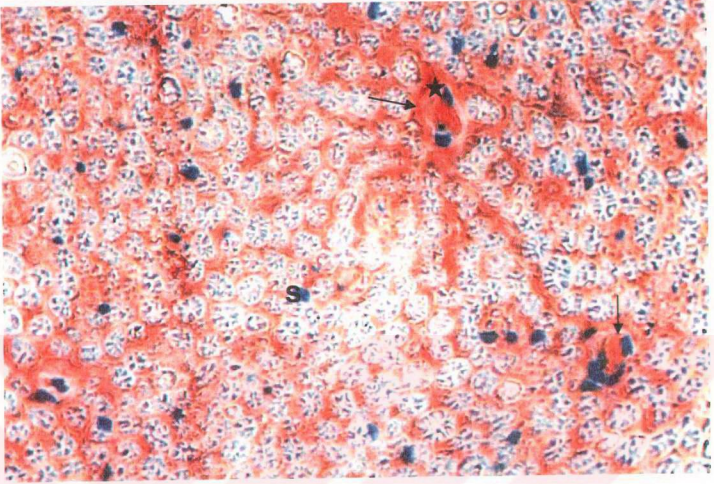
İmmünperoksidaz, Hematoksilen X400



**Resim 3:** Her üç sinir kılıfında da (Epinöryum:\*\*\*, Perinöryum:\*\*,  
Endonöryum:\*)yaygın kuvvetli fibronektin tutulumu dikkati çekiyor.  
İmmünperoksidad, Hematoksilen X100

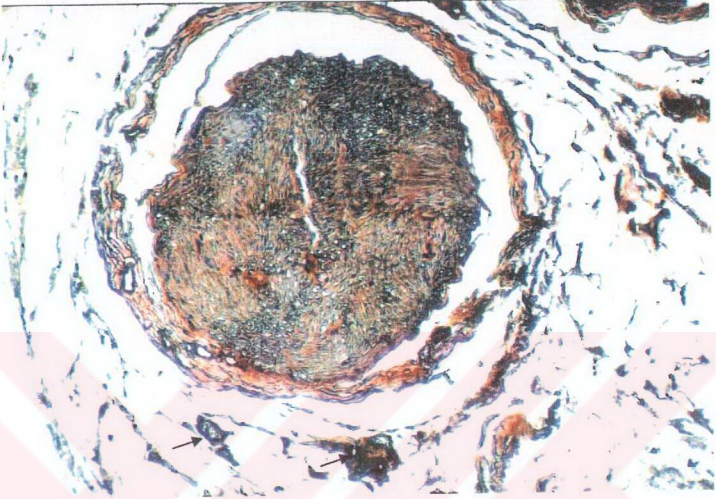


**Resim 4:** Büyük büyültmelerde kuvvetli perinöral tutulum(\*) daha yakından izleniyor. Perinöryumun en iç katında fibronektin tutulumunun çok az olduğu(††) görülüyor. Perinöral yassı hücre çekirdekleri(†) açık bir şekilde izleniyor. İmmünperoksidaz, Hematoksilen X200



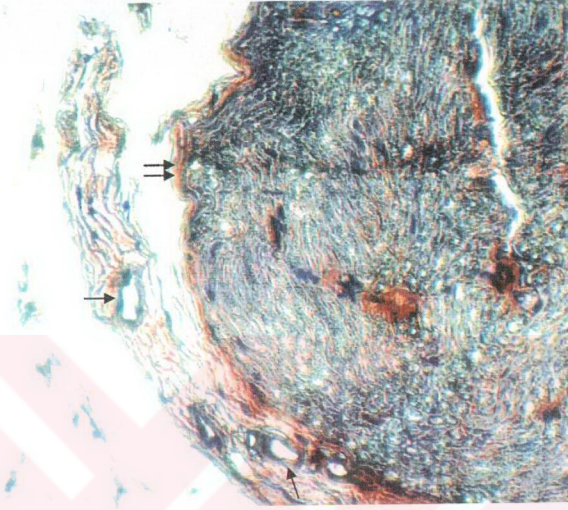
**Resim 5:** Daha büyük büyültmelerde ise endonöryumda Schwann hücre çekirdekleri(S) ve kan damarları(↑) görülüyor. Endonöral tutulumun özellikle kan damarları çevresinde(\*) yoğunlaştığı dikkati çekiyor.

İmmünperoksidad, Hematoksilen X400



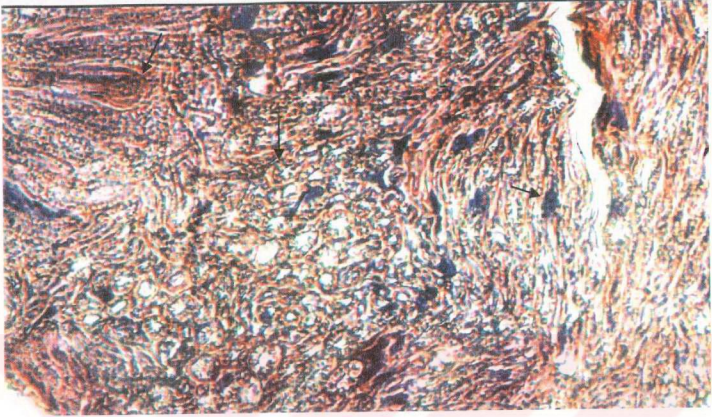
**Resim 6:** Anti  $\beta 1$  integrin-laminin antikoru ile işaretlenen kontrol grubuna ait periferik sinir enine kesitinde epinöryumda damar duvarlarında belirgin laminin tutulumu(†) dikkati çekiyor.

İmmünperoksidad, Hematoksilen X200



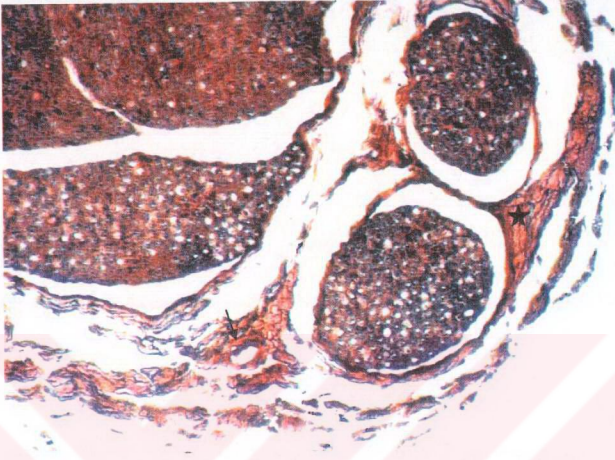
**Resim7:** Büyük büyültmelerde perinöryumdaki tutulumun perinöryumun en iç katmanında(↑↑) ve perinöral kan damarları çevresinde(↑) daha olduğu görülüyor.

İmmünperoksidaz, Hematoksilen X400

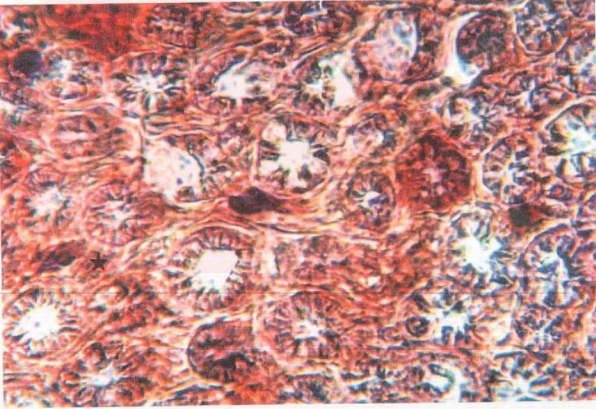
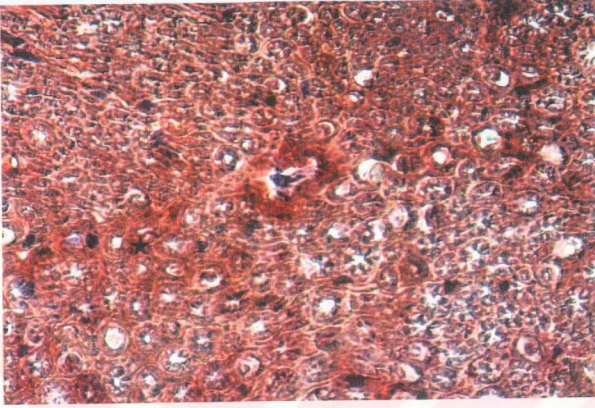


