

**T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA DENEYSEL SİYATİK SİNİR TRAVMATİK HASARI
MODELİNDE BEVACİZUMABIN TEDAVİ EDİCİ ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Uzmanlık Tezi

Dr. Sercan AYDIN

TRABZON - 2022

**T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA DENEYSEL SİYATİK SİNİR TRAVMATİK HASARI
MODELİNDE BEVACİZUMABIN TEDAVİ EDİCİ ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Uzmanlık Tezi

Dr. Sercan AYDIN

**Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Uğur YAZAR**

TRABZON - 2022

TEŞEKKÜR

Tez çalışması sırasında bana tecrübesi ve yardımlarıyla destek olan aynı zamanda mesleki eğitim süresince desteğini her zaman hissettiğim sayın hocam ve tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Uğur YAZAR' a teşekkür ederim. Beyin ve sinir cerrahisi bölümünde almış olduğum uzmanlık eğitimi süresince tecrübelerinden çok şey öğrendiğim Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Süleyman BAYKAL ve değerli öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Kayhan KUZEYLİ, Sayın Prof. Dr. Haydar USUL, Sayın Prof. Dr. Ertuğrul ÇAKIR, Sayın Prof. Dr. Erhan ARSLAN, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ali Rıza GÜVERCİN' e teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam esnasında bana yardımlarını esirgemeyen ve fizyoloji hakkında birçok yeni bilgi edinmemi sağlayan ve kendi zamanından ayırıp laboratuvar deneyleri esnasında bana yardımlarını esirgemeyen Fizyoloji Anabilim Dalı Arş. Görevlisi Sayın Burak ÖZGÖREN' e ve toplamış olduğum verileri istatistiksel anlamda değerlendirmeme yardımları olan aynı zamanda asistanlık eğitimim süresince birçok paylaşımımın olduğu yakın dostum Yusuf BAYKAL' a teşekkürlerimi sunarım. Eğitim süresi boyunca birlikte çalışmış olduğum Dr. Ali Samet TOPSAKAL, Dr. Kaan KIRIMLI, Dr. Mehmet Ali Demirci, Dr. Adil Uğur YAVUZ, Dr. Oğuzhan Çamlıca ve Dr. Yağmur BOZALİ' ye teşekkürlerimi sunarım.

Tüm eğitim hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen ve yapmış olduğum meslekten dolayı her zaman mutluluk duyan annem Hatun AYDIN' a, beni hekimliğe ve beyin cerrahisine ilk yönlendiren kişi olan babam İhsan AYDIN' a, tüm hayatım boyunca desteğini hissettiğim abim Emre AYDIN' a ve yoğun çalışma temposu içinde beni her zaman sabır ve anlayışla karşılayan sevgili eşim Cansın AYDIN' a teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Sercan AYDIN

ÖZET

Sıçanlarda Deneysel Siyatik Sinir Travmatik Hasarı Modelinde Bevacizumab'ın Tedavi Edici Etkisinin Araştırılması

Giriş-Amaç: Periferik sinir hasarları günümüzde kişilerin motor ve duyuşal fonksiyon bozukluklarına sebep olabilen ve sinir hasarının tedavisinin zorluğu nedeniyle halen büyük bir sorun olan bir durumdur. Artan endüstrileşme ile birlikte periferik sinir hasarları toplumumuzda önemli ve sık karşılaşılan yaralanmalardan biri haline gelmiştir. Bu yaralanma türü hastalar için psikolojik, maddi ve işlevsel kayıplara sebep olması nedeniyle zorlu bir süreç olur. Kişinin fonksiyonel olarak iş göremezliğine sebep olabileceği için toplumu maddi olarak etkileyip aynı zamanda iş gücü kaybına sebep olabilmektedir. Bu yüzden günümüzde yeni çıkan moleküller periferik sinir hasarlarının tedavisinde denenmekte ve hastalar için bir umut olabilmektedir. Periferik sinir hasarının seviyesine göre hastalarda duyuşal ve motor fonksiyon bozuklukları gelişebilir. Bu bozuklukların altında yatan sebep ise sinir hasarı ve hasarın düzeyidir. Hasarın ardından akut ve kronik belirtiler zaman içinde oluşur. Nadiren olsa da (hasarın düzeyi ve kişinin rejeneratif kapasitesine bağlı olarak) kendiliğinden iyileşme olabilir. Bu hasarın prognozu hakkında kestirimde bulunmak ve tanı amacıyla histolojik inceleme ve elektrofizyolojik testler (ve bazı durumlarda da sinirin bütünlüğünü tespit etmek amacıyla manyetik rezonans gibi görüntüleme yöntemleri de) uygulanmaktadır. Hasar sonrası, sinirin distal ve proksimal kısımlarında histopatolojik değişimler oluşur. Periferik sinir hasarı sonrası fonksiyonel iyileşme genellikle iyi düzeyde değildir; fakat merkezi sinir sistemine kıyasla periferik sinir sisteminde rejenerasyon mümkündür. Ancak, bu kendiliğinden olmaz veya kendiliğinden olan süreç yavaştır. Dolayısıyla, bu rejenerasyona katkı sağlayabilecek farmakolojik tedavi uygulamalarının ortaya konulmasına yönelik çalışmalar son derece önemlidir. Bir periferik sinirin işlevine devam edebilmesi için periferik sinirin merkezi sinir sistemindeki hücre gövdesi ile bağlantısının olması ve yeterli oksijen desteğinin sağlanması gerekmektedir. Sinirde oluşan iskemi durumunda kan sinir bariyerinin bozulması ile ortaya çıkan oksidatif stress ve lipid peroksidasyonu sonucu birçok biyokimyasal ve patolojik değişiklik oluşmaktadır. Bu durumla alakalı birçok ilaç deneyi yapılmıştır ancak tam olarak sonuç alınamamıştır. Yapılan çalışmalarda vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) anjiopoetinler sayesinde sinir sistemi üzerinde nöroprotektif etkisinin olduğu görülmüş olup vasküler permeabilite artışına yol açarak sinir dokularının oksijenlenmesinde ve dolayısıyla rejenerasyonunda etkisi olduğu kanıtlanmıştır. VEGF antagonistlerinin de yapılan bir çok çalışmada ödemi azaltarak, serbest radikal oluşumunu engelleyerek, skar dokusu oluşumunu engelleyerek veya dejenerasyonu engelleyerek dokuların iyileşmesinde etkili olduğu görülmüştür. Hasarlanan bir sinir sistemi bölgesinde anjiyogenezin yararlı etkisi olduğu bilinmekle beraber aşırı anjiyogenezin zararlı olacağı bildirilmiş, iyileşme için limitli bir anjiyogenez gerekli olduğu gösterilmiştir. Anti VEGF tedavisinin limitli bir anjiyogenez sağlayarak sinir sistemi patolojileri üzerine olumlu etkisi olabileceği düşünölmüştür. Anti VEGF tedavinin bu

sebeplerden ötürü periferik sinir hasarlanmalarında nöroprotektif etkisinin olabileceği düşünölmüştür.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada her grupta 10 adet (n=10) olacak şekilde 4 grupta toplam 40 adet Wistar Albino sıçan kullanılmıştır. Gruplar kontrol grubu, travma grubu, orta doz bevacizumab uygulanan grup, yüksek doz bevacizumab uygulanan grup olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Tüm deneklere motor koordinasyon testleri (Rotarod), termal plantar testler ve sağ alt ekstremitte EMG testleri yapılmıştır. Sonrasında sıçanlara sağ siyatik sinire kliplleme ile sinir hasarı modeli oluşturulmuştur. Kontrol grubuna ise siyatik sinir diseksiyonunun ardından herhangi bir hasar uygulanmamış ve katlar kapatılmıştır. Tedavi gruplarına travmadan hemen sonra, yedinci gün ve ondördüncü gün Bevacizumab(Anti VEGF) tedavisi verilmiştir. Bu tedavilerin dozları orta doz tedavi grubuna 5mg/kg yüksek doz tedavi grubuna ise 10mg/kg Bevacizumab (Anti VEGF) hesaplanıp intraperitoneal yol ile uygulanmıştır. Tüm gruplar işlemlerden sonra 21 gün boyunca bakıma alınmıştır. Sıçanlar 21. gününde tekrar motor koordinasyon testlerine, termal plantar teste ve EMG ölçümlerine tabi tutulmuş, ardından dekapitasyon yöntemi ile sakrifikasyon işlemi yapılmış, sağ siyatik sinirleri travma oluşturulan alanın 1 cm proksimal ve 1 cm distal yönünde çıkartılmıştır ve histopatolojik olarak incelenmiştir.

Bulgular: Bevacizumab (Anti VEGF), siyatik sinir travma hasarı modelinde uygun dozlarda kullanıldığında skar dokusunun gelişmesini azaltmakta, anjiyogenezi sınırlandırmakta, ödemi azaltmakta, dejenerasyonu azaltmakta ve sinir hasarına nöroprotektif etki sağlayarak sinirin iyileşmesine olumlu yönde etki etmektedir. Yapılan testlerde ve istatistiksel analizlerde travma grubu ile yüksek doz ve orta doz tedavi alan gruplar arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Orta doz tedavi alan ve yüksek doz tedavi alan gruplar ile kontrol grubu arasında ise benzerlikler bulunmuştur. Bevacizumab' ın ödem, inflamasyon ve dejenerasyonu azalttığı histopatolojik olarak görölmüştür

Sonuç: Sonuç olarak periferik sinir travma hasarı modelinde, Bevacizumab(Anti VEGF) tedavisi, kontrollü bir anjiyogenez sağlayarak, dejenerasyonu azaltarak, ödem miktarını azaltarak sinir hasarının iyileşmesi yönünde etkisi olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Siyatik sinir, Periferik sinir, Bevacizumab, Anti VEGF, Dejenerasyon, Ödem, Anjiyogenez.

SUMMARY

Investigation of The Therapeutic Effect of Bevacizumab in an Experimental Model of Sciatic Nerve Traumatic Injury in Rats

Introduction-Goal: Peripheral nerve damage is a condition that may cause motor and sensory dysfunction and is still an important issue due to the difficulty of treating nerve damage. With increasing industrialization, peripheral nerve injuries have become one of the important and frequently encountered injuries in our society. These injuries, which can cause psychological, material and functional losses, are a challenging process for patients. As it may cause functional incapacity and losing work force of the person, it may affect the society financially. Therefore, newly released molecules for the treatment of peripheral nerve damage have been studying and this may be a hope for patients. Depending on the level of peripheral nerve damage, sensory and motor dysfunctions may develop in patients. The underlying causes are related to nerve damage and the level of damage. Acute and chronic symptoms occur over time after the damage. Although rare, spontaneous recovery may occur (depending on the level of damage and the regenerative capacity of the person). Histological examination and electrophysiological tests (and in some cases imaging methods such as magnetic resonance imaging to detect the integrity of the nerve) are performed. After the damage, histopathological changes occur in the distal and proximal parts of the nerve. Functional recovery after peripheral nerve injury is usually not good; but regeneration is possible in the peripheral nervous system compared to the central nervous system. However, this does not happen spontaneously or the spontaneous process is limited and slow. Therefore, studies to reveal pharmacological treatment applications that can contribute to this regeneration are extremely important. In order for a peripheral nerve to continue its function, the peripheral nerve must have a connection with the cell body in the central nervous system and adequate oxygen support must be provided. In the case of ischemia, many biochemical and pathological changes occur as a result of oxidative stress and lipid peroxidation resulting from the disruption of the blood nerve barrier. Although many drug trials related to this situation have been made, no results have been obtained completely. Studies have shown that vascular endothelial growth factor (VEGF) has a neuroprotective effect on the nervous system through angiopoietins, and it has been proven to have an effect on the oxygenation and regeneration of nerve tissues by increasing vascular permeability. In many studies, VEGF antagonists have been shown to be effective in healing tissues by reducing edema, preventing free radical and scar tissue formation or degeneration. Although it is known that angiogenesis has a beneficial effect in an injured nervous system region, it has been shown that excessive angiogenesis can be harmful and limited angiogenesis is required for optimal recovery. Thereby it is thought that anti-VEGF therapy may have a neuroprotective effect on nervous system pathologies by providing limited angiogenesis.

Materials and Methods: In the study, a total of 40 Wistar Albino rats (20 males and 20 females) were used in 4 groups, with 10 (n=10) in each group. The groups were divided into 4 groups: the control group, the trauma group, the medium-

dose bevacizumab administered group, and the high-dose bevacizumab administered group. Motor coordination tests (Rotarod), thermal plantar tests and right lower extremity EMG tests were performed on all subjects. Afterwards, a nerve injury model was created by clipping the right sciatic nerve to rats. In the control group, no damage was applied after the sciatic nerve dissection and the layers were closed. Bevacizumab (Anti VEGF) treatment was given to the treatment groups on immediate, the seventh and fourteenth days of the trauma. The doses of these treatments were 5mg per kilogram in the medium dose treatment group and 10 mg per kilogram in the high dose treatment group. Bevacizumab (Anti VEGF) was calculated and administered intraperitoneally. All groups were taken into care for 21 days after the procedures. The rats were subjected to motor coordination tests, thermal plantar test and EMG measurements again on the 21st day, then sacrifice was performed by decapitation method. Afterwards, the right sciatic nerves were removed 1 cm proximal and 1 cm distal to the traumatized area and examined histopathologically.

Results: Bevacizumab (Anti VEGF), when used in appropriate doses in the sciatic nerve trauma injury model, reduces the development of scar tissue, edema and degeneration, limits angiogenesis. From this aspect, it has a neuroprotective effect on nerve damage, positively affecting nerve recovery. In the statistical analyzes, significant differences were found between the trauma group and the groups that received high-dose and medium-dose treatment. Similarities were found between the treatment groups (medium- and high-dose) and the control group. Histopathologically, it was proved that bevacizumab reduced edema, inflammation and degeneration.

Conclusion: As a result, in the peripheral nerve trauma injury model, Bevacizumab (Anti VEGF) treatment helped to heal nerve damage by providing controlled angiogenesis, reducing degeneration and edema.

Key Words: Sciatic nerve, Peripheral nerve, Bevacizumab, Anti VEGF, Degeneration, Edema, Angiogenesis.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR.....	I
ÖZET.....	II
SUMMARY	IV
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
RESİMLER DİZİNİ.....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Periferik Sinirin Embriyolojisi.....	3
2.2. Periferik Sinirin Anatomisi	3
2.3. Periferik Sinir Yaralanmaları ve Sınıflandırmaları.....	12
2.3.1. Periferik Sinir Hasarlanma Mekanizmaları	12
2.3.2. Sunderland Sınıflaması	14
2.3.3. Periferik Sinir Hasarının Patofizyolojisi.....	15
2.3.4. Siyatik Sinir Hasar Modelleri	17
2.4. Serbest Radikaller	18
2.5. Bevacizumab.....	25
3. MATERYAL VE METOD	27
3.1. Cerrahi Teknik ve Deney Grupları	27
3.2. Motor İyileşmenin Değerlendirilmesi.....	34
3.2.1. Motor Koordinasyon testleri (Rotarod performans testi)	34
3.2.2. Termal Plantar Test.....	35
3.2.3. ENMG'nin Yapılması.....	36
3.3. Histopatolojik Değerlendirme.....	37
4. BULGULAR.....	39
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ	63
7. KAYNAKLAR	64

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. Sinir Liflerinin Tipleri, Fonksiyonları, Lif Çapları ve İletim Hızları.....	9
Tablo 2. Sunderland ve Seddon Sınıflamalarının Patoloji ve Prognoz Açısından Birlikte Tablo Olarak Gösterimi	15
Tablo 3. Rotarod Testinde Travma Öncesi ve Sonrası İçin Ortalama, Standart Sapma Değerleri ve İstatistiksel Analizi.....	40
Tablo 4. Rotarod Testi İçin Travma Sonrası Grupların Karşılaştırılması	41
Tablo 5. Termal Plantar Testinde Travma Öncesi ve Sonrası İçin Grupların Ortalama, Standart Sapma Değerleri ve İstatistiksel Analizi.....	42
Tablo 6. Termal Plantar Testinde Travma Sonrası Anlamlı Çıkan Sağ Ayak Testlerinin Gruplar Arası İstatistiksel Analizi	43
Tablo 7. ENMG Eşik değeri ve Amplitüd Değeri İstatistiksel Analizi	45
Tablo 8. Travma Sonrası Gruplar Arası Eşik Değeri Analizi.....	46
Tablo 9. Travma Sonrası Gruplar Arası Amplitüd Analizi	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. Periferik Sinirlerde Duyu ve Motor Liflerinin Gösterimi	4
Şekil 2. Nöron Yapısı, Akson, Miyelin Kılıf ve Ranvier Boğumları Yapısı	5
Şekil 3. Şekillerine Göre Nöronların Sınıflandırılması	6
Şekil 4. Schwann Hücresinin Aksonu Miyelinlemesinin Şematik Görünümü.....	7
Şekil 5. Ranvier Nodu	7
Şekil 6. Sinir Lifi Yapısı.....	8
Şekil 7. Endonöryum, Perinöryum ve Epinöryumun Görüntüsü	10
Şekil 8. Normal Periferik Sinir Anatomisi	10
Şekil 9. Periferik Sinir Vasküler Yapısı	11
Şekil 10. Sinir Hücresinin Anatomisi.....	12
Şekil 11. Glutasyon'un Yapısı	24

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa No
Resim 1. Deneylerde Kullanılan Sıçanlar	27
Resim 2. Deneylerde Kullanılan Sıçanların Deney Ortamlarına Alıştırılma Süreçleri	28
Resim 3. Sinir Hasarlanmasında Kullanılan Kompresyon Aleti.....	29
Resim 4. Siyatik Sinirin Cerrahi Diseksiyonu	31
Resim 5. Sıçan Siyatik Sinirine Anevrizma Klibiyle Kompresyon Yapılma Anı.....	32
Resim 6. Sıçan Sağ Siyatik Sinirine Anevrizma Klibiyle Kompresyon Edilmiş Hali	33
Resim 7. Rotarod Testi.....	34
Resim 8. Termal Plantar Testin Yapılma Anı.....	35
Resim 9. Termal Plantar Testin Yanıt Alınma Anı.....	36
Resim 10. ENMG Çekilme İşlemi	37
Resim 11. Sham Grubunda Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE x 200).....	49
Resim 12. Sham Grubunda Siyatik Sinir Distalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE x 200).....	49
Resim 13. Sham Grubunda Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (Toluidin Mavisi x 200)	50
Resim 14. Sham grubunda siyatik sinir distalinden alınan patolojik bulgu içermeyen periferik sinir dokusunun enine kesidi (Toluidin Mavisi x 200).....	50
Resim 15. Travma Grubunda Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE x 200).....	51
Resim 16. Travma Grubunda Siyatik Sinirin Distalinden Alınan Ödem, Dejenerasyon İçeren Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE x 200).....	51
Resim 17. Travma Grubunda Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (Toluidin Mavisi * 100)	52
Resim 18. Travma Grubunda Siyatik Sinir Distalinden Alınan Akson Kaybı ve Aksonal Atrofi İçeren Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (Toluidin Mavisi x 200)	52

Resim 19. Orta Dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE x200).....	53
Resim 20. Orta dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Distalinden Alınan Ödem ve Dejenerasyon İçeren Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE x 200).....	53
Resim 21. Orta Dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (Toluidin Mavisi x 200).....	54
Resim 22. Orta Dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Distalinden Alınan Akson Kaybı Mevcut Olan Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (Toluidin Mavisi x 200).....	54
Resim 23. Yüksek Dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE x 100).....	55
Resim 24. Yüksek Dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Distalinden Alınan Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu ve Dejenerasyon İçeren Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE * 200).....	55
Resim 25. Yüksek Dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (Toluidin Mavisi x 200).....	56
Resim 26. Yüksek Dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Distalinden Alınan Akson Kaybı İçeren Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (Toluidin Mavisi x 200).....	56

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Periferik sinirler canlıların duyu ve motor fonksiyonlarında etkili önemli yapılardan biridir. Bu yapılarda oluşabilecek hasarlarda sinirlerin fonksiyonlarında kısmi veya tam olarak işlev kaybı olabilir. Hasarın şiddetine,süresine,uyguladığı alana ve seviyesine bağlı olarak hafif parestezi,spontan ağrı, nöropatik ağrı,tam duyu kaybı veya hafif bir güçsüzlük,tam motor fonksiyon kaybı gibi duyu ve motor sorunlar teşkil edebilmektedir (1). Bu sorunlar toplumlarda sık görülmekte olup insanların hayat kalitesini bozmakta, psikolojik sorunlara sebep olmakta,maddi kayıplara sebep olabilmektedir (2).

Periferik sinir yaralanmalarının sebepleri arasında en sık travmalar olup bu travmalar arasındaki en sık sebepler trafik kazaları, düşmeler, darp, penetran yaralanmalar olarak sayılabilir (3). Bu tarz travmalar sonrası acil servislere getirilen hastaların periferik sinir yaralanmış olma ihtimali yaklaşık olarak %2-3'tür (4). Travma sonrası olan periferik sinir hasarlarında tedavinin geciktirilmeden başlanması gerekmektedir. Çünkü nöronların travma sonrası rejenerasyon ve apoptozis açısından etkilenme miktarı tedavinin etkililiği açısından önemlidir. Bu yüzden gerekli medikal veya cerrahi tedavi bir an önce uygulanmalıdır (5). Ancak sinir hasarı sonrası yapılan cerrahi onarım ve medikal tedaviye rağmen çoğunlukla tam bir iyileşme hali görülememiştir. İyileşme olduğunda ise süreç uzun olabilmektedir. Bu yüzden bu alanda bir çok medikal yöntem denenmekte ve araştırılmaktadır.