**Resim 8:** Myelin kılıfta ve Schwann hücrelerinde belirgin zarsal tutulum(↑) izleniyor.

İmmünperoksidaz, Hematoksilen X400



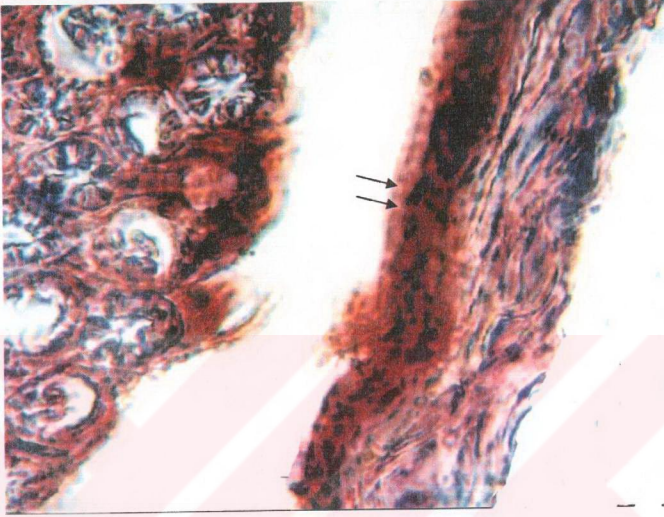
**Resim 9:** Diyabetik gruba ait kesitlerde, epinöral damarlarda(↑) ve perinöryumda(\*) kuvvetli laminin tutulumu görülüyor.  
İmmünperoksidaz, Hematoksilen X100



**Resim 10, 11:** Büyük büyültmelerde endonöryumun yaygın kuvvetli olarak boyandığı(\*) gözleniyor.

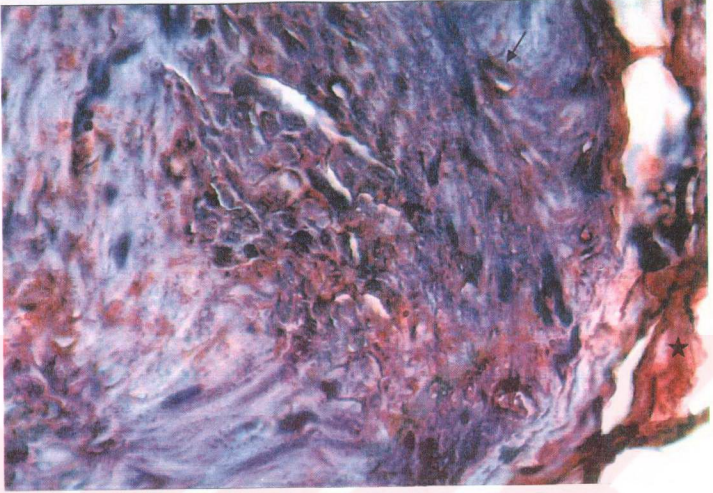
İmmünperoksidaz, Hematoksilen X400

İmmünperoksidaz, Hematoksilen X1000



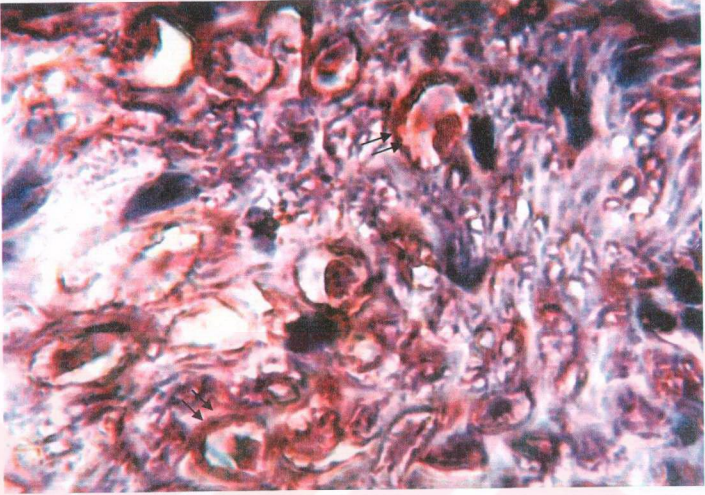
**Resim 12:** Ayrıca perinöral tutulumun en iç katta daha kuvvetli olduğu(↑↑) görülüyor.

İmmünperoksidad, Hematoksilen X1000



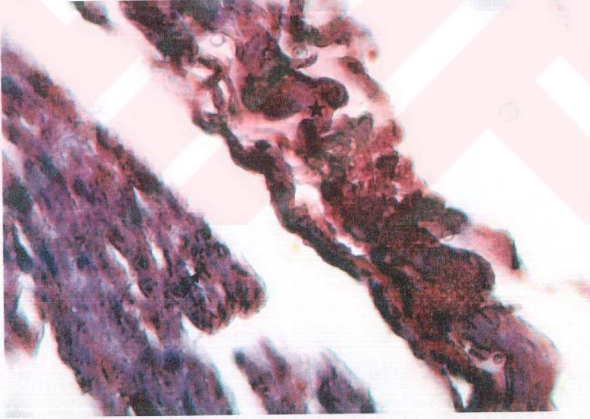
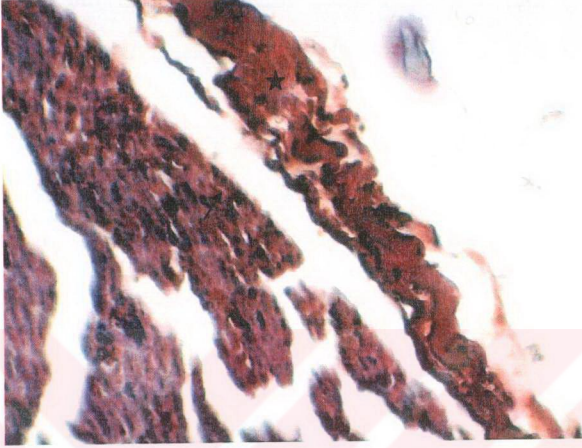
**Resim 13:** Anti-Tip IV kollagen antikorü ile işaretlenmiş periferik sinir enine kesitlerinde perinöryumda(\*), endonöral kan damarlarının çevresinde(↑)belirgin tip IV kollagen tutulumu gözleniyor.

İmmünperoksidaz, Hematoksilen X400



**Resim 14:** Sinir liflerinin çevresinde(↑↑) belirgin tip IV kollagen tutulumu gözleniyor.

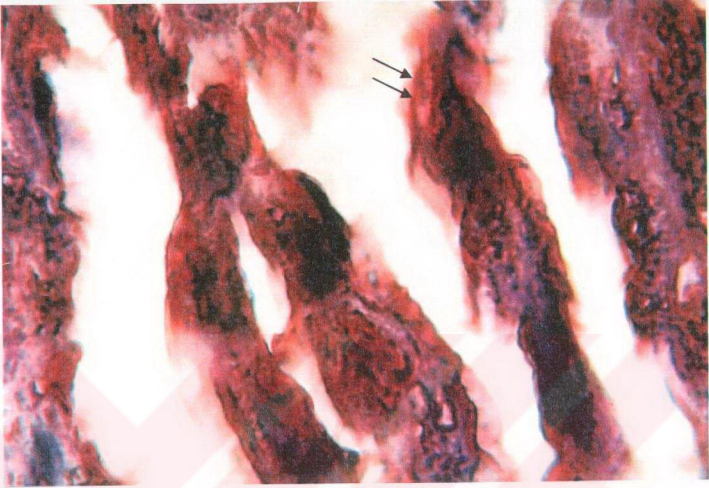
İmmünperoksidaz, Hematoksilen X1000



**Resim 15, 16:** Büyük büyültmelerde tutulumun perinöryumda (\*) endonöryuma(†) oranla daha yoğun olduğu dikkati çekiyor.

İmmünperoksidaz, Hematoksilen X200

İmmünperoksidaz, Hematoksilen X400



**Resim 17:** Sinir lifleri çevresindeki kuvvetli tip IV kollagen tutulumu(↑↑) daha yakından görülüyor.

İmmünperoksidad, Hematoksilen X1000

## V. TARTIŞMA VE SONUÇ

Periferik nöropati, periferik sinirlerin yapı ve işlevinin bozulmasıdır. Diyabet, periferik nöropatinin en yaygın nedenlerinden birisidir. Diyabet, kandaki glukoz düzeyini ayarlama da önemli olan insülinin biyolojik etkinliğinin yada miktarının azalması sonucu ortaya çıkar. Temel patoloji, kan glukoz düzeyinin sürekli yüksek olmasıdır. Bu yüksek glukoz düzeyi zamanla, başta periferik sinirler olarak, pek çok organda geri dönüşümsüz arazlara neden olmaktadır. Periferik nöropati diyabetli hastaların yaklaşık yarısında görülür. Nöropati gelişiminde insüline karşı doku direncinden çok hipergliseminin rolü vardır. Hiperglisemi, diyabetteki pek çok yan etkiyi tetikleyen en önemli etkindir.<sup>78,81,82</sup>

Diyabetik nöropati patogenezi hem metabolik hem de vasküler pek çok etkeni kapsar. Glukozun oto-oksidasyonu ve reaktif oksijen radikallerinin oluşumu, aldoz redüktaz aktivitesinde artış, proteinlerin enzimatik olmayan şekerlenmesi (glükasyon) sonucu anormal son ürünlerin ortaya çıkması ve protein kinaz C (PKC) aktivitesinde dengesizlik diyabetteki metabolik bozuklukları oluşturur. Tüm bu olumsuz değişikliklerin sonucunda nöronda aksonal atrofi, demiyelinizasyon ve sinir lifi kaybı görülür.<sup>79,81</sup>

Diyabete bağlı periferik nöropatide aksonlarda kalınlaşma, mikrofilamentlerde azalma ve kapiller daralma izlenir. Diyabetik nöropatide, hem sinir parankimine hipergliseminin doğrudan zararı vardır, hem de nöron iskemisi söz konusudur. Kapillerlerde görülen değişiklikler, bazal membran kalınlaşması, endotel hücre aktivasyonu ve proliferasyonu, monosit adhezyonu ve perisit dejenerasyonudur.<sup>79</sup>

Ayrıca diyabetin süresine bağlı olarak miyelin kılıfta da bozulmalar ortaya çıkmaktadır. 4 haftalık diyabet sonucunda periferik sinir miyelininde belirgin bir bozulma görülmezken, 8 hafta sonrasında miyelin kılıfta yarıklanmalar ve dejenere miyelin figürler izlenmiştir.<sup>83</sup>

Hücre dışı matriks birikimi, akson atrofisi, miyelin kaybı, akson dejenerasyonunu izleyen dairesel bazal membran tüplerinin oluşumu ve sinir lifi kaybı diyabetik periferik sinirde görülen en önemli yapısal değişikliklerdir. Hücre dışı matriks birikimi sonucu perinöral hücre bazal membranında<sup>84,85,86,87</sup> ve endonöral kapiller endoteli<sup>85,86</sup> ve bazal membranlarında<sup>88</sup> kalınlaşma olur.

Hücre dışı matriks(HDM) molekülleri sinir dokusunun gelişim ve sürekliliğinde önemli rol oynarlar.<sup>89</sup> HDM mikro çevresinde olaylanan değişiklikler, hücre davranışları üzerinde büyük etkilere neden olurlar. Periferik sinir HDM'si, periferik sinir liflerini gerilim ve basınçtan korur. Ayrıca kan-sinir engelini oluşumuna da katkıda bulunur.<sup>85</sup> Ayrıca hücre yüzey reseptörleriyle ve çeşitli büyüme faktörleriyle etkileşerek düzenleyici pek çok işlev görürler. HDM molekülleri gelişim ve yenilenme sırasında akson uzamasını denetlerler. Bunlara ek olarak Schwann hücre çoğalmasını ve farklanmasını da düzenlerler.<sup>81,85</sup>

HDM sinir sisteminin çok önemli bir bileşenidir ve hücre çoğalması, göçü ve hücre şeklinin korunmasında önemlidir.<sup>89</sup> HDM'nin iki önemli bileşeni vardır: Schwann hücrelerini saran bazal lamina ve endonöral kollagen. Tip I, III, IV ve V kollagenler sinir liflerine koştur uzunlamasına bir dizilim gösterirler. Perinöral hücreler ve kan damarı endotel hücreleri de HDM bileşenlerindedir.<sup>87,90</sup>

Diyabetik nöropatide, periferik sinir HDM' sinde belirgin değişiklikler

oluşur. Bu değişiklikler nöropati patogeneğinde çok önemlidir. <sup>87,91</sup>

Yapılan çalışmalarda diyabetin periferik sinirde laminin, kollagen, fibronektin ve diğer bazı HDM bileşenlerinde belirgin yapısal değişikliklere neden olduğu ve sinir yenilenmesinin bu nedenle bozulmuş olabileceği öne sürülmektedir.

Laminin, bazal membranın ana bileşenidir. <sup>92</sup> Lamininler heterotrimerik moleküllerdir ve bir  $\alpha$ , bir  $\beta$  ve bir  $\gamma$  zincirinin disülfid bağlarıyla bağlanmasıyla oluşurlar. Günümüzde 5  $\alpha$ , 3  $\beta$  ve 3  $\gamma$  zinciri tanımlanmıştır. Bugüne değin 14 farklı laminin zinciri klonlanmıştır ve bu zincirlerden yaklaşık 15 laminin trimeri oluşmaktadır. Lamininlerde çoğunlukla ortak bir yapı vardır. Yapı haç yada "T" şeklindedir. 3 kısa kol ve bir uzun koldan oluşur. Her kısa kolda "bölge VI ve IV" denilen globüler alanlar ve bunlar arasında çubuk benzeri "bölge V ve III" alanları bulunur. Uzun kol ise heterotrimerik bir yapıdır ve her üç zincir de uzun kolun yapısına katılır. Laminini parçalayan enzimler pepsin, pankreatik elastaz, tripsin ve katepsin G' dir. <sup>44,46,93</sup>

Çok önemli işlevleri vardır. Bazal laminanın önemli bir yapısal elemanı olarak bir çatı oluşturarak diğer bazal lamina bileşenlerinin tutunmasını sağlarlar. Distroglikanlar gibi hücre yüzey reseptörleri için tutunma bölgeleri oluştururlar. İntegrinler üzerinden sinyal molekülleri gibi davranarak hücre göçü, farklılaşması ve çoğalmasına katkıda bulunurlar. İn vitro ortamda laminin, nörit uzamasını ve yaşam süresini artırır. Merkezi sinir sistemi nöronlarının kültürdeki HDM üzerinde büyüme yetenekleri ve periferik sinir sistemi'nin (PSS) yenilenme

yeteneği, bazal membrandaki laminine kısmen de olsa bağlıdır. Periferik sinir yaralanmasından sonra laminin ekspresyonu uyarılmaktadır.<sup>44, 94</sup>

Periferik sinir miyelinleşmesinde hücre dışı matriksin ve özellikle de lamininlerin etkin olduğu bildirilmiştir. Alfa2, beta 1 ve gama 1 zincirlerinden oluşan laminin-2, PSS'nin en önemli hücre dışı matriks bileşenidir.<sup>95,96</sup>

Chen ve arkadaşlarının çalışmasında laminin gama 1 zincir defekti olan farelerde, miyelinleşmenin bozulduğu ve periferik sinir sistemi gelişiminin yavaşladığı görülmüştür.<sup>95</sup>

Laminin-2 alfa 2 zincirindeki defekt ise konjenital musküler distrofi denen ağır bir kas hastalığına neden olmaktadır.

McGowan ve Marinkovich ise laminin-5'teki bir mutasyonun ağır deri hastalıklarına neden olduğunu bildirmişlerdir.<sup>97</sup>

İmmünohistokimyasal çalışmalar normal periferik sinirde lamininin, kan damarları ve Schwann hücre bazal membranında bulunduğunu göstermiştir. Perinöryumda ise en iç katmanda sınırlıdır. Elektron mikroskopik olarak bu en iç katman, belirgin lamina lusida'sı olan tek katmandır. Perifasiküler diffüzyon engelini yapan da bu katmandır.<sup>98</sup>

Perinöryumdaki perinöral hücre katmanı, sinir fasikülünün kalınlığı ile orantılıdır.<sup>86,99</sup> Elektron mikroskopik görüntülerde bu nokta gözden kaçabilir. Perinöral hücre katmanı ile sinir fasikülü kalınlığı ilişkisi gözetilerek yapılan bir çalışmada diyabetik sinir perinöryumunda laminin miktarında artış saptanmış ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.<sup>84</sup>

Bradley ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise endonöral kan damarlarının bazal laminalarında kuvvetli laminin tutulumu görülmüştür. Ayrıca laminin tutulumu perinöryumun en iç katmanlarında da belirgin olarak izlenmiştir. Yine aynı çalışmada bazı diyabetiklerde ise tüm katmanlarda lamininin pozitif olduğu saptanmıştır.<sup>98</sup> Ancak Bradley ve arkadaşlarının bulguları sadece ışık mikroskop alanlarının karşılaştırılmasına dayanmaktadır. Sayım yapılmamıştır.