Travma sonrası oluşan periferik sinir hasarlarında sinir rejenerasyonunu sağlamakta etkili olan bir çok faktör vardır. Hasar sonrası sıklıkla sinirin beslenmesi bozulabilmekte ve buna bağlı olarak sinirin iletimi bozulmaktadır. Bu sinirlerin görevlerini yerine tam olarak getirebilmesi için sinir hücrelerinin vasküler beslenmesinin yeterli olması gerekmektedir.Eğer yeterli vaskülarizasyon devam etmez veya vaskülarizasyon gereğinden fazla miktarda olur ise sinir rejenerasyonu tam olarak gerçekleşmeyebilir ve sinir dejenerasyonu ilerleyebilir.Son zamanlarda Anti VEGF ilaçların aşırı vaskülarizasyonu engelleyerek nöral dokular üzerinde sinir dokusunun gelişimini pozitif etkileyebileceği çalışmalar olmuştur.Bu etkisini travma oluşan doku etrafındaki ödemi azaltarak optimal vaskülarizasyon ile birlikte sağladığı düşünülmüştür (6).

Sinir hasarlarında rejenerasyon esnasında travma oluşan bölgenin proksimalinde ve distalinde sinir dokularında skar oluşumu ve ödem olup, aksonların iyileşmesi engellenebilir ve nörinom oluşabilir (7). Günümüzde Anti-VEGF ilaçlar gözde dejenerasyona bağlı hastalıklarda aktif olarak kullanılmaktadır.Tedavide kullanılan etkililiği ise skar dokusunu azaltarak,vaskülarizasyonu düzenleyerek,doku etrafındaki ödemi azaltarak ve dejenerasyonu engelleyerek yaptığı düşünölmektedir (8).

Bu alışmada Anti-VEGF ilaçların aşırı vaskülarizasyonu engelleme, ödem azaltıcı gibi etkilerinin sayesinde periferik sinirlerde dejenerasyonu azaltarak rejenerasyona katkıda bulunabileceğini düşünerek periferik sinir hasarlarında etkisinin olup olmadığına yönelik katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

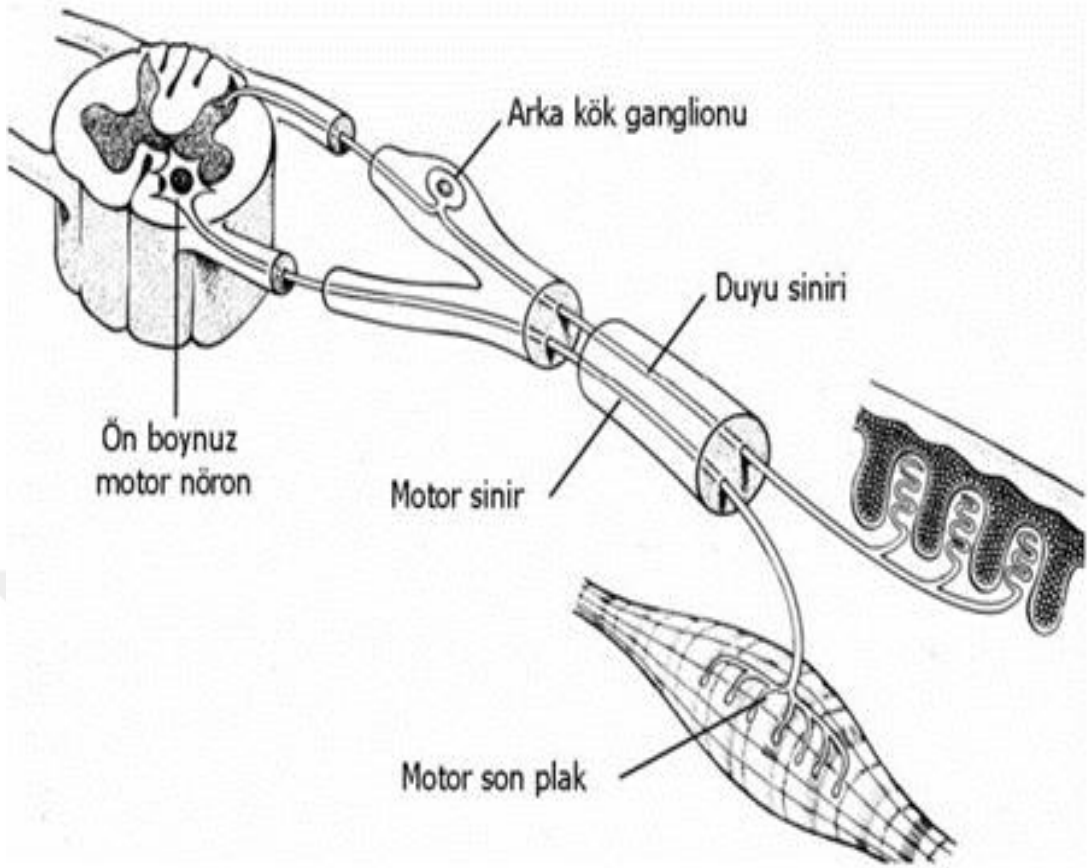
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periferik Sinirin Embriyolojisi

Ektodermden gelişen sinir sisteminin ilk oluşumu nöral plakdır. Embriyonun 18. gününde nöral plağın kalınlığının artması sonrası oluşan yapı nöral krista olarak adlandırılır. Nöral kristalar etrafındaki mezoderm yapılarıyla birleşerek nöral sulkusu oluşturur. Nöral sulcuslar ise orta hattın her iki yöne doğru kapanarak nöral tüpü oluşturur. Bu aşamada nöral krest hücrelerinin bir kısmı nöral sulcus oluşumuna katılmayarak schwann hücrelerinin oluşumundan sorumlu olur. Periferik sinir sistemini hücrelerinin tamamının kökeni bu oluşuma katılmayan nöral krista hücreleridir (9,10).

2.2. Periferik Sinirin Anatomisi

Periferik sinir sistemini beyin ve beyin sapı kökenli 12 çift kranial sinir ve medulla spinalisten çıkan 31 çift spinal sinir meydana getirir. Periferik sinirler duyu (posterior) ve motor (anterior) lifleri içeren spinal köklerin birleşmesiyle oluşur ve vücut ile merkezi sinir sistemi arasında bağlantıyı sağlayan uzun seyirli bir anatomik yapıdır (11).



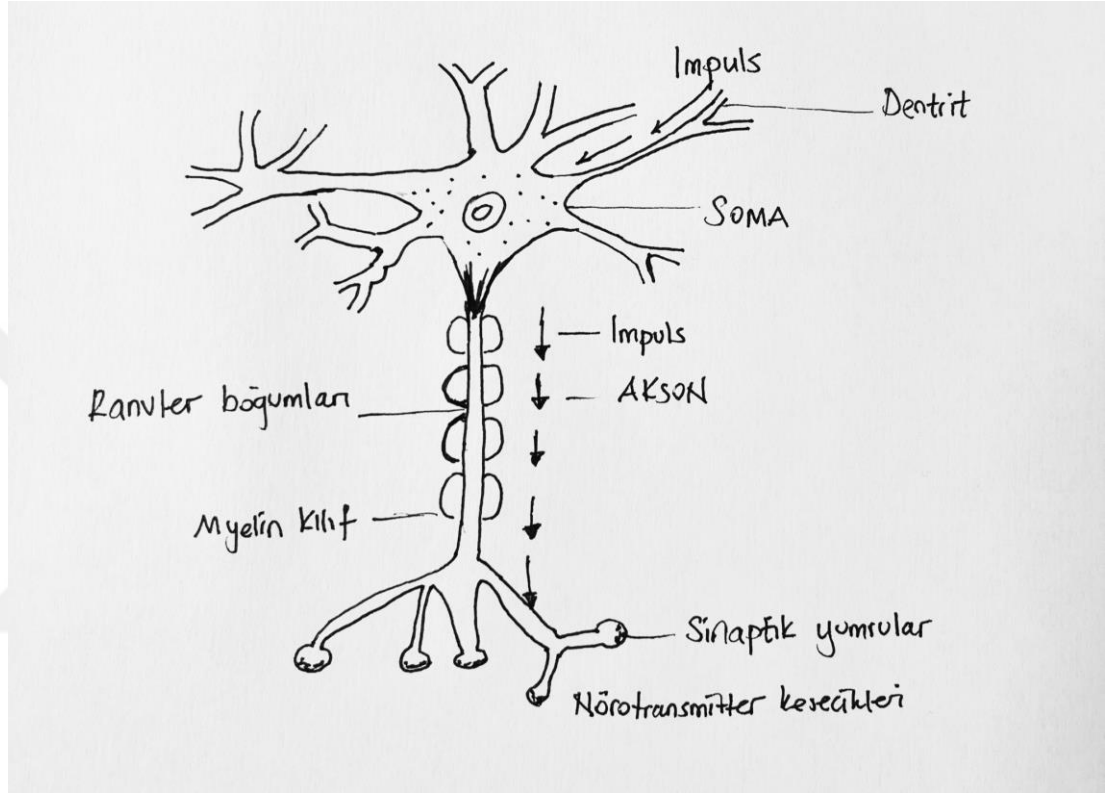
Şekil 1. Periferik Sinirlerde Duyu ve Motor Liflerinin Gösterimi (12)

Sinir sistemini oluşturan dokuları nöron ve nöroglia isimli iki tip hücre meydana getirir. Nöronlar uzun sinir lifleri içermekte olup sinir sisteminin temel yapısal ve fonksiyonel birimleridir. Nöron hücrelerinin arasına dağılmış olan nöroglialar ise etrafındaki nöronların beslenmesi ve savunmasından sorumludur. Periferik sistemindeki nöroglialar schwann hücreleridir (13).

Sinir uyarımının iletilmesinden sorumlu olan sinir sistemini oluşumuna katılan temel yapılardan biri olan nöronların çoğunun bölünebilme özelliği yoktur ve kendilerini yenileyebilme özelliği çok kısıtlıdır.

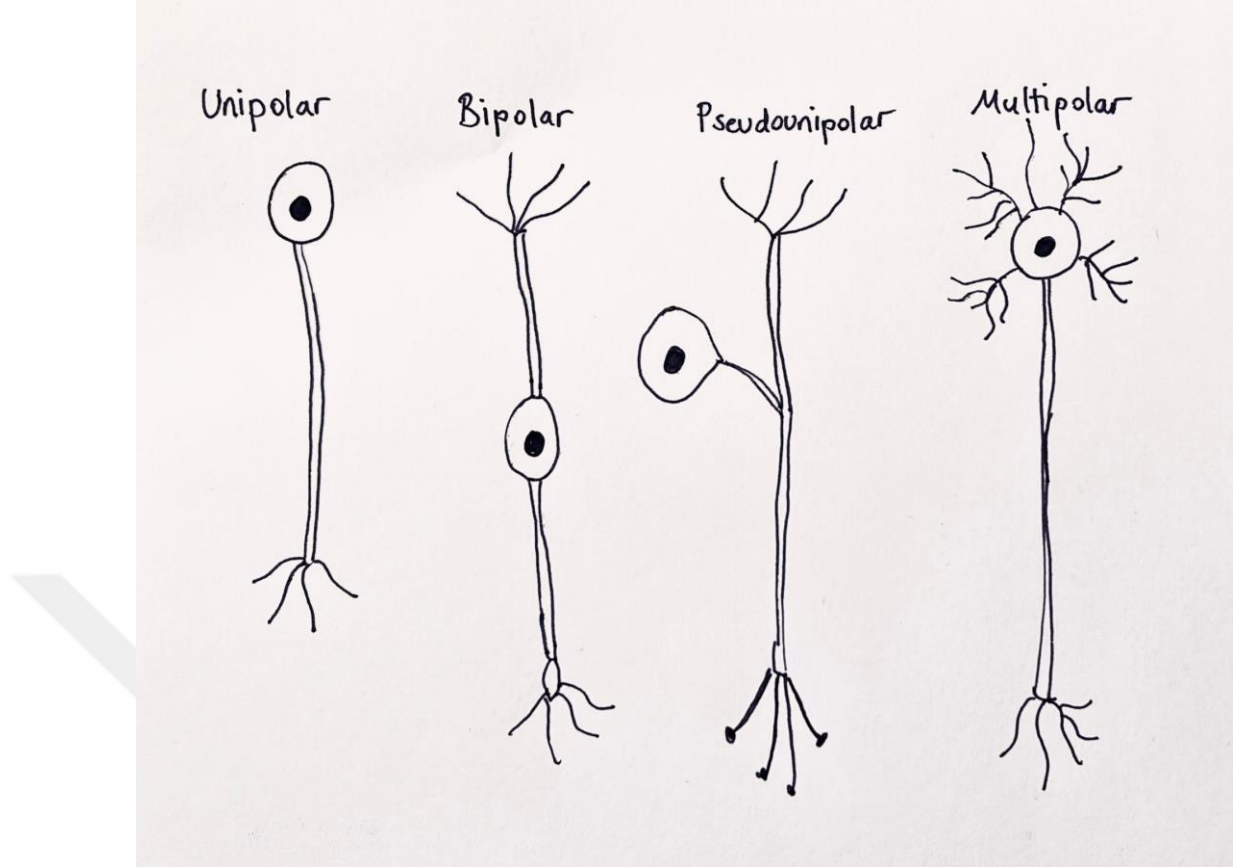
Nöronların hücre gövdeleri perikaryon yada soma olarak adlandırılır ve görevi nörona gelen uyarıyı almaktır. Nöronların hücre gövdesine ek olarak akson ve dendrit adı verilen uzantıları vardır. Dendritler çevre hücrelerle bağlantıyı sağlar ve alınan uyarının perikaryon ve aksonlara iletimini sağlamaktan sorumludur. Aksonlar ise perikaryondan gelen uyarıları diğer nöronlara veya hedef organlara iletiminden sorumludur. Aksonların çapı her sinirde farklılık gösterebilir. Kısaca aksonlar efferent

uyarılarından dendritler ise afferent uyarılardan sorumludurlar. Aksonların granüllü endoplazmik retikulum ve ribozomu mevcut olmayıp fonksiyonlarını devam ettirebilmek için perikaryona ihtiyaç duyarlar. Bu yüzden sinirde herhangi bir hasar durumunda hasarın distalinde dejenerasyon meydana gelir (13).



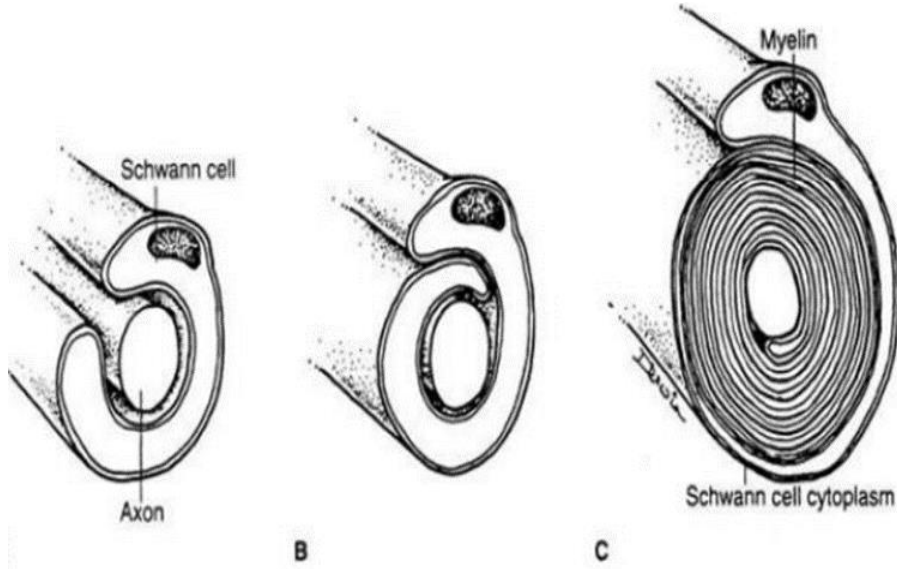
Şekil 2. Nöron Yapısı, Akson, Miyelin Kılıf ve Ranvier Boğumları Yapısı (14)

Şekline göre dört gruba ayrılan nöronların en sık bulunan tipi multipolar nöronlardır. Multipolar nöronların gövdesinden tek bir akson ve çok sayıda dendrit çıkar. Gövdesinden çıkan tek uzantısı olan nöronlar unipolar nöronlar, gövdesinden tek bir akson ve tek bir dendrit çıkan nöronlar bipolar nöronlar, gövdesinden tek bir dal çıkan ancak daha sonra santrale ve periferik doğru dallara ayrılan nöronlar ise pseudounipolar nöronlar olarak adlandırılır (15).



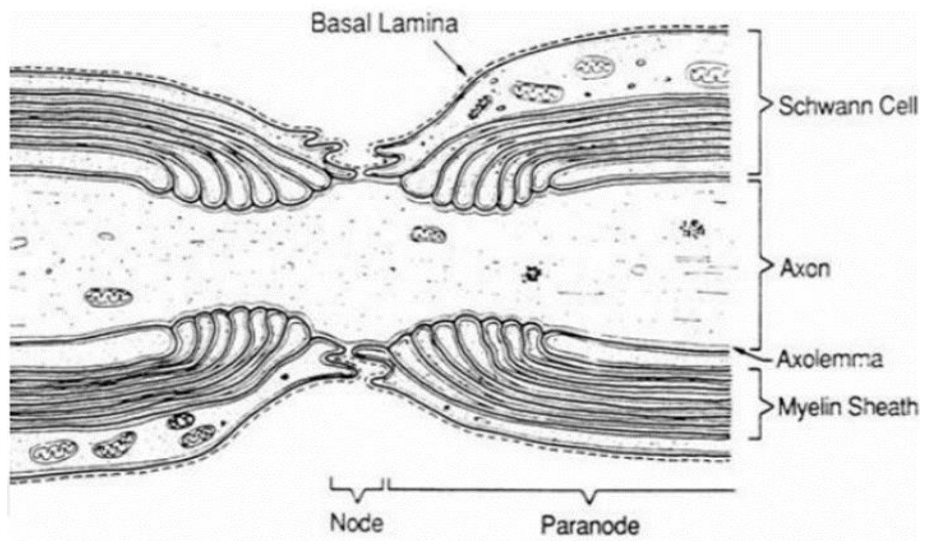
Şekil 3. Şekillerine Göre Nöronların Sınıflandırılması (16)

Bazı nöronların aksonlarında nöroglia hücreleri tarafından oluşturulan miyelin kılıf mevcut olup bunlara miyelinli nöronlar denilmektedir. Miyelinli nöronlar miyelinsiz nöronlara göre daha hızlıdır. Miyelinin içeriğinde protein, su ve lipid bulunur. Myelini oluşturan bu nöroglia hücreleri periferik sinir sisteminde schwann hücresi olarak adlandırılır ve bu işlevi stoplazmaları yardımı ile yaparlar. Schwann hücresinin çekirdeği dışarıda kalır. Aksonun çapı arttıkça miyelin kalınlığı azalır ve bu sinir ileti hızını etkiler (17).



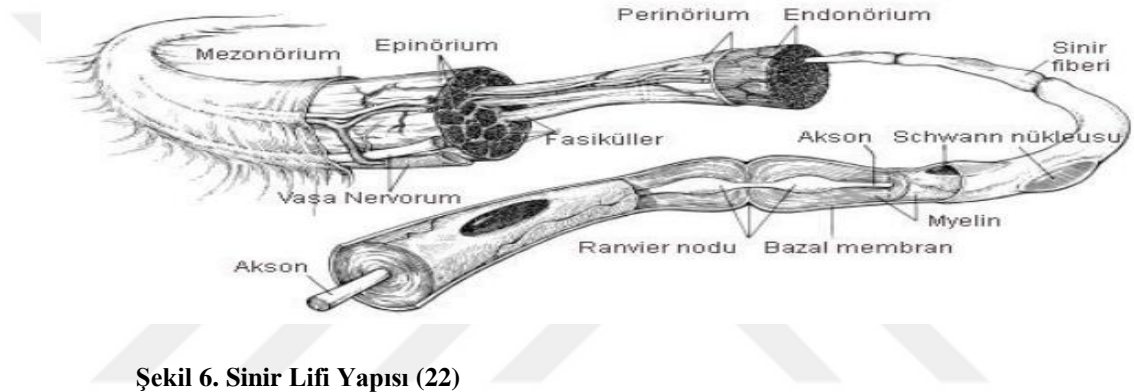
Şekil 4. Schwann Hücresinin Aksonu Miyelinlemesinin Şematik Görünümü (18)

Sinir lifleri enine kesildiğinde aksonu, aksonun etrafındaki schwann hücresi ve myelinli alanlar görülebilmektedir. Enine kesitteki schwann hücreleri arasındaki myelinsiz alanlar ise Ranvier boğumları olarak adlandırılır. Ranvier boğumları sıçrayıcı iletimin olmasını sağlar. Bunun sebebi hücre depolarizasyonu saplayan voltaj bağımlı sodyum ve potasyum kanallarının diğer alanlara göre yaklaşık olarak 25 kat daha hızlı çalışmasıdır (19,20). Ranvier boğumları asidik müköz bir yapıya sahip olup aksonun diğer nöronların uyarılarından korunmasını sağlar (17).