Biz de çalışmamızda her iki grupta da laminin tutulumunun endonöral kan damarları çevresi, Schwann hücre bazal laminaları ve perinöryumun en iç katında yoğun olmak üzere perinöryumda yaygın olduğunu saptadık. Ama genel olarak diyabetik gruptaki tutulum kontrole oranla daha kuvvetliydi. Ayrıca bugüne değin yapılan çalışmalara ek olarak, yine her iki grupta, epinöryumda da orta dereceli laminin tutulumu gözledik. Ama Bradley ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi, bizim de bulgularımız ışık mikroskopik gözlemlere bağlıydı ve ölçüm yapmadık.

Endonöryumda izlenen laminin artışı, kalıtsal motor ve duyuşal nöropati gibi diğerk bazı nöropatilerde<sup>98</sup> de izlendiğı için; bu bulgunun diyabete özgülü değildir.

Nöronların hücre dışı substratlara tutunması, nöron uzantılarının kültür ortamında büyümesi için gereklidir. Diyabetik arka kök gangliyonu nöronları laminin, tip I ve IV kollagen ve fibronektine iyi tutunamazlar. Buna neden uzun dönem hipergliseminin, HDM proteinlerinde enzimatik olmayan şekerlenme(glikasyon) oluşturmasıdır. Glikasyon, lamininin integrinlere

bağlanmasını engelleyebilir. Bir çalışmada laminin glikasyonu, kültürdeki nöroblastom hücrelerinde nörit uzamasını baskılamıştır.<sup>91</sup>

HDM bileşenlerinin sinir yenilenmesinde önemli işlevleri vardır. Bu bileşenler, nöritlerin uzaması ve hedef dokuyu bulması sırasında etkindir.<sup>91</sup> Laminin gelişmekte olan aksonlar için önemli bir rehber moleküldür. Akson büyürken doğrudan HDM proteinlerine tutunur.<sup>100,101</sup> Büyüme konisindeki aktin filamanları ile HDM bileşenleri arasındaki integrin aracılı etkileşimlerle akson sağlıklı bir şekilde büyümesini sürdürür. Diyabette bu etkileşimdeki bileşenlerin glikasyona uğraması, büyüme konisinin hareketliliğini bozabilir ve akson büyümesini yavaşlatabilir. Laminin üzerinde şeker metabolizmasına ait son ürünlerin (AGE) oluşması, laminin polimeri kurulumu azaltır ve böylece lamininin diğer HDM bileşenlerine bağlanması bozulur.<sup>87,91</sup>

440 kDa'luk bir dimer olan fibronektin, gelişmekte olan periferik sinir sisteminde HDM nin önemli bir bileşenidir ve yenilenmeye katkıda bulunur.<sup>102</sup> Embriyogenezis, yara iyileşmesi, fagositoz ve kan pıhtılaşması gibi olaylarda etkindir. Fibronektin, 250 kD ağırlığındaki iki polipeptit zincirinin birbirine karboksil uçlarından disülfid bağlarıyla kovalent olarak bağlanmalarıyla oluşur. Fibronektin polipeptidinin üzerinde kollagen, heparin, fibrin, stafilokoklar, immün globulinler, trombospondin, mikroorganizmalar, plazminojen ve hücreler için bağlanma bölgeleri bulunmuştur. Amino terminalinde fibrinojen, heparin ve stafilokoklar için birer bağlanma bölgesi vardır.<sup>52,56</sup>

Hücreler için tutunma bölgesi, fibronektin zincirinin ortasındaki tip III modülündedir. Bu segmentteki RGD dizilimi (R: Arginin, G: Glisin, D:Aspartik

asit) hücre yüzey reseptörlerince tanınır. RGD sekansının çıkarılması hücre adhezyon aktivitesinin kaybolmasına neden olur. Pekçok hücre  $\alpha 5\beta 1$  integrinleriyle ve plateletler de  $\alpha IIb\beta 3$  integrinleriyle RGD sekansını tanıyarak fibronektin'e tutunur.<sup>52</sup> Ayrıca fibronektin gen delesyonu olan farelerde ciddi kardiyovasküler ve sinir sistemi defektleri görülmüştür.<sup>89</sup>

Schwann hücrelerinin laminin, fibronektin ve tip IV kollajenden oluşmuş bir ağ yaptığı ve bu yapının miyelinleşme öncesi Schwann hücre proliferasyonuna katkıda bulunduğu gözlemlenmiştir.<sup>89</sup> Siyatik sinir yenilenmesi sırasında görülen fibronektin ve onun integrin reseptör düzeylerindeki artış, aynı moleküllerin siyatik sinir gelişimindeki artışları ile benzer düzeydedir.<sup>103</sup> Sinir gelişimi ve miyelinleşme sırasında aksonal integrin  $\alpha 5\beta 1$ , fibronektine bağlanır ve aktin filamanı ile etkileşir.

Pek çok çalışmada laminin ve fibronektinin sinir kesilerinde iyileşmeyi hızlandırdığı bildirilmiştir.<sup>94, 104</sup>

Normal periferik sinirde fibronektin tutulumu Schwann hücre, kan damarları ve perinöryumun tüm katmanlarındaki perinöral hücre bazal laminalarında belirgin olarak izlenmiştir. Bradley ve arkadaşlarının çalışmasında, diyabetik sinirde fibronektin tutulumun sağlıklı kontrollerinkine eşdeğer olduğu yani; Schwann hücre ve kan damarı bazal laminalarında ve perinöral hücre katmanlarının tamamında belirgin olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada diyabette fibronektin dağılımı ve boyanma özelliklerinin diğer bazı nöropatilerde de görüldüğü bildirilmiştir.<sup>98</sup>

Bradley ve arkadaşlarının kontrollere ait bulguları bizim bulgularımızla uyumluydu. Biz de sağlıklı kontrollerde fibronektin tutulumunun Schwann hücre ve kan damarı bazal laminalarında ve perinöral hücre katmanlarının tamamında belirgin olduğunu gördük. Ayrıca biz epinöryumda da belirgin fibronektin tutulumu saptadık.

Yasuda ve arkadaşları siyatik sinirdeki nöron dışı hücrelerde, yüksek glukoz yoğunluğu altında, fibronektin ve tip I-IV kollagen mRNA ekspresyonunda artış gözlemlendiğini saptamışlardır.<sup>81</sup>

Hill ve arkadaşlarının çalışmasında ise diyabetik sinir perinöryumunda fibronektin tutulumu, kontrollere karşı daha belirgin bulunmuş ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır.<sup>84</sup>

Diyabetik gruba ait immünohistokimyasal sonuçlarımız da bugüne değin elde edilen verilerle koşuttur. Bradley ve ark., Hill ve ark ve Yasuda ve arkadaşlarının bulgularına koşut olarak, biz de diyabetik grupta fibronektin tutulumunun kontrole oranla arttığını saptadık. Ayrıca ilginç bir şekilde perinöryumun en iç katmanının ise çok az boyanmadığını gördük. Oysa önceki çalışmalarda böyle bir bulguya rastlanmamıştır. Bunun birkaç olası nedeni olabilir. Perinöryumun en iç katı, periferik difüzyon engelini yapan kattır.<sup>98</sup> Ayrıca glikolizasyon son ürünleri antikor bağlanmasını engelleyebilir.<sup>105</sup> (Bucala 1995) Diyabet sonucu açığa çıkan zararlı son ürünler en çok bu katta birikmiş ve bu katın yapısında bulunan fibronektinin yapısını diğer katlardakilere oranla daha fazla bozmuş olabilir. Bunun sonucunda da yapısı bozulan fibronektin, antikor tutamamış olabilir.

Kollagenler hücre dışı matriksin önemli bir bileşenidir. Bugüne değin yaklaşık 19 farklı kollagen molekülü tanımlanmıştır. Tip I, II ve III gibi fibriller kollagenler; tendon ve ligamentlere esneklik kazandırır. Tip IV kollagen gibi fibriller olmayanlar ise bazal laminanın yapısına katılırlar.<sup>86,89,98</sup>

Tip IV kollagen proteini 3 alfa zincirden oluşan üçlü sarmal bir moleküldür. Bugüne değin 6 adet tip IV kollagen alfa zinciri tanımlanmıştır. Her zincirde Gly-Xaa-Yaa tekrarlarını taşıyan ve kollagen olmayan kısa zincirlerle yer yer kesintiye uğrayan 1400 artıklık kollagen bir bölge vardır.<sup>59</sup> Tüm bazal membranlarda bulunan tip IV kollagen'in en yaygın izoformu 2alfa(IV) ve 1 alfa2(IV) zincirinden oluşan trimerdir.

Alport sendromu kalıtsal bir böbrek hastalığıdır. Bu sendromda tip IV kollagen alfa5 zincirini kodlayan gende mutasyonlar saptanmıştır. Goodpasture sendromu ise kanda anti-glomerüler bazal membran antikollarının dolaştığı otoimmün bir hastalıktır. Bu antikolların hedefi tip IV kollagen alfa3 zincirinin NC1 bölgesidir. Sonuçta glomerüler bazal membran yapısı ve devamında da böbrek işlevleri bozulmaktadır.<sup>59,60,61</sup>

Bradley ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptığı bir çalışmada, normal sural sinirde tip I ve III kollagen tutulumunun her üç katmanda da belirgin olduğu ancak en kuvvetli tepkimenin perinöryumda olduğu bildirilmiştir. Endonöryumda tip III kollagen tutulumu, tip I'e karşın daha belirgin bulunmuştur. Tip IV kollagen, endonöral kan damarlarının bazal laminalarında ve Schwann hücreleri çevresinde saptanmıştır. Tip IV kollagen, damar duvarları dışında, genel endonöral bağ dokusu yada epinöryumda izlenmemiştir. Ayrıca tip VI kollagen

kan damarlarının bazal laminalarında da saptanmıştır. Tip VI kollagenin hücre dışı matriks düzenleyicisi gibi işlev gördüğü düşünülmektedir.<sup>98</sup>

Biz de çalışmamızda normal periferik sinirde, tip IV kollagen tutulumunun endonöryum ve perinöryum da belirgin olduğunu gördük. Bradley ve arkadaşlarının bulgularına koşut olarak, endonöral tutulumu daha çok kan damarları ve Schwann hücre çevresinde saptadık.

Yasuda ve arkadaşları yüksek glukoz yoğunluğu altında, Schwann hücreleri ve perinöral hücrelerde tip IV kollagen pro- $\alpha$ 1 ve pro- $\alpha$ 2 ve tip I kollagen pro- $\alpha$ 1 zincir mRNA ekspresyonunda artış bulunduğunu ve artmış tip IV kollagen sentezinin, perinöral hücre katmanları arasında yoğun birikime neden olabileceğini bildirmişlerdir.<sup>81</sup>

Williams ve arkadaşları sinir fasikülü ve perinöral bazal membran kalınlığı arasındaki ilişkiyi gözetererek yaptıkları çalışmalarında, diyabetikler ve sağlıklı kontroller arasında, perinöryumdaki tip IV kollagen miktarı açısından fark bulamamıştır Her iki grupta da sinir fasikülü kalınlığı ve her perinöryum birimindeki tip IV kollagen miktarı arasında yakın ilişki olduğu yani; diyabete özgü tip IV kollagen artışı olmadığı görülmüştür. Bunun nedeni olarak da tip IV kollagen artışının nöropatinin erken dönemlerinde değil çok daha ileri dönemlerinde görülebileceğini öne sürmüşlerdir.<sup>86</sup>

Hill ve Williams'ın çalışmasında diyabetik, diyabetik olmayan periferik damar hastalıklı ve sağlıklı olarak üç grup, perinöral hücre bazal membran kalınlıkları açısından karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak diyabetik grupta perinöral hücre bazal membran kalınlığı diğer iki gruba karşın artmış olarak bulunmuştur.<sup>85</sup>

Bu sonuç, bazal membran kalınlığındaki artışın bazal membran bileşenlerindeki artışla ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak Hill ve Williams, 2002'deki çalışmalarında, diyabetik sinirde laminin ve tip IV kollagen miktarında kontrollere karşın belirgin bir değişiklik saptamadıklarından; son çalışmalarındaki perinöral hücre bazal membran kalınlığındaki artışın, bazal membranda bulunan tip I kollagen gibi daha küçük bileşenlerin artışına bağlı olabileceğini bildirmişlerdir.<sup>84</sup>

Bizim gözlemlerimize göre diyabetik grupta tip IV kollagen tutulumu kontrollere oranla daha belirgindi. Ama bulgularımız, Bradley ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi, ışık mikroskopik alanların karşılaştırılması esasına dayandığından bu tutulum farkının istatistiksel anlamda belirgin olup olmadığını saptayamadık. Yine de bulgularımız diyabetiklerde az da olsa tip IV kollagen tutulumunda artıştan bahseden Hill ve Williams ve Williams ve arkadaşlarının bulgularıyla koşuttur. Ama bu noktada şunu da gözardı etmemek gerekir ki çalışmamızın sonuçları hayvan deneylerine dayanmaktadır. Hill ve Williams ve Williams ve arkadaşları ise çalışmalarını hasta insanlardan alınan biyopsi materyalleriyle yapmışlardır. Bu materyal farkı bulgularımızdaki olası farklılıkların nedeni olabilir.

Muona ve arkadaşları Schwann hücreleri, perinöral hücreler ve fibroblastlardan oluşan in vitro bir preparasyon hazırlamışlar ve ortamda aşırı glukoz olduğunda Tip I ve IV kollagen üretiminde artış olduğunu bildirmişlerdir.<sup>106</sup>

Diyabetik nöropatili hastalarda endonöryumdaki tip VI kollagen miktarında artış saptanmıştır.<sup>98,106</sup> Bu artış diğer nöropatilerde ortaya çıkmadığından, kısmen de olsa, diyabete özgüdür denilebilir.

Muona ve arkadaşlarının 1989'daki çalışmasında, diyabetik periferik sinirde endonöral lif çapında artış saptanmıştır.

Bradley ve arkadaşlarının çalışmasında, diyabetik sinirlerde endonöral kollagen miktarında artış saptanmıştır. Tip I ve III kollagen miktarları kontrollere yakın bulunmuş ancak tip II kollagen hiç saptanmamıştır. Belirgin Tip IV ve V kollagen tutulumu özellikle endonöral kan damarlarının bazal laminalarında görülmüştür. Tip V kollagen özellikle perinöryumun en iç katmanlarında izlenmiştir. Ayrıca perinöryumda da tip IV kollagen miktarında ve endonöral kollagen lif çapında artış görülmüştür. Ancak bu artışlar diğer bazı nöropatilerde de görüldüğünden diyabete özgü sayılmamıştır.<sup>98</sup>

Layton ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada da diyabetik siyatik sinirde tip I, III ve IV kollagen miktarlarında artış saptanmıştır. Epinöryum ve perinöryumdaki tip III ve IV kollagen artışları belirgin; tip I kollagen artışı, her üç katmanda da, kontrollere oranla anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca aynı çalışmada endonöral ve epinöral kollagen çaplarında artış saptanmıştır.<sup>107</sup>

Hücre dışı matriks proteinleri uzun süreli hiperglisemilerde şekerlenmektedir.<sup>81,87</sup> Proteinlerin şekerlenmesi ise hücre dışı matriks bileşenlerinin yapı ve işlevlerini bozmakta ve bu nöron yaşam süresini, nörit büyümesini ve hücre morfolojilerini olumsuz etkilemektedir.<sup>91</sup> Şekerlenmiş

kollagen proteazlarca sindirime dayanıklı olması, diyabetiklerdeki kollagen artışının bir nedeni olabilir.<sup>81,98</sup>

Diyabetik polinöropatide akson dejenerasyonundan hemen sonra dairesel bazal lamina tüpleri görünür. Normal koşullarda bu tüpler, akson ve miyelin artıklarının temizlenmesiyle ortadan kalkarlar. Ancak diyabette bu tüplerin içi kollagen liflerle dolar ve tüp ortadan kalkmaz. Tüp içindeki bu kollagen lifler aksonun uzamasını engeller. Diyabetik sinirlerin iyileşmesini yavaşlatan etkenlerden birisi de bu olabilir.<sup>81,87</sup>

Kollagenlerin şekerlenmesi (glükasyon), çapraz bağ oluşumuna neden olarak kollagen yapı ve işlevlerinde değişikliklere neden olur. Tip IV kollagenin NC1 bölgesinde glukoz metabolizmasına ait son ürünlerin birikimi, tip IV kollagen ağı oluşumunu engeller. Bir çalışmada arka kök gangliyon nöronlarının şekerlenmiş tip IV kollagene tutunabilme yeteneğinin, glükasyondan 35 gün sonra %60 azaldığı görülmüştür. Aynı çalışmada nöron yaşam süresinin azaldığı ve nörit büyümesinin de yavaşladığı da gözlemlenmiştir.<sup>87,91</sup>