Şekil 5. Ranvier Nodu (21)

Periferik siniri gruplandırmak için içeriğindeki sinir lifleri dikkate alınır. Bu lif çeşitlerine göre duyuşal, motor ve karışık tip olmak üzere üçe ayrılır. Medulla spinalisin ön boynuz hücrelerinden çıkan lifler motor sinirleri oluşturur ve bu sinirler çizgili kasları uyarır. Medulla spinalisin arka boynuz hücrelerinden çıkan lifler ise duyuşal sinirleri oluşturur. Bu döngü içerisinde arka boynuz afferent uyarıların iletiminden ön boynuz ise efferent uyarıların iletiminden sorumludur. Hem duyuşal hem motor sinirleri içeren karışık sinir lifleri ise ön ve arka spinal köklerin birleşmesinden oluşur. Otonom sinir sistemine ait sinir hücreleri ise santral sinir sistemi içinde ve dışında bulunan çekirdek ve ganglionlarda bulunmaktadır (11).



Şekil 6. Sinir Lifi Yapısı (22)

Sinir lifleri fonksiyon ve yapılarına göre dört gruba ayrılmaktadır.

Tip 1 ve 2 lifler: A-alfa olarak da adlandırılırlar. Hem motor hem duyu görevi olan karışık liflerdir. Çapları 6-20 nm arasında değişir ve kalın miyelinli aksonlardan oluşur. En hızlı lif grubudur.

Tip 3 lifler: A-delta olarak da adlandırılırlar. Ağrı duyuşu iletiminden sorumludurlar. Çapları 1-6 nm arasında değişir.

Tip 4 lifler: B ve C lifleri olarak da adlandırılırlar. B lifleri preganglionik otonom aksonlar, C lifleri ise daha küçük çaplı ve miyelinli sinir lifleridir. Gecikmiş ağrı iletiminden sorumludurlar ve en küçük en yavaş lif çeşididir (23).

Tablo 1. Sinir Liflerinin Tipleri, Fonksiyonları, Lif Çapları ve İletim Hızları

Lif tipi	Fonksiyon	Lif çapı (µm)	İleti hızı (m/sn)
A			
α	Propriosepsiyon	12-20	70-120
β	Dokunma, basınç	5-12	30-70
δ	Ağrı, ısı, dokunma	3-6	1-30
γ	Kas içciklerine motor	2-5	12-30
B	Pregangliyonik otonomik	<3	3-15
C			
Dorsal kök	Ağrı, refleks cevaplar	0.4 - 1.2	0.5 - 2.5
Sempatik	Postgangliyonik sempatikler	0.3 - 1.3	0.7 - 2.3

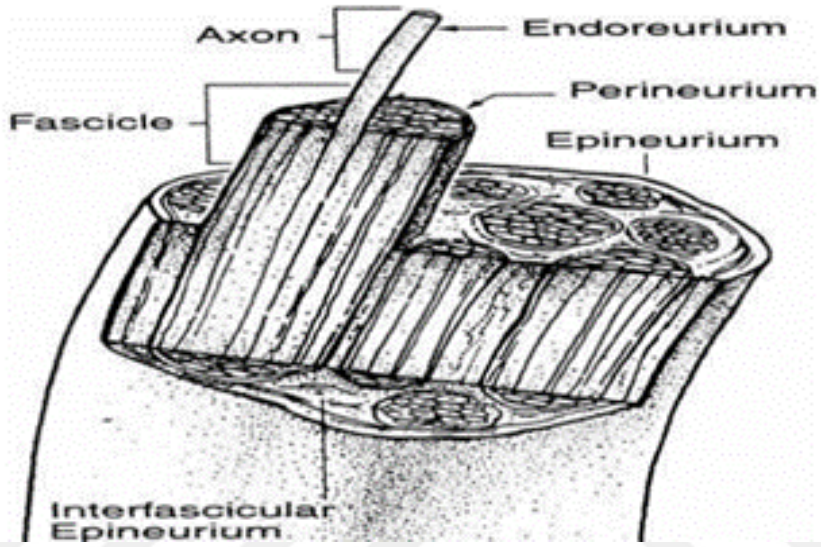
Sinir liflerinin bağ dokular aracılığıyla bir araya gelmesiyle oluşan yapıya fasikül adı verilir. Fasiküllerin bir araya gelmesiyle oluşan yapı ise periferik sinirlerdir. Cerrahi olarak işlem yapılabilecek en küçük yapı ise fasiküllerdir.

Periferik sinirlerde bağ dokusu oranı %25-85 arasında mevcut olup periferik sinirin görevine ve lokalizasyonuna göre farklılık gösterebilir. Periferik sinirlerde üç farklı bağ dokusu mevcut olup bunlar santralden laterale endonörium, perinörium, epinörium olarak adlandırılır. Periferik sinirler sistemindeki epinöral kılıfın devamı spinal sinirlerde dura mater olup, perinöriumun devamı pia ve araknoid materdir (24).

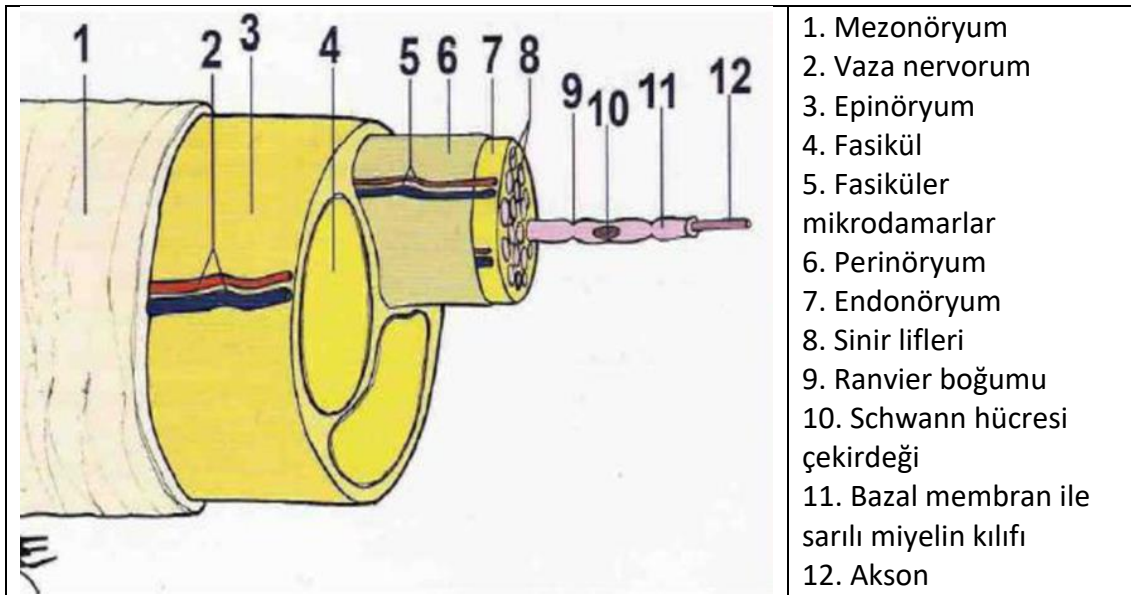
Endonörium sinir liflerinin gevşek bağ dokusu ile çevreli olduğu katman olup tek bir aksonu çevreleyen en iç tabakasıdır. Endonöriumda aksonlar ve onları çevreleyen schwann hücreleri, kollojen fibriller, fibroblastlar, kapiller damarlar ve az sayıda mast hücreleri bulunur. Mast hücreleri, sinir yaralanmasını takiben kan sinir bariyerinin bozulması sonucu oluşan iskemide endonöral damarlardaki geçirgenliği artırır (25,26).

Perinörium her bir fasikülü saran sıkı ve kuvvetli bağ dokusu olup endonöral yapıları korumaktan ve difüzyonda bariyer olarak işlev yapmaktan sorumludur. Perinöral difüzyon bariyerinin amacı endonöral ortamı korumak ve regülasyonunu sağlamaktır. Bu bariyer travma ve iskemi gibi olaylara karşı dayanıklılığı sağlamakta olup bariyerin hasar görmesi sinir iletimini etkilemektedir (27,28).

Epinörium gevşek areolar bağ dokusu olup çoğunlukla sinirin boyuna doğru uzanır. İçeriğinde kollajen ve elastik lifler mevcuttur. Sinir gövdesine yakın bölgelerde daha yoğun bulunurlar. Periferik sinirin etrafındaki yağ doku ile birleşerek hasar verici iskemi ve travmalara karşı korumaktan sorumludurlar. Ancak sinirdeki gerilmeye karşı etkileri çok yoktur. Gerilme arttığında hasar verici etki fasiküller tarafından engellenmeye çalışılır (29).



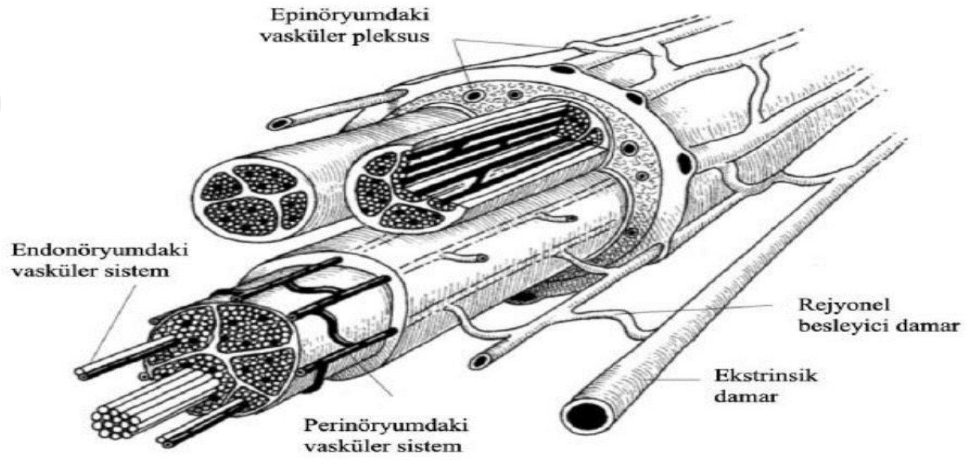
Şekil 7. Endonöryum, Perinöryum ve Epinöryumun Görüntüsü (30)



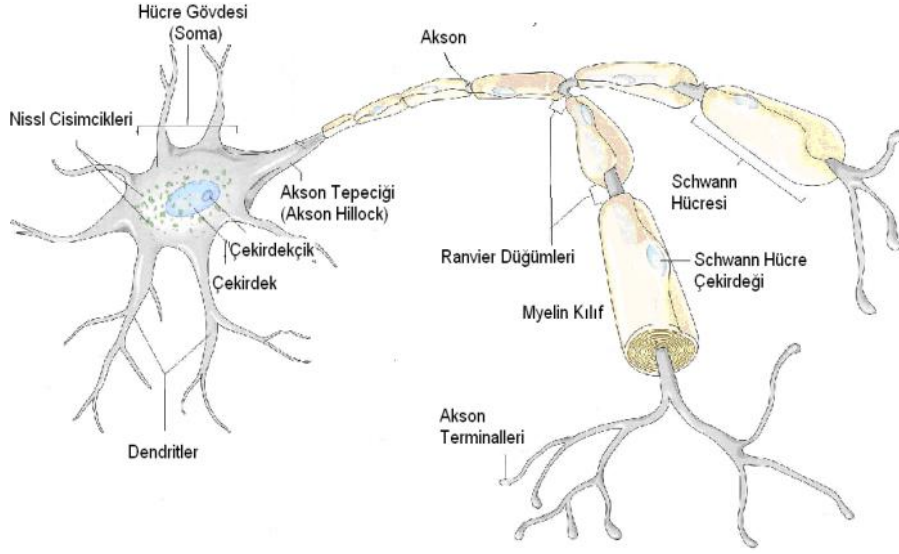
Şekil 8. Normal Periferik Sinir Anatomisi (31)

Periferik sinirlerin vasküler beslenmesinde birbirleriyle sık şekilde anastomoz oluşturan iki ayrı vasküler sistem vardır. Periferik sinir boyunca adventisya tabakası içinde seyreden arteria nervorumlar ve venüller ekstrinsik sistem olarak isimlendirilir. Ekstrinsik dolaşımın intrinsik dolaşım ile ilişkisini sağlayan periferik sinirin içine doğru ilerleyen kollateralleri bulunmaktadır. Periferik sistem boyunca uzunlamasına seyreder. Bu dolaşım ağı ektranöral dokuları beslemektedir. Makroskopik olarak görülme ihtimali olan bu sistem sinirin hasar görmesi sonrası sinir onarımında sinirin proksimal ve distal uçlarının birbirine bağlanmasına destek olurlar.

Periferik sinirin bağ dokusu içinde (endonörium, perinörium, epinörium) içinde bulunan damarsal ağlar ise intrinsik dolaşım olarak isimlendirilir. Venöz ağı intranöral yapısı genellikle arteriyel yapıya benzer. Bu vasküler sistemlerde oluşan bir hasar veya travma durumunda sinir fonksiyonel ve yapısal olarak etkilenebilmektedir (24).



Şekil 9. Periferik Sinir Vasküler Yapısı (32)



Şekil 10. Sinir Hücresinin Anatomisi (33)

2.3. Periferik Sinir Yaralanmaları ve Sınıflandırmaları

Periferik sinir hasarına en çok trafik kazası, düşme, kesici ya da delici cisim ile yaralanma gibi travmalar sebep olur (3). Ayrıca metabolik sebepler, enfeksiyonlar, neoplaziler, elektrik çarpmaları, yanıklar gibi sebeplerde periferik sinirlerde hasar oluşturabilir (34).

Periferik sinirlerde oluşan hasarların bireylerde hayati tehlike oluşturma ihtimalleri çok azdır ancak bireylerin yaşamsal fonksiyonlarını kısıtlamakta, bireyleri sosyoekonomik ve psikolojik açıdan etkileyebilmektedir. Yaralanma sonrasında asıl hedef sinirin iyileşmesinin en kısa sürede sağlanmasıdır. Bu yüzden tedaviye bir an önce başlanmalıdır. İyileşmenin hızlı ve istenilen şekilde olması için hasarın tipi, derecesi ve uygulanan tedavi önemlidir (2,29).

2.3.1. Periferik Sinir Hasarlanma Mekanizmaları

En sık görülen üç ana tip periferik sinir hasar mekanizması mevcuttur. Bunlar dışında daha nadir olarak termal hasar veya radyasyon hasarı da olabilir.

Gerilim tipi hasarlanma: En sık görülen periferik sinir hasarlanma tipidir. Endonöryum içeriğinde kollajen mevcut olup periferik sinire elastikiyet kazandırır. Uygulanan kuvvet bu elastikiyeti yendiği anda gerilim tipi hasar meydana gelir. Bu

hasar tipinde sinirin bütünlüğü korunur fakat eğer uygulanan kuvvetin şiddeti daha da artarsa sinirde kopme meydana gelebilir. Doğum esnasında bebeklerde olan brakial pleksus hasarı buna örnektir (35).

Laserasyon tipi hasarlanma: Kesici, delici aletlerle veya künt olarak oluşan periferik sinir hasarlanmasıdır. Sinirin bütünlüğü korunabilir veya bütünlük kaybolabilir (36).

Kompresyon tipi hasarlanma: Periferik sinire olan uzun süreli veya kısa süreli yapılan basılar sonrası oluşan sinirin ezilmesine bağlı hasarlanma tipidir. Genelde periferik sinirin bütünlüğü korunur. Bu hasarlanma tipinde iskemik sürecin etkisi büyüktür. Tuzak nöropatisinde veya Saturday night paralizisinde bu şekilde hasarlanma oluşur (37).

Periferik sinir hasarlanmalarında hasarın şiddetinin değerlendirildiği, hasar sonrası oluşabilecek fonksiyonel sonucun önceden tahmin edilebildiği ve uygun tedavi planını belirlemeye yardım edebilecek olan önemli ve kullanılmakta olan iki tip sınıflandırma mevcuttur. Bunlar 1943 yılında yapılan Seddon sınıflaması ve 1951 yılında yapılan Sunderland sınıflamasıdır (38, 39).

Seddon sınıflaması 3 gruba ayrılmaktadır.

1- Nöropraksi

2- Aksonotmezis

3- Nörotmezis

-Nöropraksi: Sinirin sadece aksonunda hasar mevcuttur. Aksonal bütünlük korunmuştur ancak aksonal iletimde sorun vardır. Periferik sinir hasarlanmasının en hafif formudur. Bu hasarlanma tipinde küçük iskemik alanlar ve demyelinize alanlar iyon iletim bloğuna yol açarak motor ve duyu kayıplara neden olabilir. Motor liflerin hasarlanma ihtimali duyu liflere göre daha çöktür. Etkilenen sinire bağlı olarak iyileşme oluşana dek duyu kaybı veya kuvvet kaybı oluşabilir. Tam olarak iyileşme cerrahi tedavi uygulanmaksızın günler veya haftalar içinde olur. Bu sinir hasarlanmasında Wallerian dejenerasyon görülmez.

-Aksonotmezis: Crush yaralanma olarak da tanımlanabilir. Hem akson hem myelinde hasar mevcuttur. Perinöryum ve epinöryum korunmuştur. Bu yapılar korunduğu için prognozu iyidir. Aksonraki hasarlanma kuvvetli olduğu için hasarlanmanın distalinde Wallerian dejenerasyon görülür.

-Nörotmezis: Bu sinir hasarlanmasında tam bağlantı kopması mevcuttur. Sinirde tam fonksiyon kaybı mevcuttur. Tedavisi cerrahi olarak uygulanır. Tüm yapılar hasarlı olduğu için tam olarak rejenerasyon gerçekleşemez (40).

2.3.2. Sunderland Sınıflaması

Sunderland bu sınıflamayı beş grup halinde yapmıştır daha sonra Mckinnon altıncı sınıflamayı eklemiş olup günümüzde Sunderland sınıflaması altı alt grup halinde kullanılmaktadır.

1. Derece: Seddon sınıflamasındaki nöropraksiyle benzerliği olan birinci derece yaralanmada sinirin bütünlüğü korunmuştur. Sinir kılıfı ve aksonlarda hasar yoktur. Yalnızca travma olan kısımda miyelin kaybına bağlı ileti kaybı olur. Genel olarak 2-3 hafta içinde sinirde fonksiyonel bir hasar kalmaksızın kendiliğinden iyileşir.

2. Derece: Seddon sınıflamasındaki aksonotmezisle benzerliği olup sinirin ciddi bası altında kalması veya traksiyon sonrası meydana gelir. Sinir kılıfında hasar meydana gelmemiştir ancak aksonlarda hasar meydana gelmiştir. Buna bağlı olarak hasarın distalinde wallerian dejenerasyon meydana gelir. Bu grup hasarlanmalarda sinirin fonksiyonel olarak iyileşmesi aksonal rejenerasyona bağlıdır. Genel olarak prognozu iyidir ancak intranöral skarlaşma halinde cerrahi müdahale gerekebilir. Aylar içinde sinirde fonksiyonel hasar kalmaksızın iyileşme ihtimali mevcuttur.

3. Derece: Seddon sınıflamasındaki nörotmezis ve aksonotmesiz hasarlanma seviyelerinin arası bir durumdur. Akson ve sinir kılıfı hasar görmüştür. Epinöryum ve perinöryum hasar görmemiştir. Lezyonun proksimalinde retrograd dejenerasyon distalinde ise wallerian dejenerasyon meydana gelir. Bu seviyedeki lezyonlarda ödem, dejenerasyon, iskemi meydana gelebilir ve fibrosizle sonuçlanabilir. Makroskopik olarak bakıldığında sinir hasar almamış gibi görülebilir ancak tam olarak iyileşme fibrozis, ödem gibi durumlara bağlı olarak değişkendir. Sıklıkla cerrahi müdahale gerekir.

4. Derece: Sinirin tüm nöral ve destekleyici unsurlarında hasar meydana gelmiştir. Yalnızca epinöryumda hasar meydana gelmemiştir. Epinöryumun sağlam olmasına rağmen sinir sertleşir ve katı bir skar dokusu meydana gelebilir. Bu skar

dokusuna nörom denir. Sinir bütünlüğünün devam etmesine rağmen rejenerasyon kısıtlı olabilir. Fonksiyonel olarak iyileşme çok düşük oranda olup genellikle cerrahi müdahale önerilir.

5. Derece: Epinöryüm tabakasında hasar görmüş olup bu seviyede tam kesi meydana gelir. Seddon sınıflandırmasında nörotmezis dönemine denk gelir. Sinirde bütünlük ve süreklilik bozulur. Cerrahi onarım yapmaksızın sinirin iyileşme hali gözlenemez.

6. Derece: Mckinnon tarafından ileri sürülen ilk dört derece hasarların bir arada bulunması halidir (38, 39, 41, 42).

Tablo 2. Sunderland ve Seddon Sınıflamalarının Patoloji ve Prognoz Açısından Birlikte Tablo Olarak Gösterimi

Sunderland Sınıflaması	Seddon Sınıflaması	Görülen Patolojiler	Prognoz
1. Derece	Nöropraksi	Yalnızca miyelin kaybı	Haftalar veya aylar içinde kendiliğinden düzelir Aylar içinde iyileşme görülür. Prognozu iyidir intranöral skarlaşma halinde cerrahi müdahale gerekebilir.
2. Derece	Aksonometzis	Aksonal hasar Wallerian dejenerasyon	Kötü prognozludur. Cerrahi müdahale gerekebilir.
3. Derece	Aksonometzis	Aksonal hasar Endonöryum hasarı	Kötü prognozludur. Sinirin fonksiyonel olarak iyileşmesi çok düşük ihtimaldir. Sıklıkla cerrahi müdahale gerekir.
4. Derece	Aksonometzis	Aksonal hasar Endonöryum hasarı Perinöryum hasarı	Kötü prognozludur. Cerrahi müdahale yapmaksızın sinirin iyileşme hali görülemez.
5. Derece	Nörotmezis	Aksonal hasar Endonöryum hasarı Perinöryum hasarı Epinöryum hasarı	Yaralanma tipi ve şiddetine göre prognozu değişkendir.
6. Derece	Değişik derecelerde yaralanma	İlk dört derecedeki yaralanmaların bir arada bulunma halidir.	