Perinöryum, kan-sinir engelini önemli bir bölümünü yapmaktadır. Şekerlenmiş proteinler glükozillenmiş proteinler burada tutulmaktadır. Bu da perinöral hücre bazal membran (PCBM) kalınlığındaki artışın bir nedeni olabilir. (16) Bazal membran kalınlığındaki artış ise, perinöryumda izlenen bazal membran bileşenlerindeki artışı açıklayabilir. PCBM kalınlığındaki bu artış, perinöryumun sertleşmesine neden olur. Bunun sonucunda perinöryum, endonöral ozmotik basınç değişikliklerine uygun yanıt veremez. Bazal membran artışı, perinöryumdan geçerek endonöryuma besin ve oksijen taşıyan kan damarlarında

deformasyona neden olabilir. Tüm bunların sonucunda ise endonöral hipoksi gelişebilir.<sup>84,85,86,87,88</sup> Periferik sinir hücre dışı matriks bileşenlerindeki artış, mikro çevresi bozulan akson ve hücreleri korumaya yönelik bir uyum olabilir.

Biz bu çalışmada genel olarak literatürle uyumlu bulgular elde ettik. Fibronektin ve laminin tutulumunun kontrol grubuna oranla arttığını, tutulumların özellikle perinöryumda, Schwann hücre ve endonöral kan damarları çevresinde yoğunlaştığını izledik. Laminin tutulumu özellikle perinöryumun en iç katında çok artmıştı. Fakat ilginç bir şekilde fibronektin tutulumu bu alanda çok zayıftı. Ayrıca Tip IV kollagen tutulumunun da aynı alanlarda belirgin olduğunu ama kontrollerle arasında belirgin bir farklılık olmadığını gördük.

Sonuç olarak diyabetin hücre dışı matriks bileşenlerinin ekspresyonunu arttırabileceğini ama diğer yandan diyabetin bu bileşenlerin yapısını bozarak immünohistokimyasal çalışmalarda antikor tutulumunu engelleyebileceği kanısında vardık.

Diyabetik sinirde hücre dışı matriks bileşenleri kısa bir süredir araştırılmaktadır. Hücre dışı matriks bileşenlerinin yapısı ve diyabet patogenezi başlı başına çok kapsamlı ve tam aydınlatılmamış konulardır. Farklı tür deneklerin kullanılması, diyabet oluşturma şekilleri ve ölçüm metodlarındaki farklılıklar nedeniyle elde edilen verilerde çelişkiler ortaya çıkmaktadır. Bulguların diyabete özgü olması ve tedaviye ışık tutabilmesi için daha özgün ve kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır.

## VI. ÖZET

Diabetik nöropati, diyabetin en sık komplikasyonlarından biridir. Diyabetik nöropatinin en yaygın şekli, periferik duyu kaybı ile seyreden polinöropatidir. Diyabetik nöropati patogenezindeki en önemli etkenlerden biri, proteinlerin enzimatik olmayan şekerlenmesiyle oluşan son ürünlerdir. Son on yıldır çalışmalar, sinir gelişimi ve yenilenmesinde önemli işlevleri olan, hücre dışı matriks bileşenlerinin şekerlenmesinin etkilerine odaklanmıştır. Bu nedenle bu çalışmada, diyabetik sıçanlarda periferik sinir hücre dışı matriks proteinlerinin (laminin, fibronektin, tipIV kollagen) dağılımlarını immünohistokimyasal yöntemlerle inceledik.

Fibronektin ve laminin tutulumunun kontrol grubuna oranla arttığını, tutulumların özellikle perinöryumda, Schwann hücre ve endonöral kan damarları çevresinde yoğunlaştığını izledik. Fibronektin tutulumu perinöryumun en iç katında çok zayıfken, laminin tutulumu özellikle burada çok artmıştı. Ayrıca Tip IV kollagen tutulumunun da aynı alanlarda belirgin olduğunu ama kontrollerle arasında belirgin bir farklılık olmadığını gördük.

Bu bulguların ışığında diyabetin hücre dışı matriks bileşenlerinin ekspresyonunu arttırabileceğini ama diğer yandan diyabetin bu bileşenlerin yapısını bozarak immünohistokimyasal çalışmalarda antikor tutulumunu engelleyebileceği kanısında vardık.

## VII. SUMMARY

Diabetic neuropathy is one of the most frequent complications of diabetes. The most common form of diabetic neuropathy is a polyneuropathy characterized by the loss of peripheral sensation. One of the most important factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy is the formation of advanced glycation end-products due to non-enzymatic glycation of proteins. For the last ten years, studies are focused on the effects of glycation of extracellular matrix proteins which have very important functions in nerve development and regeneration. So in this work, we investigated the immunohistochemical distribution of type IV collagen, fibronectin and laminin in peripheral nerves of STZ diabetic rats.

We found that increased deposition of type IV collagen, fibronectin and laminin was observed in the perineurium, and endoneurium surrounding microvessels and Schwann cells. Fibronectin and laminin immune reactions were slightly stronger in diabetic nerves. Laminin expression was most evident in the innermost layers of perineurium. But interestingly, there was almost no fibronectin expression in the same layers. Type IV collagen expression in diabetics didn't obviously differ from that in controls.

As a result, we concluded that diabetes mellitus might increase the expression of extracellular matrix components. But diabetes could also destroy the structure of these proteins and prevent them from binding immunohistochemical antibodies leading to diminished staining.

### VIII. KAYNAKLAR

1. KANDEL, E.R., SCHWARTZ, J.H., JESSELL, T.M.: Principles of Neural Science , 4th edition, 702 , Mc Graw Hill , 2000.
2. COTRAN, R.S., KUMAR, V., COLLINS, T.: Robbins Pathologic Basis of Disease, sixth edition , 50-112. (1999)
3. PONCELET, A.N.: Diabetic polyneuropathy: Risk factors, patterns of presentation, diagnosis, and treatment , Geriatrics , 58(June), 16-30. (2003)
4. BROWN, E., DEJANA, E.: Cell to cell contact and extracellular matrix editorial oveeview: Cell-cel and cell-matrix interactions – running, jumping, standing still, Current Opinion in Cell Biology ,15, 505-508.(2003)
5. ALPER, D., ERDEM, F.: Adhezyon molekülleri, T. Klin. Tıp Bilimleri , 17, 75-77. (1997)
6. HYNES, R.O.: Cell Adhesion: old and new questions, TCB, TIBS, TIG. , 33-37.(1999)
7. LIOTTA L.A.: Tumor invasion and metastases-Role of extracellular matrix: Rhoads memorial award lecture. Cancer Res; 46: 1-7. (1986)
8. RUOSLAHTI, E.: Cell adhesion and tumor metastasis, Princess Takamatsu symp 24:99-105. (1994)
9. AREY, L.B.: Developmental Anatomy A Textbook and Laboratory Manual of Embryology , Seventh Ed., W. B. Saunders Company , Philadelphia and London , (1965).

10. DUDEK, R.W.: High-Yield Embryology , 2nd Edition , 69-79 , Williams&Wilkins Company , Philadelphia , (2001).
11. HASSA, O., AŞTI, R.N.: Embriyoloji , 3. Baskı , Yorum Basın Yayın Sanayi LTD. ŞTİ , Ankara (1997).
12. KAYALI, H., ŞATIROĞLU G., TAŞYÜREKLİ M.: İnsan Embriyolojisi , 7. Baskı , Alfa Basın Yayım Dağıtım , İstanbul , (1992).
13. MASKAR, Ü.: Embriyoloji, 6. Baskı , AR Yayın Dağıtım , İstanbul , (1982).
14. O'RAHILLY, R., MÜLLER, F.: Human Embryology & Teratology , A John Wiley&Sons Publication , New York , (1992).
15. PATTEN, B.M.: Human Embryology , Second Edition , The McGraw-Hill Book Company , New York , (1953).
16. PETORAK, İ.: Medikal Embriyoloji , 1. Baskı , Beta Basım Yayım , İstanbul , (1984).
17. ROTHENBURGER, A., GAY, R.: Renkli Embriyoloji Atlası , Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti , İstanbul , (2000).
18. SADLER, T.W.: Langman's Medikal Embriyoloji (Türkçe Çeviri) , 7. Baskı ,358-369 , Palme Yayıncılık , Ankara, (1996)
19. MOORE, L.K., PERSAUD, T.V.N.: İnsan Embriyolojisi Klinik Yönleri ile , 6. Baskıdan Çeviri , Nobel Tıp Kitabevleri , İstanbul, (2002)
20. DREWS, U.: Renkli Embriyoloji Atlası , 214 , Nobel Tıp Kitabevleri , İstanbul, (2000).