2.3.3. Periferik Sinir Hasarının Patofizyolojisi

Periferik sinir hasarlanmasıyla birlikte sinirde bazı morfolojik ve hücrel değişiklikler olmaktadır. Periferik sinir sistemindeki hasarlar santral sinir sisteminin aksine rejenerere olabilmektedir. Hafif hasarlarda dejenerasyondan sonra uzun sürecek olan bir rejenerasyon başlar ancak şiddetli hasarlarda dejenerasyon ve rejenerasyon

birlikte başlar. Bu süreçte iyileşmenin tam olarak gerçekleşebilmesi için dejenerasyon ve rejenerasyon süreçlerinin tamamlanabilmesi gerekmektedir (43).

Rejenerasyonun tamamlanabilmesi yaralanmanın tipi ve yaralanma sonrasında gerçekleşecek dejeneratif değişikliklerle alakalıdır. Sunderland birinci derece yaralanmalarda genellikle dejenerasyon oluşmaz ve tam rejenerasyon sağlanır. İkinci derece yaralanmalarda ise Schwann hücrelerindeki kalsiyum artışına bağlı olarak Wallerian dejenerasyon gelişir (44). Üçüncü derece yaralanmalarda ise sinir lifi uçlarında çekilmeler görülür. Sinirdeki hasarın şiddetine bağlı olarak yoğun ödem ve kanama da görülebilir. Bu olayların oluşması hasar gören bölgeye fibroblast göçünün artmasına sebep olacak ve bu durum da sinirde oluşan skar dokusunu artırabilecektir. Dördüncü ve beşinci derece hasarlanmalarda ise sinirin tüm nöral ve destekleyici unsurlarında hasar meydana gelir. Aksonal hat kaybolmaya başlar ve schwann hücreleri de görevini yerine getirememeye başlar. Buna bağlı olarak makrofaj aktivasyonu artacak ve ödemle birlikte yoğun fibrozis süreci başlama riski artar. Sinir lifleri bu aşamalarda rejenere olmakta zorlanacak ve yoğun fibrozisten dolayı tam olarak rejenerasyonunu sağlayamaz hale gelecektir (45).

Periferik sinir hasarının ardından ilk altı saat içerisinde hasar gören sinirin hücre gövdesinde hacim artar ve hücre çekirdeği perifere doğru yer değiştirir. İlerleyen süreçte nissl cisimcikleri ve granüllü endoplazmik retikulum yıkılmaya başlayarak sitoplazmaya dağılır. Bu durum sitoplazmanın yapısını değiştirir. Bu olaya kromatoliz adı verilir. Bu değişiklikler hasarın ikinci ve üçüncü haftasında en yüksek değerine ulaşır. Buradaki amaç rejenerasyonu sağlamaktır. Bu olayların olması hücre içi ödemin meydana gelmesine sebep olur(46).

Wallerian dejenerasyon sinire bir hasar geldiğinde sinirin distalinde oluşan hasara verilen isimdir. Bu tanımlama 1800'lü yıllarda August Waller tarafından yapılmıştır (47, 48). August Waller' e göre sinirdeki hasar sonrası akson birinci günde şişer ve düzensizleşmeye başlar. Buna bağlı olarak hasar bölgesinin proksimal ve distalindeki birbirine komşu iki ranvier nodu arasındaki miyelin kılıf bozulur. İnternodal myelin kendi üzerinde katlanarak sinirsel iletimi engellenir ve inhibitör etkisi olan potasyum kanallarını açığa çıkarır. Miyelin kılıfın bozulmasıyla birlikte sinir dokusundaki makrofajlar fagositoz yapabilen makrofajlara dönüşerek Schwann hücrelerinin de yardımıyla bozulmuş olan miyelini yok etmeye çalışırlar (44, 49).

Schwann hücreleri sinirdeki hasara bağlı oluşan hipoksiyle birlikte prolifer olmaya başlar. Sinir büyüme faktörü (NGF) gibi nörotrofik faktörlerin sentezi artar. Bazal membran paralel kordonlar şeklinde düzenlenir ve bantlar oluşturur. Bu bantlar schwann hücrelerinin oluşturduğu doğrusal bantlardır ve Bungner bandı olarak adlandırılır. Bungner bantları aksonların rejenerasyonunun sağlanmasında yardımcı olur. Eğer bu aşamalarda rejenerasyon sağlanamaz ise bu yapı fibröz doku haline dönüşür (59).

2.3.4. Siyatik Sinir Hasar Modelleri

Periferik sinir hasarlanmasıyla alakalı yapılan çalışmalarda en sık kullanılan yöntemlerden biri sıçan siyatik sinir hasarı modelidir. Bu hasarlanma modelinde travmatik ve vasküler faktörler etkili olup amaç aksonometsiz oluşturmaktır. Epinöral ve endonöral damarlarda kompresyona bağlı olarak endotel bozulur ve geçirgenlik artışı meydana gelir. Sinirdeki intranöral basıncın artmasına bağlı olarak mikrodolaşım bozulur. Bu olayların sonunda Wallerian dejenerasyon meydana gelir. Kompresyon ortadan kalktığında ise reperfüzyona bağlı olarak serbest oksijen radikalleri oluşur. Serbest oksijen radikalleri oksidatif stresi artırır ve bu da antioksidan mekanizmalarla tolere edilmeye çalışılır. Eğer antioksidan mekanizmalar bunu tolere edemez ise sinirde oksidatif hasar meydana gelir (51).

Yapılan bazı çalışmalarda sinir hasarından sonra meydana gelen revaskülarizasyonun sinirin rejenerasyonunda etkili olduğu tespit edilmiştir. Makrofajlar ve schwann hücreleri sinirdeki intranöral vasküler sistemin iyileşmesinde etkilidir. Bununla birlikte vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) nöronun rejenerasyonu ve schwann hücreleri üzerinde olumlu etkileri gösterilmiştir. VEGF'nin siyatik sinir hasarı sonrası rejenerasyona olan etkilerinin artmış vaskülarizasyon ve gelişmiş sinir rejenerasyonu arasında olumlu yönde bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (52).

Sıçan siyatik sinir hasarlanma modellerinde toplam endotel alanının damar çapı artışı ve damar sayısının artmasına bağlı olarak arttığı gözlenmiştir (53). Hasarlanma sonrası nitrik oksit (NO) ve kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) mekanizması devreye girerek damarlarda vazodilatasyon ve kanlanma artışı ve ödem

meydana gelir. Hasar sonrası 7. ve 14. Günlerde vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) devreye girerek anjiogenezis artar (54).

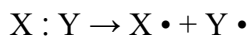
Siyatik sinir hasarlanma modelinde kompresyon aleti olarak farklı malzemeler kullanılmıştır. Hasar oluşturma tekniklerinde halen tam olarak fikir birliği yoktur. Hemostatik klipler, geçici ve kalıcı anevrizma klipleri sinir hasarlanma modelinde uygun malzemeler olarak kullanılmaktadır. Omura ve arkadaşları yapılan kompresyona bağlı olarak oluşan hasarın derecesinin baskı uygulama süresi ile artabileceğini belirtmişlerdir ancak geçici klip ile yapılan kompresyonun daha çok nöropraksi yaptığı, kalıcı klip ile yapılan kompresyonun ise daha çok aksonometzis yaptığını savunmuşlardır (55, 56, 57).

2.4. Serbest Radikaller

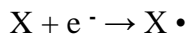
Atom ya da moleküller bir ya da daha çok eşlenmemiş elektron içerir ise serbest radikaller olarak adlandırılırlar. Serbest radikaller içermiş oldukları eşlenmemiş elektronlardan dolayı daha kararsız halde olurlar ve bu durum serbest radikallerin daha reaktif olmalarını sağlar (58). Serbest radikallerin bulunmuş olduğu bu kararsız yapı onların lipitler, nükleik asitler, karbonhidrat ve proteinlerle daha kolay reaksiyona girerek yapısal değişiklik yapabilmelerini kolaylaştırır. Bu etkileri serbest radikallerin oksidasyonlara, kromozom hasarlarına, mutasyon ve ölümlere sebep olmasını sağlar (59).

Serbest radikallerin 3 ana oluşma mekanizması vardır:

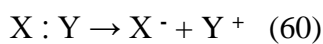
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, ayrı ayrı her parçasında ortak elektronlardan bir tanesinin kalarak eşit bölünmesi yoluyla



2. Normal olan moleküle bir adet elektronun eklenmesiyle

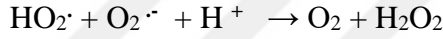


3. Normal olan molekülden tek bir elektronun kaybı ya da molekülün eşit olmayacak şekilde bölünmesiyle oluşabilir.



Süperoksid radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Zayıf reaktif bir serbest radikal olan süperoksid anyonu doğal oksijen molekülünün bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. Süperoksid radikali aerobik ortamda mitokondri iç zarında elektrondan zengin şartlarda spontan olarak oluşur. Başlıca kaynağı sitokromdaki p 450 sistemidir. Süperoksid radikalini ksantin oksidaz ve flovoenzimler oluşturur. Süperoksid üreten diğer enzimler lipooksijenaz ve siklooksijenazdır. Fagositik hücrelerin NADPH bağımlı oksidaz enzim kompleksi çok fazla süperoksid radikali oluşturur. İki tane süperoksid molekülü süperoksid dismutaz (SOD) aracılığıyla hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştür (61). Süperoksid serbest radikal olmasına rağmen zararlı etkisinden ziyade asıl önemi hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metallere indirgeyicisi olmasıdır. $O_2^{\cdot-}$ ile perhidroksi (HO_2^{\cdot}) radikalinin tepkimeye girmesi sonucu biri indirgenirken diğeri okside olur. Bu dismutasyon reaksiyonunda moleküler oksijen ve H_2O_2 meydana gelir (62).



$O_2^{\cdot-}$ nötrofillerin bakterisidal aktivitesi, inflamasyon, apoptozis ve vasküler fonksiyonların regülasyonu gibi faydalı etkilerde bulunur. Azalmış $O_2^{\cdot-}$ düzeyleri bakteriyel enfeksiyon gibi zararlı etkilere yol açabilir. Artmış $O_2^{\cdot-}$ düzeyi ise SOD enzimi ile H_2O_2 ve oksijene dönüştürülerek miktarı düşürülür (63).

Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksidin eşlenmemiş elektronu yoktur. İki farklı oluşum mekanizması vardır. Hücre içinde genelde peroksizomlarda oluşturulur.

1. Moleküler oksijenin iki elektronla indirgenmesiyle oluşabilir.



2. Biyolojik sistemlerde süperoksidin üretimi ile oluşur. Bu olay sık görülebilmektedir ve bu şekilde iki süperoksid anyon radikali birbiriyle, hidrojen peroksit ve oksijeni verecek şekilde tepkimeye girerler (64).

Süperoksit radikallerini temizlemeye yarayan bu tepkime dismutasyon tepkimesi olarak adlandırılır. Süperoksid dismutaz tarafından veya spontan olarak gerçekleşebilir. Hidrojen peroksit gerçek bir süperoksit radikali olarak değerlendirilmemesine rağmen membranlardan girebilmesi kolay olduğu için önemlidir. Nötrofil fagozomlarındaki myeloperoksidaz enzimiyle birlikte çok reaktif

serbest oksijen radikali olan HOCl oluşumuna sebep olur. Hidrojen peroksit eğer ortam şartları uygun ise en önemli serbest oksijen radikali (SOR) olarak kabul gören OH' radikalinin oluşumuna etki eder. Hidrojen peroksitin bir diğer görevi de hücre içi sinyal molekülü olarak görev almaktır. Hidrojen peroksiti uzaklaştıran enzimler katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinlerdir (65).

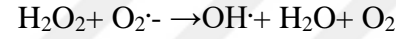
Hidroksil radikali (OH·)

Biyolojik sistemlere en fazla zarar verebilen oksijen radikali hidroksil radikalidir. Ortamda Fe⁺² ve Cu⁺ var ise Fenton tepkimesi ile hidrojen peroksitten üretilir (66). Hidroksil radikalinin yarı ömrü 9-10 saat gibi uzun bir süreçtir ancak çok tehlikeli bir radikaldir. Tepkimeye girme eğilimi çok yüksektir. Hidroksil radikalinin oluşumunda iki önemli kaynak vardır. Bunlar Fenton ve Haber – Weiss reaksiyonlarıdır (67, 68).

Fenton reaksiyonu ;



Haber-Weiss reaksiyonu;



Singlet Oksijen(1O₂)

Ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülü olarak kabul edilir. Enerji absorpsiyonu ile oksijenin paylaşılmamış dış elektronlarını değiştirerek aynı veya farklı orbitale yerleşebilirler. Oksijenin uyarılmış bu haline singlet oksijen denir. DNA, RNA, lipitler ve proteinler gibi biyolojik hedeflerle tepkimeye girerek hücrelerde zararlı etkilere sebep olabilir. Ancak yıkımları çok hızlı olduğu için önemli bir toksisite kaynağı sayılmazlar (64).

Nitrik Oksit

Nitrik oksit sentaz tarafından endojen olarak L-Arjininden üretilen bir serbest radikaldir (67). Dokularda yaygın olarak gaz halinde bulunur. Guanilat siklazı aktive eden nitrik oksit vasküler tonusun regülasyonunda majör rol oynar. Oksijenin bağlandığı bölgeye yarışmalı olarak bağlanarak sitokrom oksidazın inhibisyonunu direk olarak sağlayarak hücresel solunumun düzenlenmesinde rol alır (69).

Serbest oksijen radikallerinin etkileri

Serbest oksijen radikalleri lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve DNA ile tepkimeye girerek hücre ve dokularda fonksiyon bozukluğu yapar (67). Serbest radikallerin hücre ve dokularda yapmış olduğu etkiler şu şekilde sıralanabilir ;

1. DNA hasarlanması
2. Nükleotit yapıli koenzimlerin yıkımı
3. Enzim aktivitesini bozmak
4. Lipit metabolizmasını etkilemek
5. Protein ve lipidlerle kovalent bağlantılar yaparak yapısını bozmak
6. Membran lipidlerini etkileyerek hücre zarı taşıma sistemine zarar vermek
7. Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarını bozmak
8. Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarını bozarak kapillerlerde aterosklerotik olayların artmasını sağlamak olarak sayılabilir (70).

Serbest radikallerin biyolojik sistemde etki ettikleri arasında en hassas olanları lipidlerdir. Lipit peroksidasyonunda, hücre membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asidi (PAYA) ile oksijen radikali reaksiyona girerek lipit hidroperoksitleri oluşur. Lipitlerin doymamışlık oranı arttıkça lipit peroksidasyonunun şiddeti de artar. PAYA oksitlendiğinde yağ asidi radikalleri oluşur. Bunlara oksijen eklenmesi halinde lipit peroksi radikali oluşur. Bunlar zincir reaksiyonlarının taşıyıcısı olarak görev almakta olup eğer herhangi bir antioksidan tarafından önlenemezler ise komşu PAYA moleküllerini okside ederler (71).

Bu olayların olduğu durumda yeni radikallerin ve toksik aldehyitlerin oluşmasını sağlayan lipit hidroperoksitleri meydana gelir. Lipid peroksidasyonu hücrenin membran geçirgenliğini ve akışkanlığını bozar (72). Lipid peroksitlerinin yıkımından oluşan malondialdehit (MDA) ise protein ve fosfolipitlerle çapraz bağ yaparak bunların özelliklerini kaybetmesine sebep olur. MDA deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi hücre membran özelliklerini bozar. Serbest radikaller sonuç olarak membran lipidlerinde iyon transport bozuklukları, enzim aktivite değişiklikleri gibi etkileri olur (63).

Yapısında histidin, arginin, sistein ve metiyonin gibi aminoasitleri bulunan proteinler oksidasyondan daha kolay etkilenirler. Serbest radikal aracılı protein

modifikasyonu enzim proteolizine duyarlılığı arttırır. Proteinlere karşı olan oksidatif hasar enzimleri, reseptörleri ve hücre zarı taşıma yeteneğini etkiler. Oksidatif olarak hasar görmüş protein ürünleri birçok hücrenel fonksiyona zarar verebilir. Eğer proteinlerin spesifik bölgelerine etki etmiş ise hücrenin canlılığını olumsuz yönde etkileyebilir (73).

SOR'un Nükleik asit ve DNA'ya etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA hasarı yaparak hücremutasyon veya ölüme yol açabilirler. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girebildiği için DNA serbest radikallerden çok kolay etkilenir. Nötrofil kaynaklı H₂O₂, membranlardan kolayca geçerek hücre nükleusuna ulaşır ve zararlı etkileri olabilir. Bu etkiler DNA hasarı, hücre disfonksiyonu veya hücre ölümü olarak sayılabilir (74).

SOR'un Karbonhidratlara etki

Özellikle monosakkaritlerin oksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Bunlar diyabetin patogeneğinde rol alırlar. Ayrıca okzoaldehit olan glikozil, DNA ve RNA arasında çapraz bağ yaparak antimitotik etki gösterir (75).

2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Canlılar hayatları boyu hem ekzojen hemde endojen reaktif ve radikal oksijen türlerinden etkilenmektedirler. İnsan vücudu bu serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinin etkilerini antioksidan sistem yapısıyla birlikte dengede tutmaktadır. Bu denge eğer oksidanlar lehine kayar ise oksidatif stres oluşur (76).

Oksidan moleküllerin oluşmasını ilk olarak oksidatif stres meydana getiren etkenlerin ortadan kaldırılması engeller. Oksidan moleküllerin oluşmasını engelleyen diğer olaylar oksidan molekülleri oluşturan hücrelerin inaktive edilmesi ve hücre hasarlanmasına bağlı olarak oksidan moleküllerin oluşmasını sağlayan biyokimyasal reaksiyonların önlenmesidir. Ancak bu olaylar her zaman gerçekleşemez ve oksidan moleküller oluşur. Oluşan oksidan moleküllerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için antioksidan maddelere ihtiyaç duyulur (77).

Antioksidanların dört farklı etki mekanizması vardır:

1. Toplayıcı etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutar veya daha zayıf yeni moleküle çevirir. Antioksidan enzimler ve trakeobronşiyal mukus toplayıcı etkiyle antioksidan etki yaparlar.

3. Bastırıcı etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azalır veya inaktif şekle dönüştürür. Vitaminler, flavanoidler bastırıcı etkiyle antioksidan etki yaparlar.

3. Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırar ve fonksiyonlarını engeller. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etkiyle antioksidan etki yaparlar.

4. Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılmasıdır (78).

Antioksidan maddeler doğal(endojen) ve ilaçlar(eksojen) olmak üzere iki gruba ayrılır (79).

1. Endojen Antioksidanlar (Doğal)

a. Enzimler: Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon S-transferaz (GST), katalaz, glutatyon transferaz örnek olarak gösterilebilir.

b. Enzim olmayanlar: Albumin, glutatyon (GSH), melatonin, ürik asit, selenyum, transferrin, beta-karoten, sistein, ferritin, bilirubin, laktoferrin, seruloplazmin örnek olarak gösterilebilir.

2. Eksojen Antioksidanlar (İlaçlar)

a. Vitaminler : α - tokoferol (vitamin E), β -karoten (vitamin A), folik asit, C vitamini örnek olarak gösterilebilir.

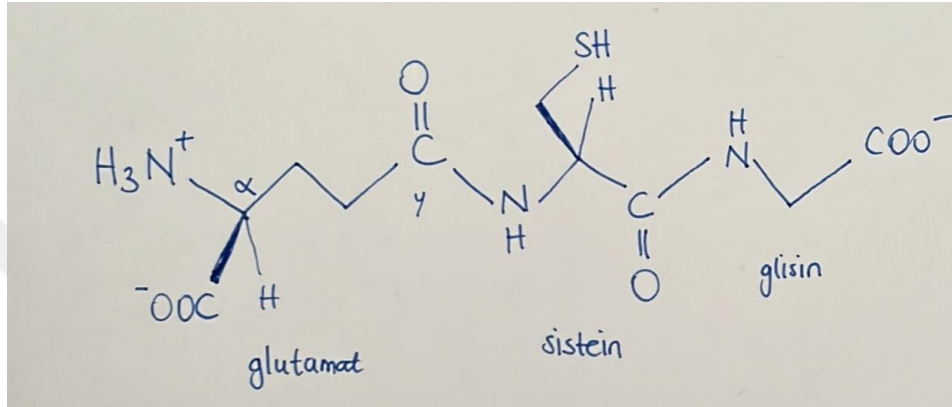
b. Ksantin oksidaz inhibitörleri: Allopürinol, oksipürinol örnek olarak gösterilebilir.

c. NADPH oksidaz inhibitörleri: Lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokörleri, non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar örnek olarak gösterilebilir.

Glutatyon Redüktaz

Glutatyonu L-glutamat, L-sistein ve glisin aminoasitleri meydana getirir. Glutatyon hücrede genelde tripeptid yapısında olup hücre sitoplazmasında üretilen önemli bir tiyol grubudur (80). Glutatyon ilk olarak 1888 yılında maya hücrelerinde tespit edilmiştir. Hopkins tarafından 1921 yılında saflaştırılarak glutatyon redüktaz

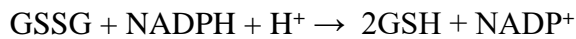
olarak isimleştirilmiştir. Okside halde (GSSG) ve indirgenmiş (GSH) olarak iki halde mevcuttur. Glutasyon biyosentezi γ -glutamil sistein sentetaz (γ -GSS) ve glutasyon sentetaz (GS) enzimleri ile ATP bağımlı iki basamaktan oluşur. γ -GSS enzimi ile ilk basamakta, L-glutamat ve L-sisteinden γ -glutamil sistein sentezlenir. Bu basamak glutasyon sentezi için hız sınırlayıcı basamaktır. İkinci basamakta ise GS enzimi aracılığı ile γ -glutamil sistein ve glisinden glutasyon oluşur (81).



Şekil 11. Glutasyon'un Yapısı (82)

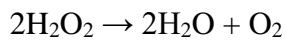
Glutasyonun hücrelerde GSH/GSSG oranı oksidasyonu etkileyen önemli sebeplerden biridir. Glutasyon miktarının çok az olması halinde oksidatif dejenerasyon oluşmaya başlar ve nörolojik hasarlar, yaşlanma, kanser, kistik fibrozis gibi durumlar ortaya çıkar. Glutasyon içerisindeki -SH grubu ile hücreleri okside bileşiklerin yıkıcı reaksiyonlarına karşı korur (83).

Glutasyon redüktaz enzimi disülfür substratlar ve indirgenmiş piridin nükleotidleri arasında elektron alışverişini gerçekleştirmektedir. Bu enzimin asıl görevi ise GSH/GSSG oranını belirli bir düzeyde tutmaktır(84).



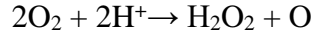
Katalaz

Aerobik hücrelerin çoğunda bulunur. En çok peroksizomlarda daha nadir olarak mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunur. Hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştürür. Bulunduğu hücreyi oksidatif strese karşı korur.(85)



Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksitin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşmesine etki eden bir enzimdir.



En önemli görevi oksijen metabolize eden hücreleri süperoksit radikallerinin zarar verici etkilerine karşı korumaktır. Bir diğer görevi lipit peroksidasyonunu inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan hücrelerde çok fazladır. Hücre dışı aktivitesi ise daha düşüktür. Ekstrasellüler düzeyde SOR'u imha edebilen tek antioksidan olması sebebiyle bu enzimin hasar görmesi birçok hastalığa sebep olur (86).

Glutatyon-S-transferaz (GST)

Ksenobiyotiklerin değişiminde görev alırlar. Lipit peroksitlerine karşı GST'ler selenyum kullanmadan etki ederek bir savunma mekanizması kurarlar. Detoksifikasyon görevinin yanında hücre içi bağlayıcı özellikleri ve taşıyıcı olma görevleri de vardır (87).

2.5. Bevacizumab

Anjiyogenez büyüme faktörlerinin hem negatif hem pozitif etkileri altında süregelen karmaşık bir dönemdir. VEGF anjiyogenezisi kontrol eden ana büyüme faktörüdür. VEGF alt tipleri; VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve plasental büyüme faktörüdür. VEGF'nin promoter bölgesinde oluşabilecek herhangi bir genetik değişiklik VEGF proteininin aktivasyonun etkileyebileceği gibi VEGF inhibitörlerinin faydasını da etkileyebilir (88). VEGF-A patolojik anjiyogenez için etkili olan alt tipidir. Bu yüzden üzerinde en çok çalışılan ve farmakolojik olarak hedeflenmiş büyüme faktörü olarak kabul edilir. VEGF-A epitelyal, inflamatuvar, endotelial ve hematopoietik hücrelerde üretilir. Üretildikten sonra vasküler endotel hücrelerine seçici olarak bağlanır ve anjiyogenezi uyarır. Hem normal hem anormal anjiyogenez ile ilişkisi nedeniyle VEGF-A hem proanjiyogenik hem de antianjiyogenik ajan olarak kabul edilir ve bu yüzden tedavi için üzerine odaklanılan bir hale gelmiştir (89). VEGF anjiyogenezdeki etkisini tirozin kinaz yapısındaki VEGFR (VEGF reseptörü) aracılığıyla gösterir. VEGFR üç alt tipte sınıflandırılır.

Bunlar VEGFR-1 (Flt1), VEGFR-2 (Flk1 / KDR) ve VEGFR-3 (Flt4) olarak isimlendirilmiştir. Bu reseptörler İgG benzeri ekstraselüler bölgeye sahiptirler (90).

İgG1 yapıda olan bevacizumab anti-VEGF rekombinant insan monoklonal antikorudur (91). VEGF-A'nın tüm izoformlarını inhibe edebilmektedir. Bevacizumab'ın yarı ömrü yaklaşık 20 gündür (92). Bevacizumab dolaşımdaki VEGF' i bağlayarak reseptör aktivasyonunu engellemektedir. Bu şekilde endotel proliferasyonunu ve yeni damar oluşumunu kısıtlar. Bu şekilde olası anormal vaskülerizasyonun önüne geçebildiği düşünülmüştür. Ek olarak bevacizumab VEGF' in neden olduğu hücre geçirgenliğindeki artışı, vasküler endotel hücrelerindeki nitrik oksit üretimini ve monosit ve endotel hücrelerindeki VEGF' in indüklediği doku faktör üretimini inhibe eder (93, 94). Bevacizumab VEGF-A' ya yüksek özgüllük ile bağlanması sonucu anormal damar formasyonu oluşumunu inhibe etmekte ve kapiller permeabiliteyi azaltmaktadır (95). Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda VEGF inhibisyonu halinde endoplazmik retikulum aracılı apoptoz yolları üzerinden serebral iskemik-reperfüzyon hasarının azaldığı tespit edilmiştir (96). Hasarlanan bir sinir sistemi lokalizasyonunda anjiyogenezis yararlı bir durumdur. Ancak aşırı anjiyogenezis olabileceği bunda hasarlı bölgeye zarar verebileceği bazı çalışmalarda bildirilmiştir. Bu yüzden anti-VEGF tedavisi ile birlikte limitli bir anjiyogenezis sağlanarak sinir sisteminde hasarlı lokalizasyonlarda olumlu bir etkisinin olabileceği düşünülmüştür (97).

Periferik sinir hasarlarının araştırılması için yapılan bazı çalışmalarda VEGF' in anjiyogenezisi artırarak direkt veya dolaylı olarak nöroprotektif etkilerde bulunduğu gösterilmiştir. Anti-VEGF tedavinin de sinir kaynaklı tümörlerde tümörün anjiyogenezisini azaltarak tümör tedavilerinde kullanıldığı gösterilmiştir. Bu etkisini serbest radikallerin etkisini azaltarak, ödemi azaltarak, dejenerasyonu azaltarak ve tümör beslenmesini azaltıp sinirin beslenmesini artırarak yapabilecek olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda anti-VEGF ajan olan bevacizumab' ın periferik sinir hasarlarında sinir dejenerasyonuna engel olarak, ödemi azaltarak, serbest radikal oluşumunu azaltarak ve VEGF' in anjiyogenezis etkisinin daha kontrollü olmasını sağlayarak sinir hasarına herhangi bir etkisinin olup olmadığının tespiti amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Cerrahi Teknik ve Deney Grupları

Bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi ve Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Nöroendokrinoloji laboratuvarında yürütüldü.

Deneyde 220-320 gr ağırlığında 40 adet Wistar-Albino sıçan kullanıldı.

Polikarbon kafeslerde 2 hayvan bir kafeste olacak şekilde, standart barınak koşullarında, 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık ışık döngüsü altında $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, %30-55 nem oranında muhafaza edildi ve standart laboratuvar hayvan yemi ile suyunu sınırsız erişim sağlanacak şekilde beslendi.



Resim 1. Deneylerde Kullanılan Sıçanlar



Resim 2. DeneYlerde Kullanılan Sıçanların Deney Ortamlarına Alıştırılma Süreçleri

Tüm cerrahi işlemler aynı cerrah tarafından ve standart olarak aynı teknikler kullanılarak yapıldı. Deneklere işlem öncesi uygun pozisyon verildi. Tüm gruplarda sağ siyatik sinire cerrahi uygulama yapıldı.

Çalışma Grupları

DeneYlerde toplam 40 adet sıçan kullanıldı. 4 ayrı grup ve her grupta 10 sıçan (n=10) olacak şekilde gruplandırıldı. Çalışma öncesi ratlar yaklaşık 24 saat aç bırakıldı ve sadece su verildi. Ardından denekler Pikrik asit ($C_6H_2(NO_2)_3OH$) ile boyanarak numaralandırıldı. Sıçanlar öncelikle mevcut ortamlarına alıştıırılarak stres faktörleri azaltıldı, ardından tüm deneklere motor koordinasyon testleri (Rotarod), termal plantar testler ve alt ekstremitte ENMG testleri yapıldı ve veriler kayıt edildi.

1. Grup (Kontrol Grup): Sıçanlar işlemlerin yapılacağı merkeze alındı, ortam koşulları uygun düzeye getirildi. Ölçüm yapılacak cihazların kalibrasyonu kontrol edildi herhangi bir problem saptanmadı. Sıçanlar öncelikle deneYlerin yapılacağı ortamlarda bekletilerek ortama alışmaları sağlandı. Ardından ilk olarak sıçanlar motor koordinasyon testine alındı (Rotarod), testler her denek için 3 kez ve her test arasında 20 dakika olacak şekilde tekrarlandı veriler kaydedildi. Sıçanlar motor

koordinasyon testlerinin ardından 60 dakika sonra termal plantar teste alındı, her denek için aralarında 20 şer dakika olacak testler 3 kez her iki alt ekstremitede tekrarlandı veriler kayıt altına alındı. Ardından Ketamin + Xylazine anestezisi verilerek sıçanlara sağ alt ekstremite iğne EMG yapıldı veriler kaydedildi. Ardından sıçanlar prone pozisyonda masaya yatırılarak sağ femoral bölge traş edildi. Ameliyat sahası %10' luk povidine iyot solüsyonu ile temizlenerek sterilizasyon sağlandı. Daha sonra siyatik sinir eksplere edildi ve klip kompresyonu yapılmadan kas fasiası 4/0 vicryl sütün, cilt 4/0 prolen sütün ile kapatıldı.

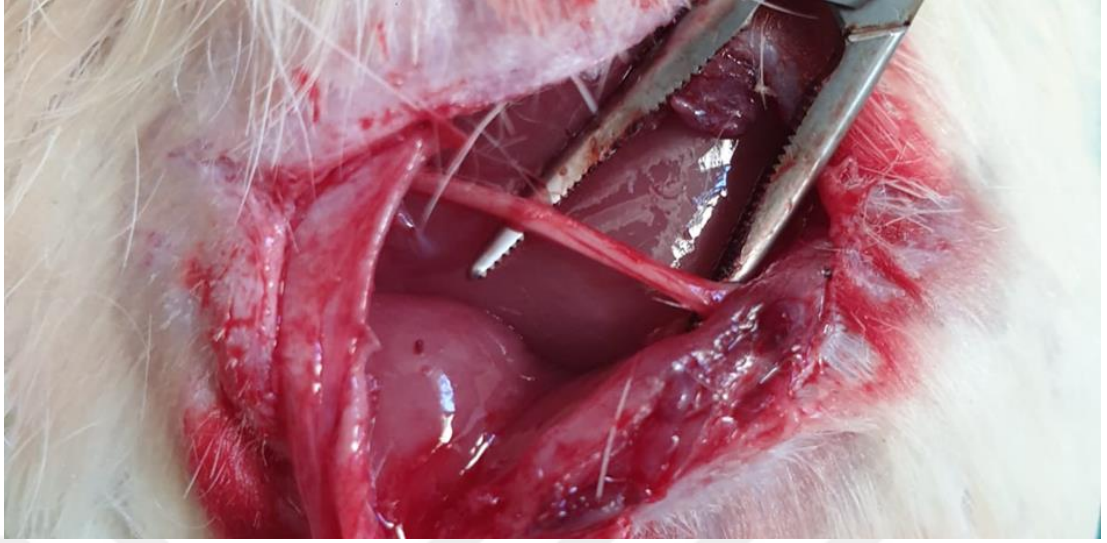
2. Grup (Travma Grubu): Sıçanlar işlemlerin yapılacağı merkeze alındı, ortam koşulları uygun düzeye getirildi. Ölçüm yapılacak cihazların kalibrasyonu kontrol edildi herhangi bir problem saptanmadı. Sıçanlar öncelikle deneylerin yapılacakları ortamlarda bekletilerek ortama alışmaları sağlandı. Ardından ilk olarak sıçanlar motor koordinasyon testine alındı (Rotarod), testler her denek için 3 kez ve her test arasında 20 dakika olacak şekilde tekrarlandı veriler kaydedildi. Sıçanlar motor koordinasyon testlerinin ardından 60 dakika sonra termal plantar teste alındı, her denek için aralarında 20 dakika olacak testler 3 kez her iki alt ekstremitede tekrarlandı veriler kayıt altına alındı. Ardından Ketamin + Xylazine anestezisi verilerek sıçanlara sağ alt ekstremite iğne EMG yapıldı veriler kaydedildi. Ardından sıçanlar prone pozisyonda masaya yatırılarak sağ femoral bölge traş edildi. Ameliyat sahası %10' luk povidine iyot solüsyonu ile temizlenerek sterilizasyon sağlandı. Daha sonra siyatik sinir eksplere edildi, her bir sıçan siyatik siniri anevrizma klipi (Yaşargil FE 721-Aesculap) kullanılarak 150 saniye sürecek olan sinir kompresyon hasarlanması gerçekleştirilmesinden sonra kas fasiası 4/0 vicryl sütün, cilt 4/0 prolen sütün ile kapatıldı.



Resim 3. Sinir Hasarlanmasında Kullanılan Kompresyon Aleti

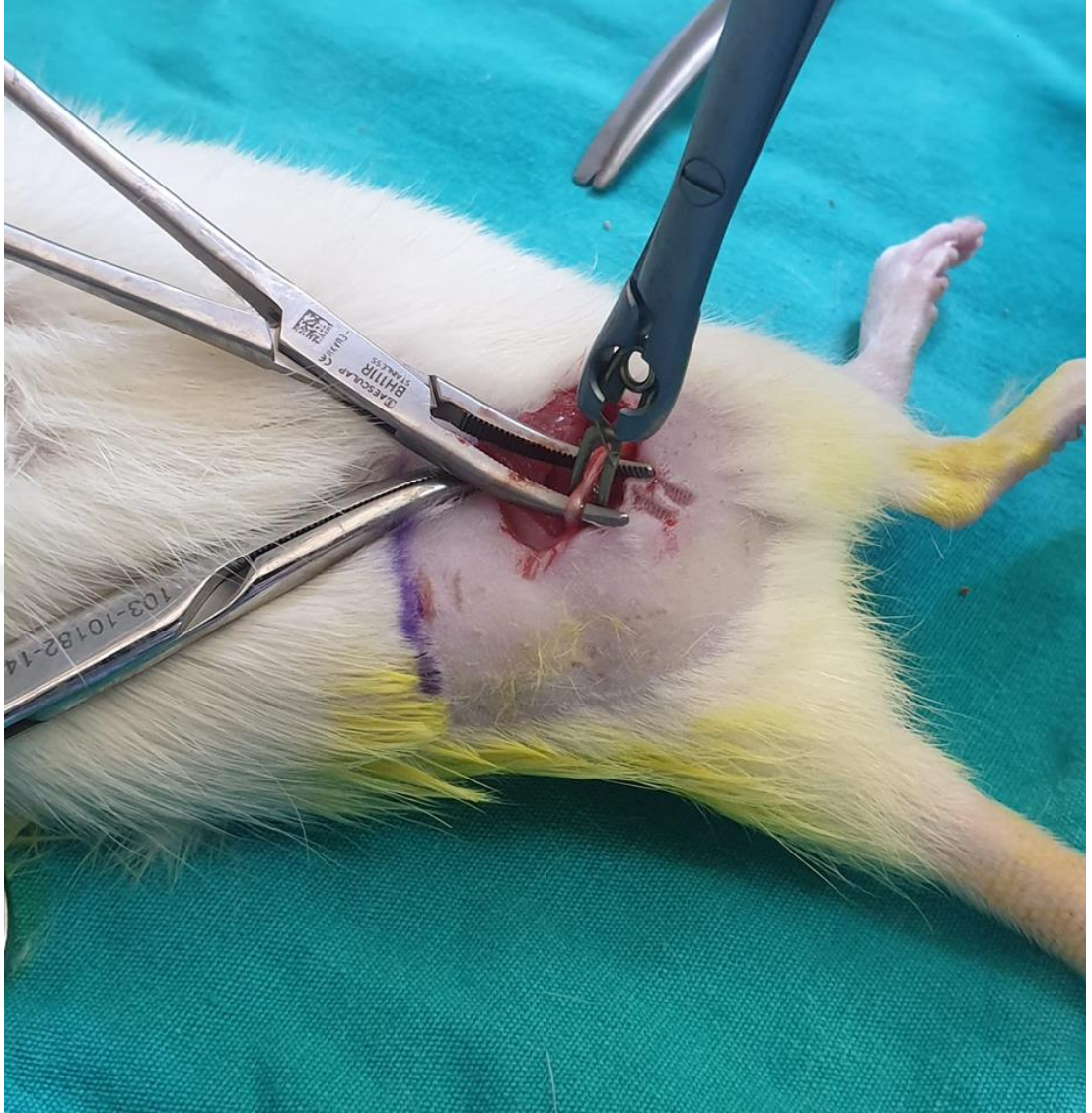
3. Grup (Orta Doz Tedavi Grubu): Sıçanlar işlemlerin yapılacağı merkeze alındı, ortam koşulları uygun düzeye getirildi. Ölçüm yapılacak cihazların kalibrasyonu kontrol edildi herhangi bir problem saptanmadı. Sıçanlar öncelikle deneylerin yapılacakları ortamlarda bekletilerek ortama alışmaları sağlandı. Ardından ilk olarak sıçanlar motor koordinasyon testine alındı (Rotarod), testler her denek için 3 kez ve her test arasında 20 dakika olacak şekilde tekrarlandı veriler kaydedildi. Sıçanlar motor koordinasyon testlerinin ardından 60 dakika sonra termal plantar teste alındı, her denek için aralarında 20 dakika olacak testler 3 kez her iki alt ekstremitede tekrarlandı veriler kayıt altına alındı. Ardından Ketamin + Xylazine anestezisi verilerek sıçanlara sağ alt ekstremitte iğne EMG yapıldı veriler kaydedildi. Ardından sıçanlar prone pozisyonda masaya yatırılarak sağ femoral bölge traş edildi. Ameliyat sahası %10' luk povidine iyot solüsyonu ile temizlenerek sterilizasyon sağlandı. Daha sonra siyatik sinir eksplere edildi, her bir sıçan siyatik siniri anevrizma klibi (Yaşargil FE 721-Aesculap) kullanılarak 150 saniye sürecek olan sinir kompresyon hasarlanması gerçekleştirilmesinden sonra kas fasiası 4/0 vicryl sütün, cilt 4/0 prolen sütün ile kapatıldı.

4. Grup (Yüksek Doz Tedavi Grubu): Sıçanlar işlemlerin yapılacağı merkeze alındı, ortam koşulları uygun düzeye getirildi. Ölçüm yapılacak cihazların kalibrasyonu kontrol edildi herhangi bir problem saptanmadı. Sıçanlar öncelikle deneylerin yapılacakları ortamlarda bekletilerek ortama alışmaları sağlandı. Ardından ilk olarak sıçanlar motor koordinasyon testine alındı (Rotarod), testler her denek için 3 kez ve her test arasında 20 dakika olacak şekilde tekrarlandı veriler kaydedildi. Sıçanlar motor koordinasyon testlerinin ardından 60 dakika sonra termal plantar teste alındı, her denek için aralarında 20 dakika olacak testler 3 kez her iki alt ekstremitede tekrarlandı veriler kayıt altına alındı. Ardından Ketamin + Xylazine anestezisi verilerek sıçanlara sağ alt ekstremitte iğne EMG yapıldı veriler kaydedildi. Ardından sıçanlar prone pozisyonda masaya yatırılarak sağ femoral bölge traş edildi. Ameliyat sahası %10' luk povidine iyot solüsyonu ile temizlenerek sterilizasyon sağlandı. Daha sonra siyatik sinir eksplere edildi, her bir sıçan siyatik siniri anevrizma klibi (Yaşargil FE 721-Aesculap) kullanılarak 150 saniye sürecek olan sinir kompresyon hasarlanması gerçekleştirilmesinden sonra kas fasiası 4/0 vicryl sütün, cilt 4/0 prolen sütün ile kapatıldı.