21. ARINCI, K., ELHAN, A.: Anatomi 1. Cilt , 3. Baskı , 156-180 , Güneş Kitabevi , Ankara, (2001).
22. SNELL, R.S.: Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Klinik Anatomi , 702-707 , Nobel Tıp Kitabevleri , Ankara, (1997).
23. SNELL, R.S.: Uygulamalı Anatomi , Türkçe 1. Baskı , Türkiye Klinikleri Yayınevi , Ankara (1993)
24. MOORE, K.L.: Clinically Oriented Anatomy , Third edition , 693-696 , Williams&Wilkins , Baltimore (1992)
25. GÖKMEN, F.G.: Sistematik Anatomi , Birinci Baskı, 681 , İzmir Güven Kitabevi , İzmir, (2003)
26. HOLLINSHEAD, W.H., CORNELIUS, R.: Textbook of Anatomy , Fourth edition , Harper& Row Publishers , Philadelphia (1985)
27. HATİBOĞLU, M. T.: Anatomi ve Fizyoloji , 12. Baskı , 203-210 , Hatiboğlu Yayınevi , Ankara , (2001)
28. DEMYER, W.: NMS Neuroanatomy , 2nd edition , 251-254 , Williams and Wilkins , Mass Publishing , Egypt, (1998).
29. WILLIAMS, P.L.: Gray's Anatomy , 80-88 , 975-979 , 1284 , Churchill Livingstone, New York,
30. CHUNG, K.W.: Gross Anatomy , 3rd edition , 90-93 , Williams and Wilkins , Mass Publishing , Egypt, (1995).
31. SAĞLAM, M.: Genel Histoloji , 254-271 , Yorum Matbaacılık Sn. , Ankara, (1993)

32. GARTNER, P. L., HIATT, J. L.: Color Text Book of Histology ,  
Second ed. , 183 , W.B. Saunders Company , Philadelphia , (2001)
33. JUNGUERIRA, L. C., CARNIERO, J., KELLEY, R. O.: Temel  
Histoloji (Türkçe Çeviri) , 8. Baskı , Barış Kitabevi , İstanbul , (1998)
34. PAKER, Ş.: Histoloji , 2. baskı , Uludağ Üniversitesi Basım Evi ,  
Bursa , (1993)
35. AKAY, M.T.: Genel Histoloji , Beşinci Baskı , Palme Yayıncılık , Ankara ,  
(2001).
36. ROSS, M. H., KAYE, G. I., PAWLINA, W.: Histology , A Text  
and Atlas , Fourt ed. , 283-313 , Williams & Wilkins , A Wolters  
Kluwer Company , Philadelphia , (2003)
37. FAWCETT, D.W. , JENSH, R.P.: Bloom & Fawcett's Concise Histology ,  
second edition , 117-131 , Arnold , London , (2002).
38. PAULSEN, D.F.: Histology & Cell Biology Examination & Board  
Review , fourth edition , 99-109 , McGraw-Hill companies , Atlanta  
(2000)
39. DUDEK, R.W.: High-Yield Histology , 2nd Edition , 55 , Lippincott  
Williams&Wilkins , USA , (2000)
40. TEKELİOĞLU, M.: Genel Tıp Histolojisi , ikinci baskı , 172-192 , Güneş  
Kitabevi , Ankara , (1993).
41. ERDOĞAN, D., HATİBOĞLU, M. T., GÖRGÜN, M., ILGAZ, C.:  
Genel Histoloji , 2. Baskı , 133-147 , Hatiboğlu Yayınevi , Ankara ,  
(1999).

42. STENBERG, S.S.: Histology for Pathologists , 2nd ed. , 285-308 , Lippincott-Raven , Philadelphia, (1997)
43. AKAY, M.T.: Sitoloji , üçüncü baskı , 81-85 , Palme Yayıncılık , Ankara , (2002).
44. PATTON, B.L.: Laminins of the neuromuscular system , Microscopy Research and Technique , 51, 247-261. (2000)
45. MURTOMAKI, S.: The Role of Laminin in Development, Regeneration and İnjuries Of The Nervous System , Helsinki , (2000)
46. TUNGGAL, P. , SYMTH, N. , PAULSSON, M. , OTT, M.C.: Laminins: Structure and genetic regulation , Microscopy Research and Technique , 51, 214-227. (2000)
47. BOSMAN, F.T., STAMENKOVIĆ, I.: Functional structure and composition of the extracellular matrix, Journal of Pathology , 200, 423-428. (2003)
48. PATARROYO, M. , TRYGGVASON, K. , VIRTANEN, I.: Laminin isoforms in tumour invasion, angiogenesis and metastasis , seminars in cancer biology , vol 12 , 197-207 , (2002).
49. AUMAILLEY, M. , KHAL, A. , KNOSS, N. , TUNGGAL, L.: Laminin 5 processing and its integration into the ECM , Matrix Biology , 22 , 49-54 , (2003).
50. RUOSLAHTI, E.: Fibronectin and its receptors, Ann Rev Biochem. , 57, 375-413. (1988)

51. MOSHER , D.F.: Physiology of Fibronectin, *Ann. Rev. Med. , 5*, 561-75. (1984)
52. YAMADA, K.M.: Cell surface interactions with extracellular materials, *Ann. Rev. Bio. Chem. , 52*, 761-789. (1983)
53. ARMSTRONG, P.B., ARMSTRONG, M.T.: Intercellular invasion and the organizational stability of tissues : Af role for fibronectin, *Biochemica & Biophysica Acta , 1470*, 9-20. (2000)
54. POTTS, J.R., CAMPBELL I.D. : Structure and Function of Fibronectin Modules. *Matrix Bio. 15*: 313-320. (1996)
55. POTTS, J.R., CAMPBELL, I.D.: Fibronectin Structure and Assembly, *Curr. Cell Bio. 6*, 648-655. (1994)
56. MOHRI, H.: Interaction of fibronectin with integrin receptors: Evidence by use of synthetic peptides , *Peptides , 18 , 6* , 899-907 , (1997).
57. PANKOV, R., YAMADA, K.M.: Fibronectin at a glance , *Journal of Cell Science , 115* , 3861-3863 , (2002).
58. LEMMINK, H.H., SCHRODER, C.H., MONNENS, L.A.H., SMEETS, H.J.M.: The clinical spectrum of type IV collagen mutations , *Human Mutation , 9* , 477-499 , (1997).
59. MARTIN, P.: Type IV Collagen Characterization of the COL4A5 gene, mutations in Alport syndrome, and autoantibodies in Alport and Goodpasture syndromes , *University of Oulu , Finland , (2000)*.
60. KALLURI, R., SHIELD, C.F., TODD, P., HUDSON, B.G., NEILSON, E.G.: Isoform switching of type IV collagen is developmentally arrested in

- X-linked Alport syndrome leading to increased susceptibility of renal basement membranes to endoproteolysis , J. Clin. Invest. , 99 , 10 , 2470-2478 , (1997).
61. HEIDET, L., CAI, Y., GUICHARNAUD, L., ANTIGNAC, C., GUBLER, M.C.: Glomerular expression of type IV collagen chains in normal and X-linked Alport syndrome kidneys , American Journal of Pathology , 156 , 6 , 1901-1910 , (2000).
62. FLIER, A., SONNENBER, G. A.: Function and interaction of integrins, Cell Tissue Res. , 305, 285-298. (2001)
63. ALPER, D., ERDEM, F.: Adhezyon molekülleri, T. Klin. Tıp Bilimleri , 17, 75-77. (1997)
64. ATABEKOĞLU, C.S., ENGİN, Y., ÜSTÜN, Y., AYTAÇ, R.: Üreme Fizyolojisi ve Adhezyon Molekülleri, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası , 55, 85-92. (2002)
65. HYNES, R.O.: Integrins: A Family of Cell Surface Receptors, Cell , 48, 549-554. (1987)
66. HYNES, R O.: İntegrins: Versatility, modulation and signaling in cell adhesion. Cell. 69, 11-25 (1992)
67. HYNES, R.O.: Cell Adhesion: old and new questions, TCB, TIBS, TIG. , 33-37.(1999)
68. GLANDER, H.J., SHALLER, J., WEBER, W., ALEXANDER, H., HAAKE, K.W.: In Vitro Fertilization: Increased VLA (Very Late