Resim 4. Siyatik Sinirin Cerrahi Diseksiyonu

Kompresyon ile birlikte siyatik sinir hasarlanması yapılan gruplarda sinirin bifurkasyon noktasının yaklaşık 1 cm proksimalinden ve 150 saniye olacak şekilde yapıldı ve kompresyon sonlandırıldı. Kompresyon işlemi bittikten sonra grup 1 (kontrol) ve 2 (travma) içinde olan deneklere herhangi bir medikal tedavi verilmedi. Grup 3 içinde olan deneklere intraperitoneal yoldan 5mg/kg olacak şekilde bevacizumab tedavisi işlemden hemen sonra, yedinci ve ondördüncü gün uygulandı. Grup 4 içinde olan deneklere intraperitoneal yoldan 10mg/kg olacak şekilde bevacizumab tedavisi işlemden hemen sonra, yedinci ve ondördüncü gün uygulandı. Denekler kafeslerinde 3 hafta boyunca bakıma alındı. Bu sürede herhangi bir antibiyotik kullanımı olmadı, su ve laboratuvar hayvan yeminden kısıtsız olarak takip edildi. Üçüncü haftanın sonunda denekler laboratuvara alındı. Ortamlara alışmaları sağlandı. Prosedürlere uygun şekilde motor koordinasyon testleri, termal plantar testler yapıldı ve Ketamin + Xylazine anestezisi altında sıçanlara sağ siyatik sinire yönelik EMG işlemi tekrarlandı veriler kayıt edildi. Ardından sıçanlar dekapitasyon yöntemi ile sakrifiye edildi, sağ siyatik sinir örnekleri alındı.



Resim 5. Sıçan Siyatik Sinirine Anevrizma Klibiyle Kompresyon Yapılma Anı

Anestezi ve yaşamsal bulguların takibi

Deney başlangıcında ağırlık ölçümünü takiben, motor testler ve termal plantar testler yapıldı daha sonra genel anestezi indüksiyonu intraperitoneal (İP) Ketamin (50mg/kg) + Xylazine (10 mg/kg) ile gerçekleştirildi, anestezi derinliği parmak kısırtma yöntemi ile kontrol edildi. Sıçanlar anestezi altında iğne EMG işlemine alınmış veriler kaydedildikten sonra cerrahi işlem uygulandı. Tüm işlemler süresince genel anestezi sağlandı. İşlemler süresince sıçanlar kendiliğinden solunum devam eder vaziyette takip edildi ve bu süre içinde vücut sıcaklığı yaklaşık olarak 37.0°C'de tutuldu.

İntraperitoneal Bevacizumab hazırlanması ve uygulanması

Her bir flakonda 16 ml 'lik çözelti şeklinde 400 mg, her 1 ml 'sinde 25 mg bevacizumab bevacizumab içeren flakon alındı. Flakon içerisinden 1 ml alındı, % 0,09' luk sodyum klorür ile 10 ml ye seyreltilerek hayvanların ağırlıklarına göre grup 3' e 5 mg/kg olacak şekilde travmadan hemen sonra, yedinci ve on dördüncü günde, grup 4' e 10 mg/kg olacak şekilde travmadan hemen sonra, yedinci ve on dördüncü günde intraperitoneal olarak uygulandı.

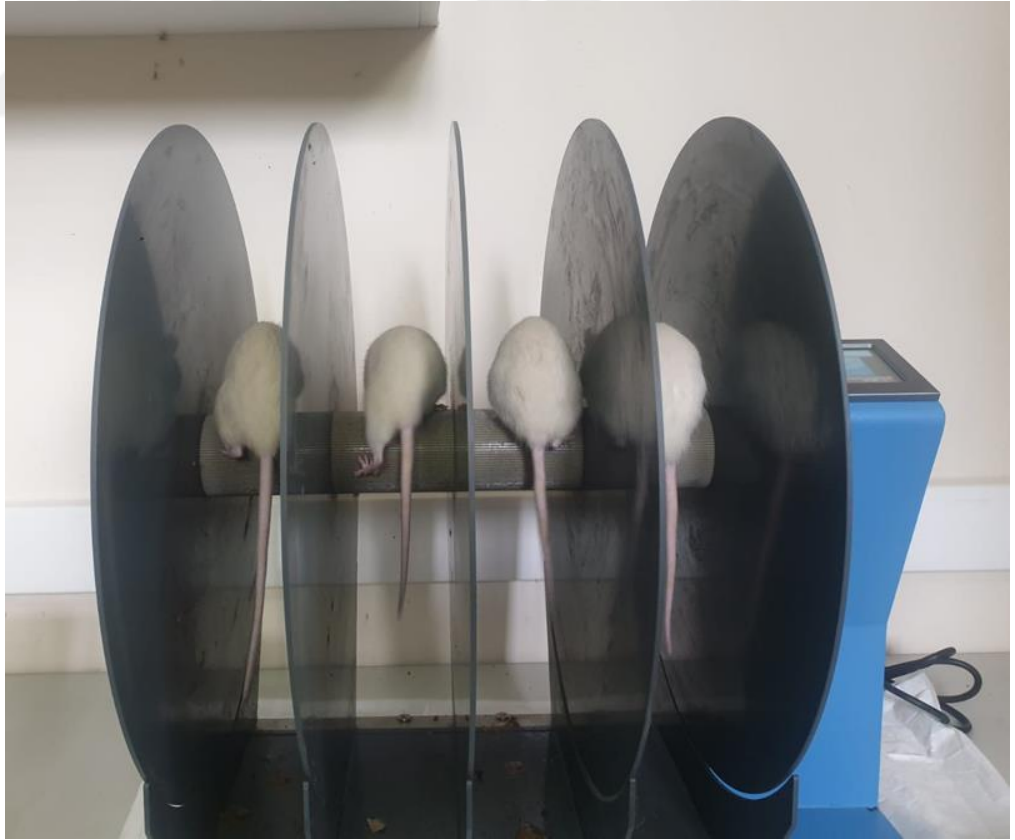


Resim 6. Sıçan Sağ Siyatik Sinirine Anevrizma Klibiyle Kompres Edilmiş Hali

3.2. Motor İyileşmenin Değerlendirilmesi

3.2.1. Motor Koordinasyon testleri (Rotarod performans testi)

Deneklerin motor koordinasyonu Rotarod testi ile değerlendirilmeye alındı. Rotarod performans testinde sıçanlar ortama alıştırdıktan sonra giderek hızlanan (4' ten 40 rpm' e 245 saniyede) bir mil üzerine bırakılan sıçanların bu mil üzerindeki durma süreleri takip edildi. Sıçanların değerlendirme bu cihaza alıştırmaları sağlanması amacı ile öncelikle düzenek ortamına alındı ve streslerinin azalması takip edildi. Her sıçan en az 20 dakika dinlenme süresi verilerek toplam 3 kere bu teste tabi tutuldu ve üç tekrarın ortalamaları hesaplandı. Daha sonra cerrahi işlem sonrası 3. haftada sıçanlara aynı protokol ile tüm testler tekrarlandı ve işlem öncesi sonuçlar ile karşılaştırıldı. Grup 3 (orta doz tedavi grubu) içinden bir sıçan üçüncü hafta tamamlanamadan öldüğü için 3. hafta değerlendirilmesi yapılamadı.



Resim 7. Rotarod Testi

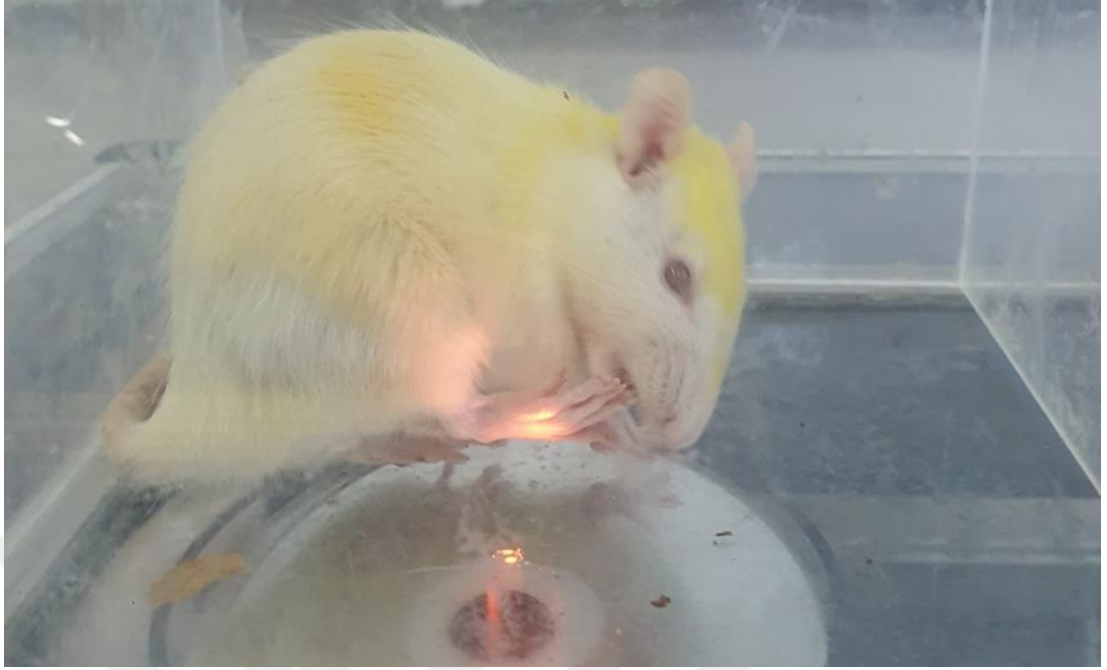
3.2.2. Termal Plantar Test

Kemirgen canlılarda termal ağrı hissini değerlendirmek için özel olarak tasarlanmış bir tekniktir. Termal plantar test sıçanlarda sinir hasarlanması sonrası ağrıya duyarlılık veya termal ağrı yanıtının geri kazanılmasını içeren deneylerde kullanılmıştır. Çalışmada sıçanlar öncelikle düzenek içerisine aldı ve stresleri azalana kadar ortama alıştırdı. Ardından her sıçanın sağ ve sol ayak plantar yüzeylerine ısı verildi ve deneklerin termal ağrı hissettikleri an hassas şekilde düzenek ile ölçüldü. İşlemler her bir sıçan için aralarında 20 dakika olacak şekilde 3 kez tekrarlandı ve sürelerin ortalamaları alındı.

Termal plantar testler siyatik sinir hasarlanması öncesinde yapılarak veriler kaydedildi, siyatik siniri hasarı verildikten sonra üçüncü haftada sakrifikasyon işlemi öncesi aynı protokol ile testler tekrarlandı veriler kaydedildi ve işlem öncesi veriler ile karşılaştırıldı. Grup 3 (orta doz tedavi grubu) içinden bir sıçan üçüncü hafta tamamlanamadan öldüğü için 3. hafta değerlendirilmesi yapılamadı.



Resim 8. Termal Plantar Testin Yapılma Anı



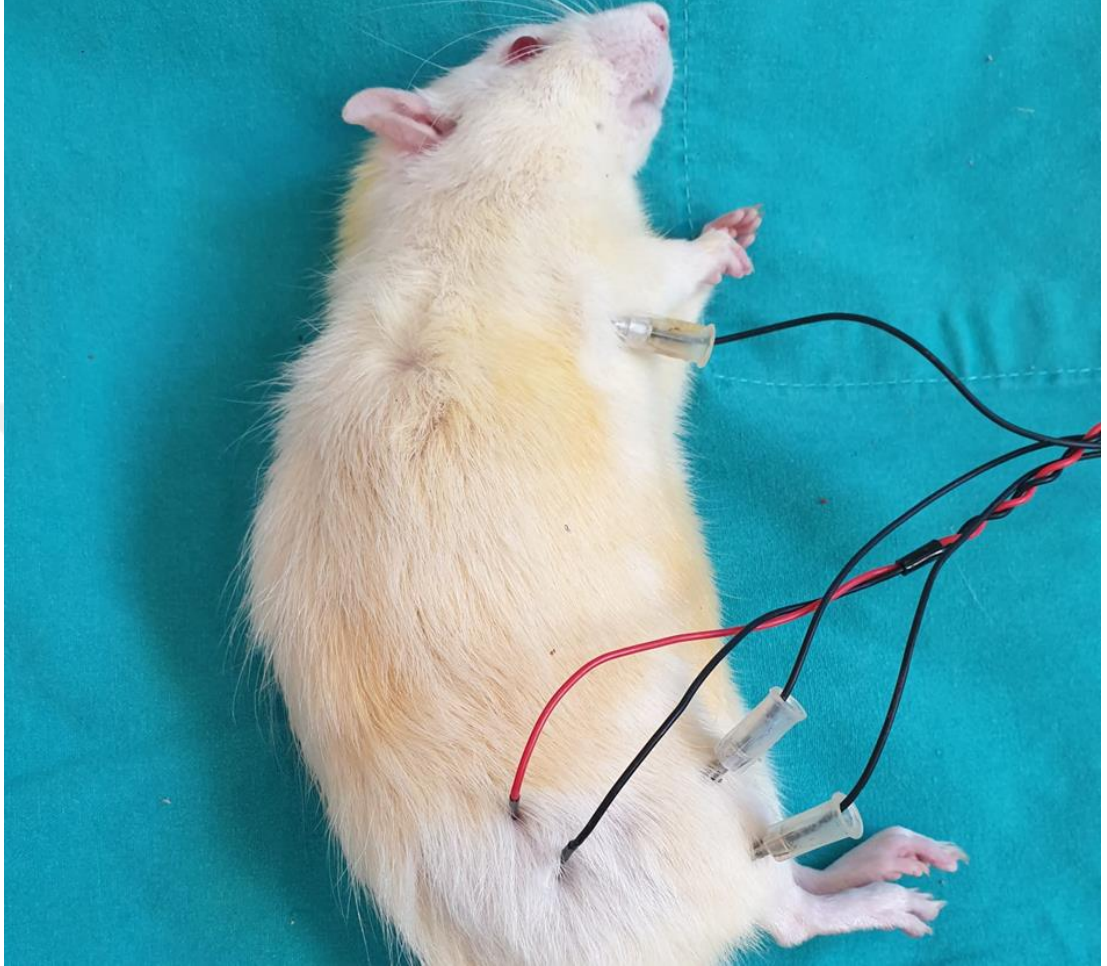
Resim 9. Termal Plantar Testin Yanıt Alınma Anı

3.2.3. ENMG'nin Yapılması

ENMG ölçümleri Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fiziyojji Anabilim Dalı içerisindeki laboratuvar ve ölçüm cihazları kullanılarak gerçekleştirildi.

Cerrahi işlem öncesi ve cerrahi işlem ile travma oluşturulduktan üç hafta sonra olmak üzere her sıçana sağ siyatik elektronöromiyografi (ENMG) yapıldı. ENMG işlemi öncesi her hayvana intraperitoneal (İP) Ketamin (50mg/kg) + Xylazine (10 mg/kg) ile genel anestezi yapıldı. Kayıtlar 3*3 mm'lik elektrodlar kullanılarak yapıldı. Aktif elektrod klip kompresyon hattının yaklaşık 1.5 cm distaline uygun şekilde, referans elektrod ayak bilğine daha yakın olmak üzere kasın distal noktasına yapıştırıldı. Siyatik sinir trasesi hizasına uyan cilt üzerinden bipolar elektrot ile supramaksimal uyarı verilerek ilgili kasları kökenli birleşik motor aksiyon potansiyelleri (MAPs) elde edildi ve bu aksiyon potansiyelinin eşik değeri ve amplitüd değeri hesaplanarak yapıldı. Her sıçan için emg verileri analiz edilerek oluşturulabilen değerler hem travma öncesi hem de travma sonrası hesaplandı. Ardından bu veriler kıyaslandı. Grup 3 (orta doz tedavi grubu) içindeki bir sıçan,

üçüncü hafta tamamlanmadan öldüğü için bu deney hayvanına elektrofizyolojik inceleme yapılamadı.



Resim 10. ENMG Çekilme İşlemi

3.3. Histopatolojik Değerlendirme

Sıçanlar histopatolojik örneklerinin alınması amacıyla dekapitasyon yöntemiyle kurban edildi. Siyatik sinir explore edildikten sonra hasar uygulanan kısım ortada kalacak şekilde proksimal ve distalinden 1 cm mesafeyle yaklaşık 2 cm olacak şekilde çıkarıldı. Ardından 72 saat 10% form-aldehide fikse edilip parafine gömüldü. 5 mm'lik enine kesitler alınıp HE ve toluidin mavisiyle boyandı, ışık mikroskobu ile incelendi. Toluidin mavisiyle boyanmasıyla aksonal dejenerasyonu daha iyi gösterebilmek hedeflendi.

Histolojik inceleme aynı patolog tarafından sinirlerin hangi gruba ait oldukları bilinmeden ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirmede ödem, inflamasyon, aksonal hasar ve dejenerasyon dikkate alındı.



4. BULGULAR

Bu çalışmaya toplamda 40 adet sıçan ile başlandı. Sıçanlar her grupta 5 adet dişi 5 adet erkek olmak üzere toplamda 10 adet olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Sıçanların hepsinin aynı yaşam koşulları içinde bakımı sağlandı. Sıçanların gūnaşırı yara yeri pansumanları yapıldı ve çalışmanın tamamlandığı süreye kadar yara yerlerinde herhangi bir enfeksiyon görülmedi. Postoperatif bakım süresinde orta doz tedavi grubu olarak adlandırılan grupta bir adet denek öldü ve çalışma 39 adet denek ile tamamlandı.

Çalışmadaki Verilerin analiz aşamasında SPSS 25,0 istatistik paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama ve standart sapma, kategorik değişkenler için sayı ve yüzde olarak verildi. Analiz aşamasında veriler parametrik test varsayımlarını sağlamadığı için parametrik olmayan testler kullanıldı. Grupların deney öncesi ve sonrasındaki değişkenler açısından karşılaştırmaları Wilcoxon işaretli sıralar testi ile incelendi. Değişkenlerin gruplar arasındaki karşılaştırmalarında ise Kruskal Wallis testi kullanıldı. Kategorik veriler arasındaki bağımlılık durumunun incelenmesinde Fisher Kesin testi kullanıldı. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak belirlendi.

Rotarod Testi

Sıçanların motor koordinasyonunu belirlemede rotarod testi kullanıldı. Rotarod testi giderek hızlanan (4'ten 40 rpm'e 245 saniyede) bir mil üzerine bırakılan sıçanların bu mil üzerindeki yürüme süreleri hesaplanarak yapıldı. Sıçanlar test öncesi rotarod testi yapılan cihaza alışmaları amacıyla düzenek ortamına alındı ve stresleri azalana kadar ortamda bekletildi. Daha sonra her sıçan en az 20 dakika dinlenme süresi verilerek toplam 3 kere bu teste alındı. Rotarod testi her sıçan için travma öncesinde ve sonrasında tekrar edilerek veriler kayıt altına alındı.

Tablo 3. Rotarod Testinde Travma Öncesi ve Sonrası İçin Ortalama, Standart Sapma Değerleri ve İstatistiksel Analizi

GRUP	KONTROL	TRAVMA	ORTA DOZ TEDAVİ	YÜKSEK DOZ TEDAVİ	Gruplar arası p
	Ortalama± SS	Ortalama± SS	Ortalama± SS	Ortalama± SS	
Travma öncesi rotarod test	190.53 ± 34.62	203.2 ± 25.07	205.67 ± 34.27	194.37 ± 40.65	0.649
Travma sonrası rotarod test	199.17 ± 40.52	150.87 ± 28.34	195.37 ± 14.03	200.13 ± 18.98	0.001*
P	0.139	0.005*	0.314	0.575	

* p< 0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Wilcoxon işaretli sıralar testi kullanıldı. (SS: Standart sapma)

Bu tabloda travma öncesi ve travma sonrası yapılan rotarod testleri değerlendirildi.

Travma öncesi yapılan rotarod testinde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p: 0.649)

Travma sonrası üçüncü haftada yapılan rotarod testinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p: 0.001)

Travma grubunda, travma sonrası üçüncü haftada yapılan rotarod testinde travma öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p: 0.005)

Kontrol grubunda, üç hafta öncesinde yapılan rotarod testinde başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p:0.139)

Orta doz tedavi grubunda, travma sonrası üçüncü haftada yapılan rotarod testinde travma öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p:0.314)

Yüksek doz tedavi grubunda, travma sonrası üçüncü haftada yapılan rotarod testinde travma öncesine göre istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. (p:0.575)

Tablo 4. Rotarod Testi İçin Travma Sonrası Grupların Karşılaştırılması

	Ortalama – SS	P
Kontrol – Travma	199.17 ± 40.52 - 150.87 ± 28.34	0.012*
Kontrol – Orta Doz Tedavi	199.17 ± 40.52 - 195.37 ± 14.03	1
Kontrol – Yüksek Doz	199.17 ± 40.52 - 200.13 ± 18.98	1
Travma – Orta Doz	150.87 ± 28.34 - 195.37 ± 14.03	0.011*
Travma – Yüksek Doz	150.87 ± 28.34 - 200.13 ± 18.98	0.002*
Orta Doz – Yüksek Doz	195.37 ± 14.03 - 200.13 ± 18.98	1

* p< 0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Kruskal-Wallis testi kullanıldı. (SS: Standart sapma)

Travma sonrası üçüncü haftada yapılan rotarod testinde kontrol grubu ile travma grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0.012)

Travma sonrası üçüncü haftada yapılan rotarod testinde kontrol grubu ile orta doz tedavi verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 1)

Travma sonrası üçüncü haftada yapılan rotarod testinde kontrol grubu ile yüksek doz tedavi verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 1)

Travma sonrası üçüncü haftada yapılan rotarod testinde travma grubu ile orta doz tedavi verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0.011)

Travma sonrası üçüncü haftada yapılan rotarod testinde travma grubu ile yüksek doz tedavi verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0.002)

Travma sonrası üçüncü haftada yapılan rotarod testinde orta doz tedavi verilen grup ile yüksek doz tedavi verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 1)

Yapılan testler ve istatistiksel analizler sonucunda rotarod testinde travma uygulamadan önce bütün grupların başarısı oranının benzer olduğu, travma uygulandıktan sonra ise travma uygulanıp herhangi bir tedavi verilmeyen grubun diğer gruplara göre anlamlı bir şekilde daha başarısız olduğu tespit edildi. Orta dozda ve yüksek dozda tedavi verilen grubun ise kontrol grubuna göre başarı oranının benzer olduğu tespit edildi.

Termal plantar

Sıçanların duyu testini yapmak üzere her iki ayak plantar yüzeylerine ısı verilerek sıçanların ağrı hissettiği ana kadar geçen süre hesaplanarak yapıldı. Sol

siyatik sinire herhangi bir hasar verilmediği için sıçanların her iki ayağı birbiriyle kıyaslandı. Bu işlem yapılırken her sıçan 20 dakika dinlenme süresi verilerek test 3 kez tekrarlandı ve veriler kayıt edildi.

Bu işlem travma öncesi ve travmadan 3 hafta sonra her gruba aynı protokol altında uygulandı ve veriler kayıt edildi. İşlem öncesi sıçanlar buldukları ortama alıştırdı ve streslerinin azalması sağlandı.

Tablo 5. Termal Plantar Testinde Travma Öncesi ve Sonrası İçin Grupların Ortalama, Standart Sapma Değerleri ve İstatistiksel Analizi

GRUP	KONTROL	TRAVMA	ORTA DOZ	YÜKSEK DOZ	Gruplar arası p
	Ortalama± SS	Ortalama± SS	Ortalama± SS	Ortalama± SS	
Travma öncesi sağ	4.53 ± 0.32	4.6 ± 0.6	4.28 ± 0.34	4.5 ± 0.36	0.444
Travma sonrası sağ	4.45 ± 0.18	5.59 ± 0.82	4.59 ± 0.27	4.56 ± 0.27	<0.001*
P	0.241	0.005*	0.015*	0.508	
Travma öncesi sol	4.4 ± 0.58	4.62 ± 0.58	4.68 ± 0.54	4.42 ± 0.23	0.600
Travma sonrası sol	4.51 ± 0.38	4.64 ± 0.59	4.6 ± 0.36	4.26 ± 0.25	0.237
P	0.286	0.878	0.674	0.066	

* p< 0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Wilcoxon işaretli sıralar testi kullanıldı. (SS: Standart sapma)

Bu tabloda travma öncesi ve travma sonrası sağ ve sol arka ayaklara yapılan termal plantar testler değerlendirildi.

Travma öncesi yapılan sol ayak termal plantar testte gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark saptanmadı. (p : 0.600)

Travma sonrası yapılan sol ayak termal plantar testte gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark saptanmadı. (p : 0.237)

Kontrol grubunda yapılan sol ayak termal plantar test ile üçüncü haftada yapılan sol ayak termal plantar test arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 0.286)

Travma grubunda travma öncesi yapılan sol ayak termal plantar test ile travma sonrası yapılan sol ayak termal plantar test arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 0.878)

Orta doz tedavi grubunda travma öncesi yapılan sol ayak termal plantar test ile travma sonrası yapılan sol ayak termal plantar test arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 0.674)

Yüksek doz tedavi grubunda travma öncesi yapılan sol ayak termal plantar test ile travma sonrası yapılan sol ayak termal plantar test arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 0.066)

Travma öncesi yapılan sağ ayak termal plantar testte gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark saptanmadı. (p : 0.444)

Travma sonrası yapılan sağ ayak termal plantar testte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0.001)

Kontrol grubunda yapılan sağ ayak termal plantar test ile üçüncü haftada yapılan sağ ayak termal plantar test arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 0.241)

Travma grubunda travma öncesi yapılan sağ ayak termal plantar test ile travma sonrası yapılan sağ ayak termal plantar test arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0.005)

Orta doz tedavi grubunda travma öncesi yapılan sağ ayak termal plantar test ile travma sonrası yapılan sağ ayak termal plantar test arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0.015)

Yüksek doz tedavi grubunda travma öncesi yapılan sağ ayak termal plantar test ile travma sonrası yapılan sağ ayak termal plantar test arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 0.508)

Tablo 6. Termal Plantar Testinde Travma Sonrası Anlamlı Çıkan Sağ Ayak Testlerinin Gruplar Arası İstatistiksel Analizi

	Ortalama - SS	P
Kontrol – Travma	4.45 ± 0.18 - 5.59 ± 0.82	<0.001*
Kontrol – Orta Doz	4.45 ± 0.18 - 4.59 ± 0.27	1
Kontrol – Yüksek Doz	4.45 ± 0.18 - 4.56 ± 0.27	1
Travma – Orta Doz	5.59 ± 0.82 - 4.59 ± 0.27	0.019*
Travma – Yüksek Doz	5.59 ± 0.82 - 4.56 ± 0.27	0.009*
Orta Doz – Yüksek Doz	4.59 ± 0.27 - 4.56 ± 0.27	1

* p< 0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Kruskal-Wallis testi kullanıldı.(SS: Standart sapma)

Travma sonrası üçüncü haftada yapılan sağ ayak termal plantar testinde kontrol grubu ile travma grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0.001)

Travma sonrası üçüncü haftada yapılan sağ ayak termal plantar testinde travma grubu ile orta doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0.019)

Travma sonrası üçüncü haftada yapılan sağ ayak termal plantar testinde travma grubu ile yüksek doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0.09)

Travma sonrası üçüncü haftada yapılan sağ ayak termal plantar testinde kontrol grubu ile yüksek doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 1)

Travma sonrası üçüncü haftada yapılan sağ ayak termal plantar testinde kontrol grubu ile orta doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 1)

Travma sonrası üçüncü haftada yapılan sağ ayak termal plantar testinde orta doz tedavi grubu ile yüksek doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 1)

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarında grupların sol ayaklarına yapılan termal plantar testin işlem sonrasında işlem öncesine göre anlamlı fark olmadığı tespit edildi. Hasar almayan sol taraf siyatik sinirlerinin termal plantar testlere verilen yanıtın süresinde anlamlı bir artış olmadığını tespit edildi. Sağ tarafa yapılan termal plantar testte ise hasar sonrası orta doz tedavi grubu, yüksek doz tedavi grubu ve travma grubunun termal uyarana verdikleri yanıtın süresi uzadığı tespit edildi. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde ise termal uyarana verilen bu yanıtın kontrol grubunun orta doz tedavi grubu ve yüksek doz tedavi grubuyla arasında anlamlı fark saptanmadı. Travma uygulanan grubun ise termal uyarana olan yanıtı kontrol grubu, orta doz tedavi grubu ve yüksek doz tedavi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir uzama tespit edildi.

ENMG

Sıçanlara siyatik sinir hasarı vermeden önce ve siyatik sinir hasarı verdikten 3 hafta sonra sağ siyatik elektronöromiyografi (ENMG) yapıldı. İşlem öncesi her

sıçana intraperitoneal (İP) Ketamin (50mg/kg) + Xylazine (10 mg/kg) ile genel anestezi yapıldı. Siyatik sinir trasesi hizasına cilt üzerinden bipolar elektrot ile supramaksimal uyarı verilerek ilgili kasların birleşik motor aksiyon potansiyelleri (MAPs) elde edilerek ve bu aksiyon potansiyelinin eşik değeri ve amplitüd değeri hesaplanarak yapıldı. Veriler istatistiksel olarak kıyaslandı.

Tablo 7. ENMG Eşik değeri ve Amplitüd Değeri İstatistiksel Analizi

GRUP	KONTROL	TRAVMA	ORTA DOZ	YÜKSEK DOZ	Gruplar arası p
	Ortalama± SS	Ortalama± SS	Ortalama± SS	Ortalama± SS	
T. Ö. Eşik Değeri	0.61 ± 0.06	0.60 ± 0.07	0.64 ± 0.07	0.64 ± 0.05	0.379
T. S. Eşik Değeri	0.65 ± 0.05	0.81 ± 0.07	0.68 ± 0.07	0.70 ± 0.07	<0.001*
P	0.102	0.005*	0.083	0.014*	
T. Ö. Amplitüd Değeri	18.96 ± 1.08	19.69 ± 0.78	19.62 ± 0.55	19.26 ± 0.75	0.125
T. S. Amplitüd Değeri	19.08 ± 0.98	10.57 ± 2.93	13.26 ± 3.30	14.15 ± 3.07	<0.001*
P	0.575	0.005*	0.008*	0.005*	

* p<0.05 anlamlı kabul edildi. Grup içi karşılaştırmalar için Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis testi kullanıldı.

Travma öncesi yapılan ENMG’ de hesaplanan eşik değerlerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 0,379)

Travma 3 hafta sonra yapılan ENMG’ de hesaplanan eşik değerlerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0.001)

Kontrol grubuna travma öncesi ve travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG’ de hesaplanan eşik değerlerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 0,102)

Travma grubuna travma öncesi ve travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG’ de hesaplanan eşik değerlerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0,005)

Orta doz tedavi grubuna travma öncesi ve travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG’ de hesaplanan eşik değerlerde arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 0,083)

Yüksek doz tedavi grubuna travma öncesi ve travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG’ de hesaplanan eşik değerlerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0,014)

Travma öncesi yapılan ENMG' de hesaplanan amplitüd değerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 0,125)

Travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de hesaplanan amplitüd değerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0,001)

Kontrol grubuna travma öncesi ve travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de hesaplanan amplitüd değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 0,575)

Travma grubuna travma öncesi ve travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de hesaplanan amplitüd değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0,005)

Orta doz tedavi grubuna travma öncesi ve travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de hesaplanan amplitüd değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0,008)

Yüksek doz tedavi grubuna travma öncesi ve travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de hesaplanan amplitüd değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0,005)

Tablo 8. Travma Sonrası Gruplar Arası Eşik Değer Analizi

	Ortalama – SS	p
Kontrol – Travma	0.65 ± 0.05 - 0.81 ± 0.07	<0.001*
Kontrol – Orta Doz	0.65 ± 0.05 - 13.26 ± 3.30	1
Kontrol – Yüksek Doz	0.65 ± 0.05 - 0.70 ± 0.07	0.926
Travma – Orta Doz	0.81 ± 0.07 - 13.26 ± 3.30	0.011*
Travma – Yüksek Doz	0.81 ± 0.07 - 0.70 ± 0.07	0.062
Orta Doz – Yüksek Doz	13.26 ± 3.30 - 0.70 ± 0.07	1

* p< 0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Kruskal-Wallis testi kullanıldı.
SS: Standart sapma

Travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de eşik değer analizi açısından kontrol grubu ve travma grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0,001)

Travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de eşik değer analizi açısından kontrol grubu ve orta doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 1)

Travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de eşik değer analizi açısından kontrol grubu ve yüksek doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 0,926)

Travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de eşik değer analizi açısından travma grubu ve orta doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0,011)

Travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de eşik değer analizi açısından travma grubu ve yüksek doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 0,062)

Travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de eşik değer analizi açısından orta doz tedavi grubu ve yüksek doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 1)

Tablo 9. Travma Sonrası Gruplar Arası Amplitüd Analizi

	Ortalama – SS	P
Kontrol – Travma	19.08 ± 0.98 - 10.57 ± 2.93	<0.001*
Kontrol – Orta Doz	19.08 ± 0.98 - 0.68 ± 0.07	0.005*
Kontrol – Yüksek Doz	19.08 ± 0.98 - 14.15 ± 3.07	0.023*
Travma – Orta Doz	10.57 ± 2.93 - 0.68 ± 0.07	1
Travma – Yüksek Doz	10.57 ± 2.93 - 14.15 ± 3.07	0.374
Orta Doz – Yüksek Doz	0.68 ± 0.07 - 14.15 ± 3.07	1

* p< 0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Kruskal-Wallis testi kullanıldı.
SS: Standart sapma

Travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de amplitüd değerleri açısından kontrol grubu ve travma grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0,001)

Travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de amplitüd değerleri açısından kontrol grubu ve orta doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0.005)

Travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de amplitüd değerleri açısından kontrol grubu ve yüksek doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p : 0.023)

Travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de amplitüd değerleri açısından travma grubu ve orta doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 1)

Travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de amplitüd değerleri açısından travma grubu ve yüksek doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 0,374)

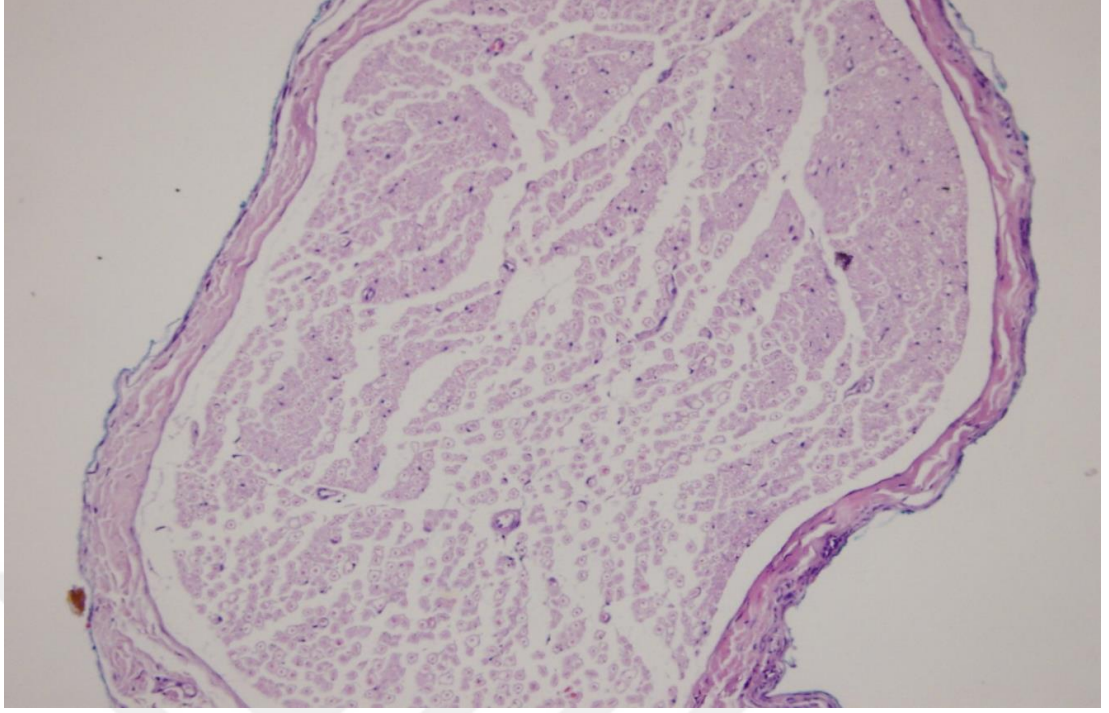
Travmadan 3 hafta sonra yapılan ENMG' de amplitüd değerleri açısından orta doz tedavi grubu ve yüksek doz tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p : 1)

Histopatolojik Bulgular

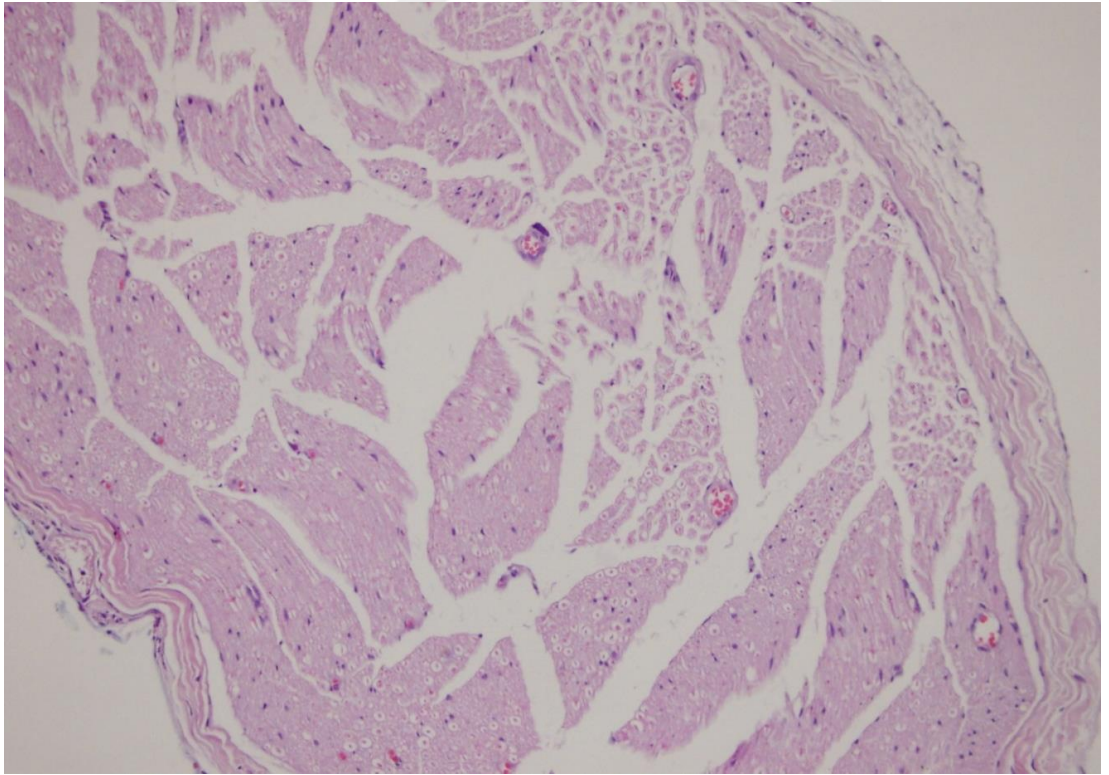
Bütün sıçanların HE ve toludin mavisiyle boyanan kesitleri değerlendirildi. HE ile yapılan enine kestilerde kontrol grubunun sinirlerinde herhangi bir patolojik bulgu saptanmadı.

Travma grubuna yapılan histopatolojik değerlendirmede ise inflamasyon, ödem ve dejenerasyonun belirgin arttığı gözlemlendi.

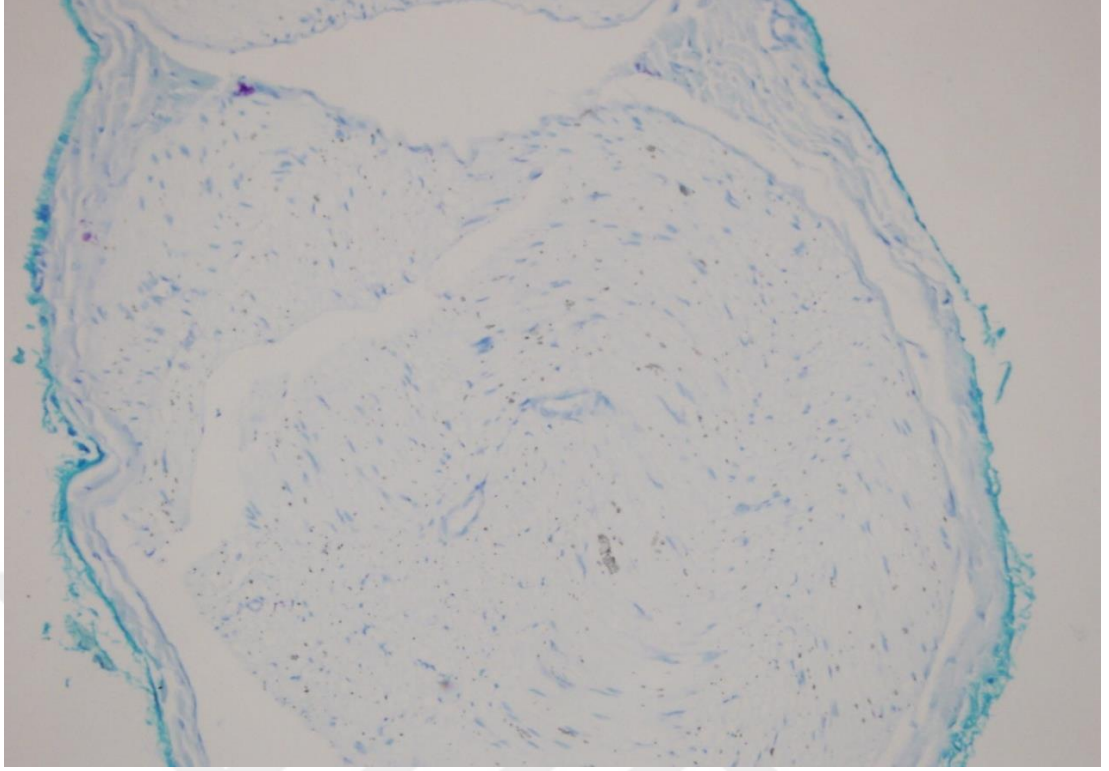
Orta doz ve yüksek doz tedavi gruplarında ödem ve dejenerasyonun olduğu ancak travma grubuna göre daha az miktarda olduğu gözlemlendi. İNFLAMASYON açısından ise travma uygulanan grupların birbiriyle benzer olabildiği gözlemlendi.