- Antigen) Integrins and Fibronectin after Acrosome Reaction, archives of andrology , 36, 177-185. (1996)
69. GLANDER, H.J., SHALLER, J.: Beta 1- integrins of spermatozoa: A flow cytophotometric analysis, international journal of andrology , 16, 105-111. (1993)
70. LONGHURD, C.M., JENNINGS, I.K.: Integrin-mediated signal transduction, Cell. Mol. Life. Sci. , 54, 514-526. (1998)
71. RUOSLAHTI, E.: Integrins, J. Clin. Invest. , 87, 1-5. (1991)
72. AKIYAMA, S.K., OLDEN, K., YAMADA, K.M.: Fibronectin and integrins in invasion and metastasis, cancer metastasis rev. 14(3), 173-89. (1995)
73. DEDHAR, S., HANNIGAN, G.: Integrin cytoplasmic interactions and bidirectional transmembrane signaling, Curr. Opin. Cell Biol. , 8, 657-669. (1996)
74. AKIYAMA, S.K.: Integrins in cell adhesion and signaling, Hum. Cell. , 9(3),181-6. (1996)
75. AKIYAMA, S.K., YAMADA, K.M., YAMADA, S.S., LAFLAMME, S.E.: Transmembrane signal transduction by integrin cytoplasmic domains expressed in single-subunit chimeras, J. Biol. Chem. , 269(23), 15961-4. (1994)
76. KATZ, B.Z., YAMADA, K.M.: Integrins in morphogenesis and signaling, Biochimie., 79,467-479. (1997)

77. RUOSLAHTI, E.: Cell adhesion and tumor metastasis, Princess Takamatsu symp 24:99-105. (1994)
78. SIMMONS, Z., FELDMAN, E.L.: Update on diabetic neuropathy, Current Opinion in Neurobiology, 15, 595-603. (2002)
79. SHEETZ, M.J., KING, G.L.: Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications , JAMA , 288, 2579-2588. (2002)
80. ÜNÜVAR, N.: ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARINDA TEMEL TEDAVİ
81. YASUDA, H., TERADA, M., MAEDA, K., KOGAWA, S., SANADA, M., HANEDA, M., KASHIWAGI, A., KIKKAWA, R.: Diabetic neuropathy and nerve regeneration, Progress in Neurobiology , 69, 229-285. (2003)
82. APFEL, S.C.: Nerve regeneration in diabetic neuropathy, Diabetes, Obesity and Metabolism , 1, 3-11. (1999)
83. OCHODNÍKA, E., OCHODNÍKY, M., OCHODNÍKY, B., BELEJ, K., FUSEKOVA, E., BOAEUOVA, A.: Early demyelination in acute experimental diabetic neuropathy , 2nd Annual Meeting of CSMS , Vranovská Ves , (2002)
84. HILL, R.E., WILLIAMS, P.E.: A quantitative analysis of perineurial cell basement membrane collagen IV, laminin and fibronectin in diabetic and non-diabetic human sural nerve , J. Anat. 201, 185-192. (2002)

85. HILL, R.E., WILLIAMS, P.E.: Perineurial cell basement membrane thickening and myelinated nerve fibre loss in diabetic and nondiabetic peripheral nerve, *Journal of neurological sciences* , 217 ,157-163. (2004)
86. WILLIAMS, P.E., LOWRY, A., HILL, R., MASSON., E.: Relationship between fascicle size and perineurial collagen IV content in diabetic and contral human peripheral nerve, *Histopathology* , 36, 551-555. (2000)
87. KING, R.H.M.: The role of glycation in the pathogenesis of diabetic polyneuropathy , *J Clin Pathol* , 54 , 400-408 , (2001)
88. KIM, J.M., LEE, T.H., LEE, M.C., MOON, J.D., LEE, J.S., KIM, H.S., SUH, C.H.: Endoneurial microangiopathy of sural nevre in experimental vacor-induced diabetes, *Ultrastructural pathology* , 26, 393-401. (2002)
89. PLATT, C.I., KREKOSKI, C.A., WARD, R.V., EDWARDS, D.R., GAVRILOVIC, J.: Extracellular matrix and matrix metalloproteinases in sciatic nerve, *Journal of neuroscience research* , 74, 417-429. (2003)
90. PODRATZ, J. L., RODRIGUEZ, E.H., DINONNO, E.S, WINDEBANK, A.J: Myelination by Schwann Cells in the absence of extracellular matrix assembly, *GLIA* , 23, 383-388. (1998)
91. LUO, Z.J., KING, R.H.M., LEWIN, J., THOMAS, P.K.: Effects of nonenzymatic glycosylation of extracellular matrix components on cell survival and sensory neurite extension in cell culture , *J. Neurol*, 249, 424-431. (2002)
92. MARTIN, G.R., TIMPL, R.: Laminin and other basement membrane components , *Annu Rev Cell Biol* , 97 , 1882-1890 , (1987).

93. COLOGNATO, H., YURCHENCO, P.D.: Form and Function: The Laminin Family of Heterotrimers, *Developmental Dynamics* , 218, 213-243. (2000)
94. SIIRONEN, J., SANDBERG, M., VUORINENE, V., ROYTТА, M.: Laminin B1 and collagen type IV gene expression in transected peripheral nerve: Reinnervation compared to denervation, *Journal of Neurochemistry* , 59 , 2184-2192. (1992)
95. CHEN, Z.L., STRICKLAND S.: Laminin  $\gamma$ 1 is critical for schwann cell differentiation, axon myelination, and regeneration in the peripheral nerve , *The journal of cell biology*, 163(4), 889-899. (2003)
96. WALLQUIST, W., PATARROYO, M., THAMS, S., CARLSTEDT, T., STARK, B., CULLHEIM, S., HAMMARBERG, H.: Laminin chains in rat and human peripheral nerve: distribution and regulation during development and after axonal injury , *the journal of comparative neurology* 454, 284-293. (2002)
97. MCGOWAN, K.A., MARINKOVICH, M.P.: Laminins and Human Disease , *Microscopy Research and Technique* , 51 , 262-279 , (2000).
98. BRADLEY, J.L., KING, R.H.M., MUDDLE, J.R., THOMAS, P.K.: The extracellular matrix of peripheral nerve in diabetic polyneuropathy, *Acta Neuropathol.* , 99, 539-546. (2000)
99. LOWRY, A., WILCOX, D., MASSON., E.A., WILLIAMS, P.E.: Immunohistochemical methods for semiquantative analysis of collagen content in human peripheral nerve, *J. Anat.* 191, 367-374. (1997)

100. HARI, A., DJOHAR, B., SKUTELLA, T., MONTAZERI, S.: Neurotrophins and extracellular matrix molecules modulate sensory axon outgrowth, *Int .J. Devl. Neuroscience* , 22, 113-117. (2004)
101. TONGE, D.A., GOLDING, J.P., EDBLADH, M., KRON, M., EKSTROM, P.E.R., EDSTROM, A.: Effects of extracellular matrix components on axonal out growth from peripheral nerve of adult animals in vitro, *Experimental Neurology* , 146, 81-90. (1997)
102. SIIRONEN, J., SANDBERG, M., VUORINEN, V., ROYTТА, M.: Expression of type I and III collagens and fibronectin after transection of rat sciatic nerve, *Laboratory Investigation*, 67, 80-86. (1992)
103. AKASSOGLU, K., AKPINAR, P., MURRAY, S., STRICKLAND, S.: Fibrin is a regulator of Schwann cell migration after sciatic nerve injury in mice , *Neuroscience letters* , 338, 185-188.(2003)
104. CHEN, Y.S., HSIEH, C.L., TSAI, C.C., CHEN, T.H., CHEN, W.C., HU, C.L., YAO, C.H.: Peripheral nerve regeneration using silicone rubber chambers filled with collagen, laminin, and fibronectin , *Biomaterials* , 21, 1541-1547. (2000)
105. BUCALA ET AL
106. MUONA ET. AL., Hyperglycemic glucose concentrations up-regulate the expression of type collagen in vitro. Relevance to alterations of peripheral nerves in diabetes mellitus , *Am. J. Pathol.* ,142 , 1586-1597 , (1993).

107. WANG, H., LAYTON, B.E., SASTRY, A.M.: Nerve collagens from diabetic and non diabetic Sprague-Dawley and biobreeding rats: an atomic force microscopy study, *Diabetes Metab. Res. Rev.* 19, 288-298. (2003)