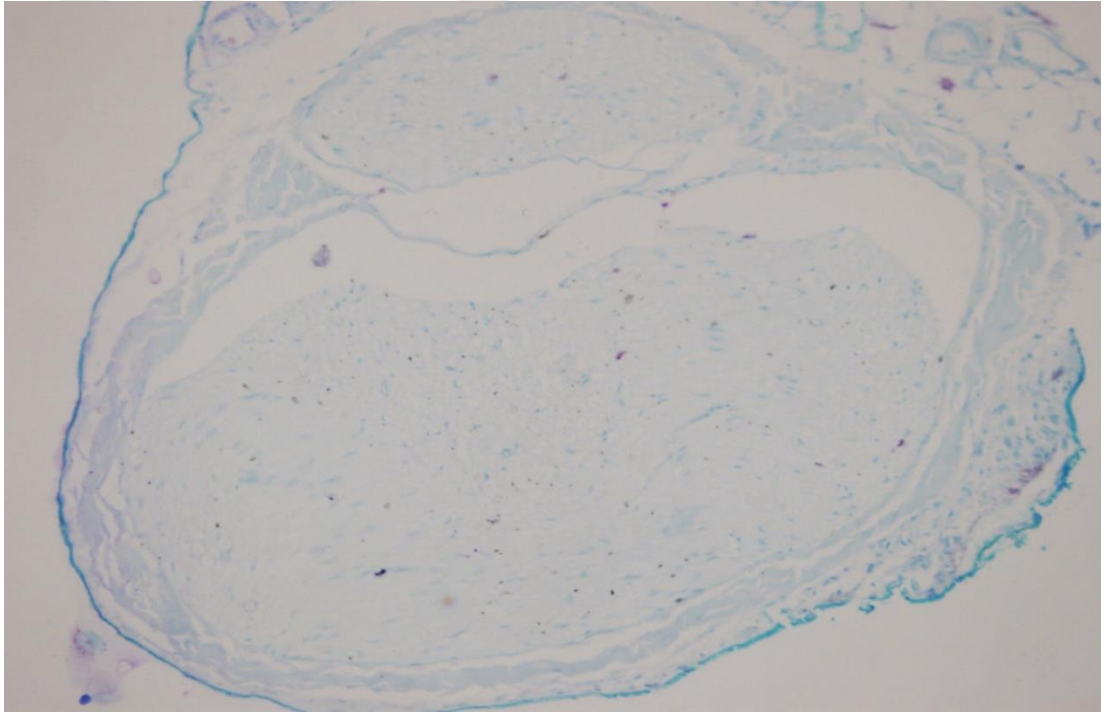
Resim 11. Sham Grubunda Siyatik Sinir Proksimalinden Alnan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE x 200)



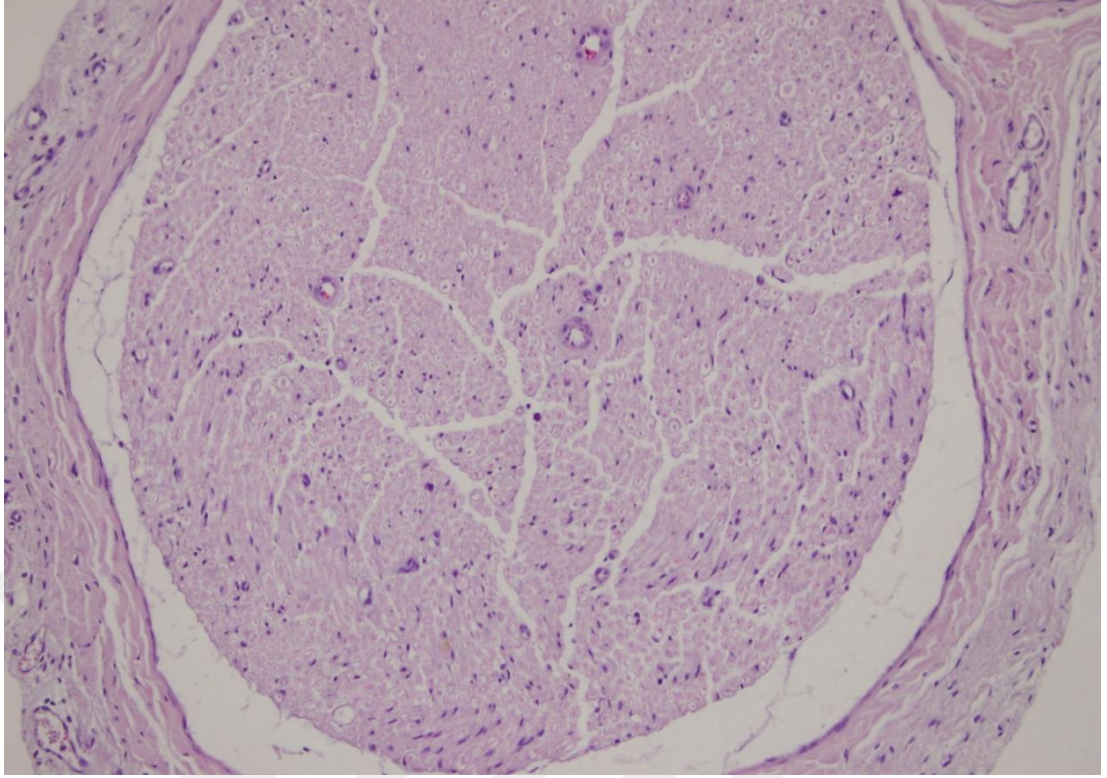
Resim 12. Sham Grubunda Siyatik Sinir Distalinden Alnan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE x 200)



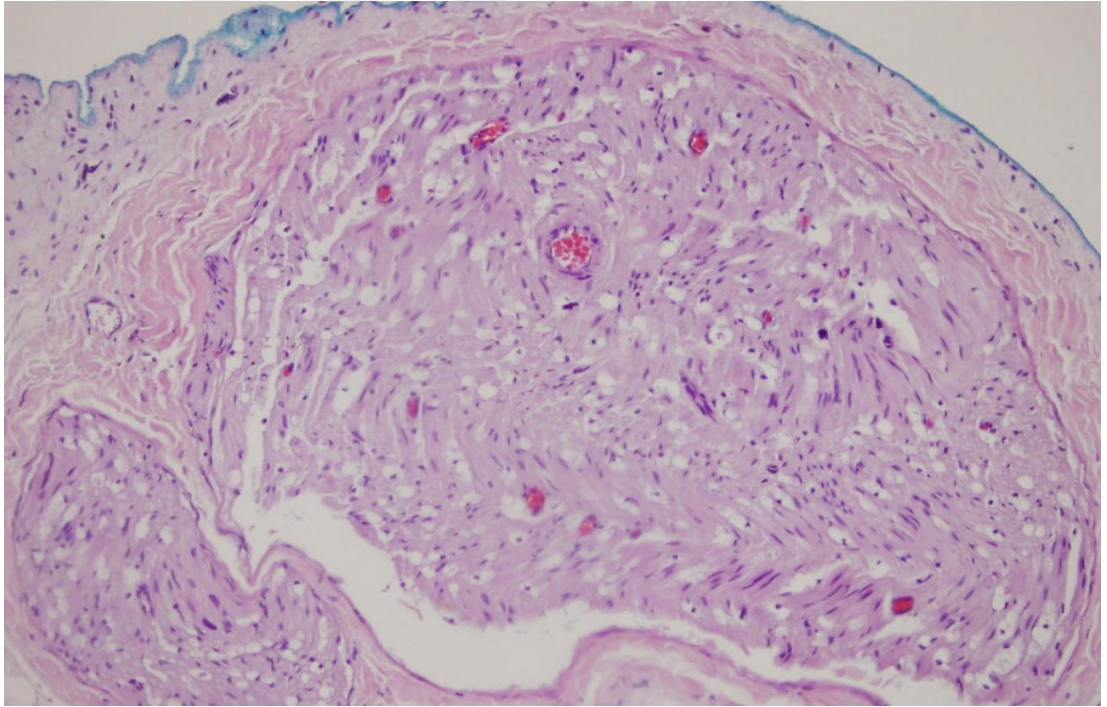
Resim 13. Sham Grubunda Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (Toluidin Mavisi x 200)



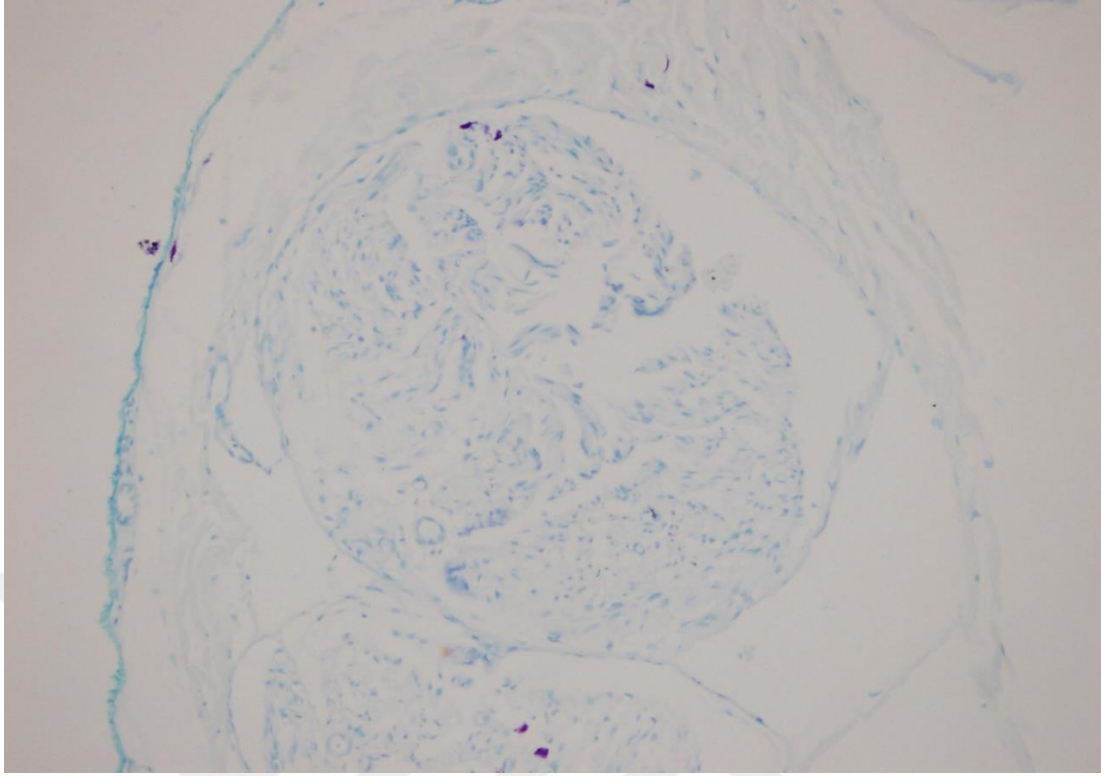
Resim 14. Sham grubunda siyatik sinir distalinden alınan patolojik bulgu içermeyen periferik sinir dokusunun enine kesidi (Toluidin Mavisi x 200)



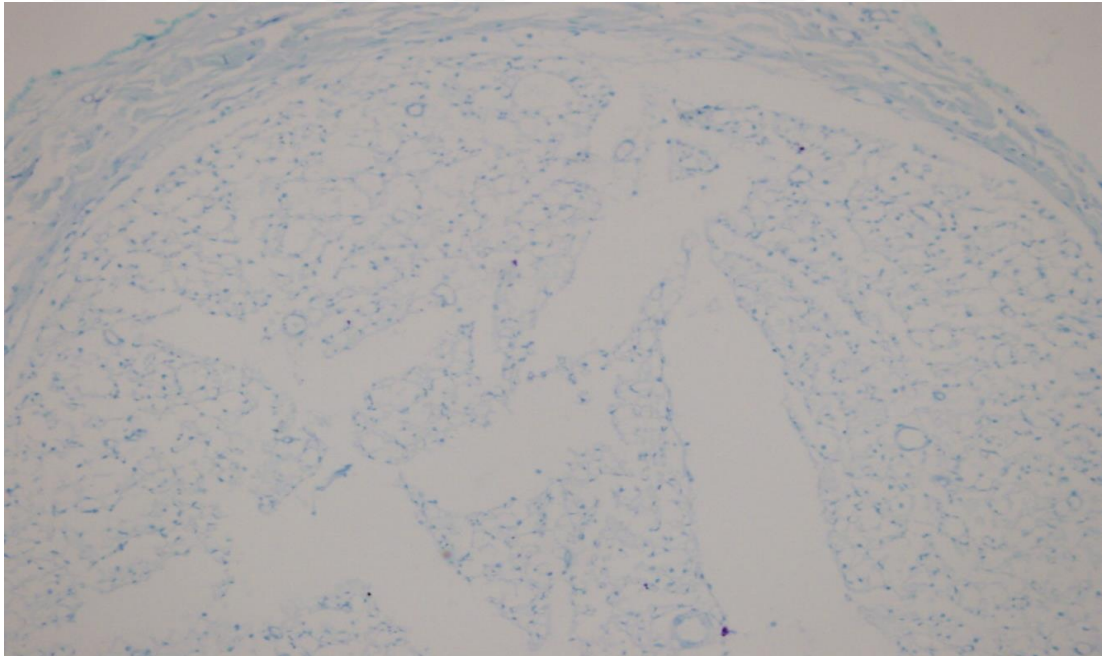
Resim 15. Travma Grubunda Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE x 200)



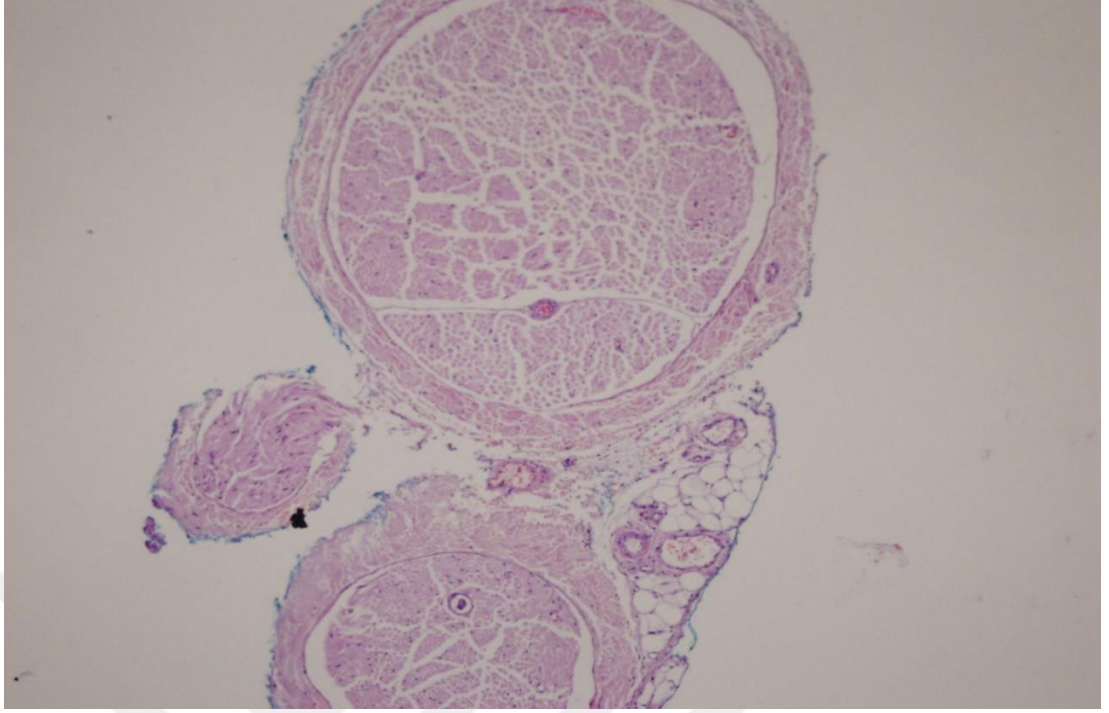
Resim 16. Travma Grubunda Siyatik Sinirin Distalinden Alınan Ödem, Dejenerasyon İçeren Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE x 200)



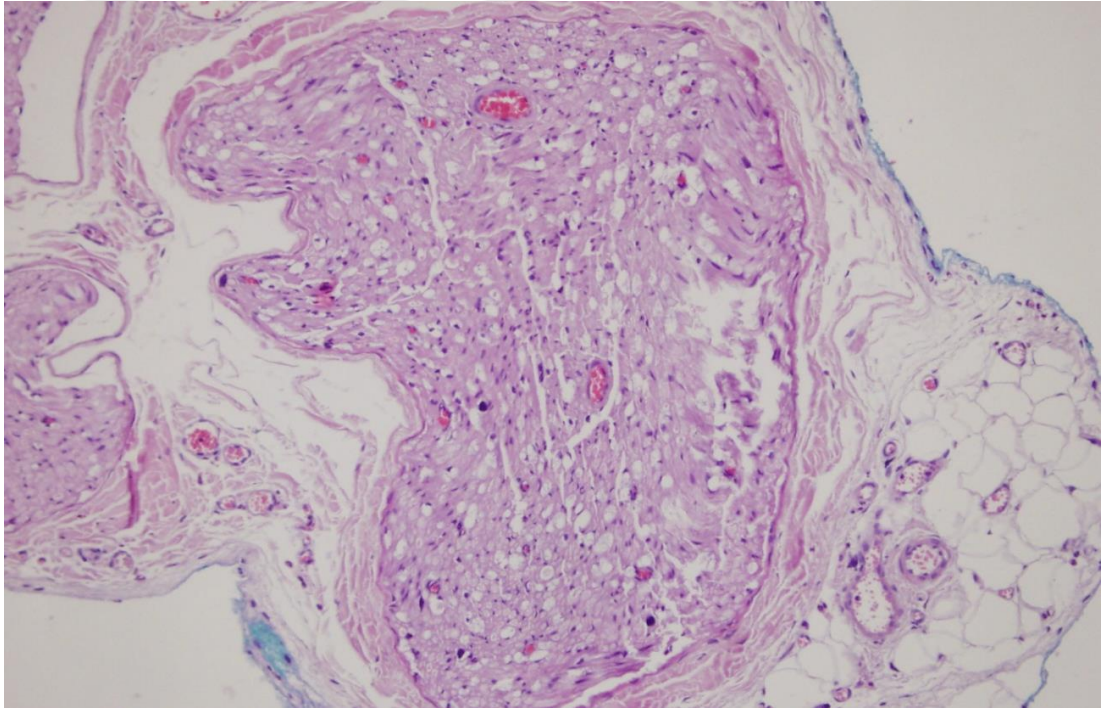
Resim 17. Travma Grubunda Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (Toluidin Mavisi * 100)



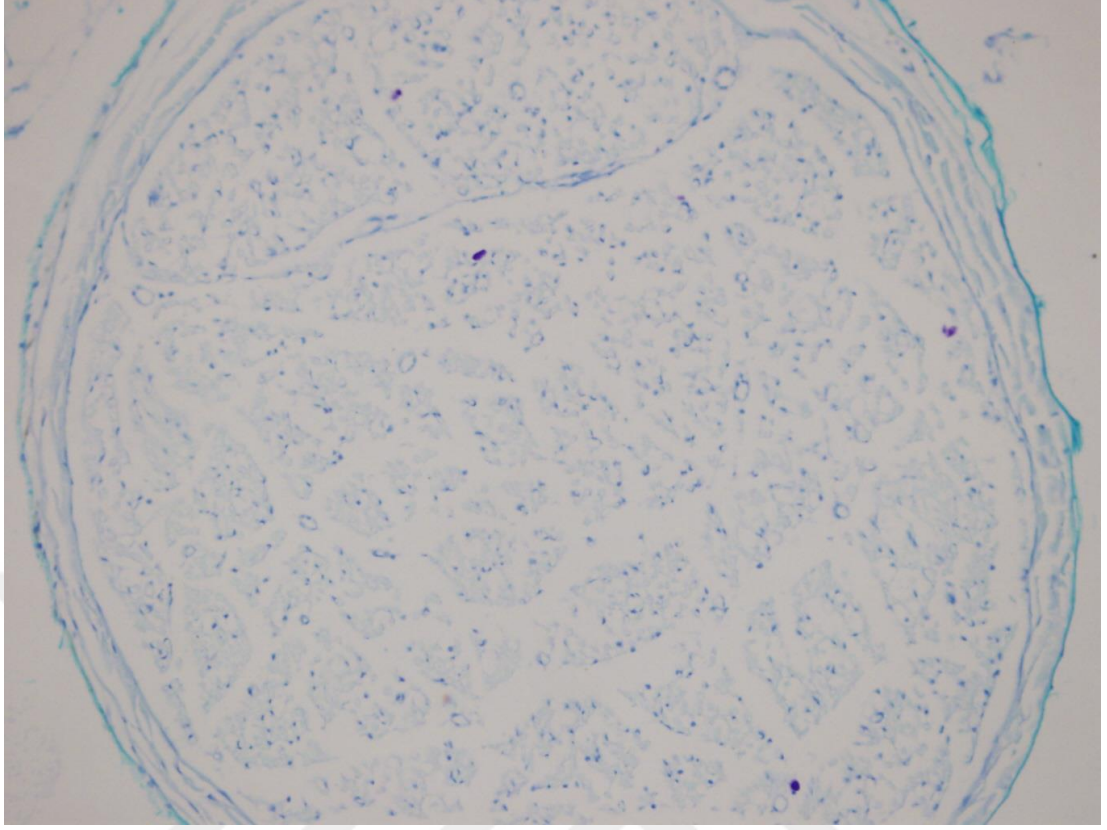
Resim 18. Travma Grubunda Siyatik Sinir Distalinden Alınan Akson Kaybı ve Aksonal Atrofi İçeren Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (Toluidin Mavisi x 200)



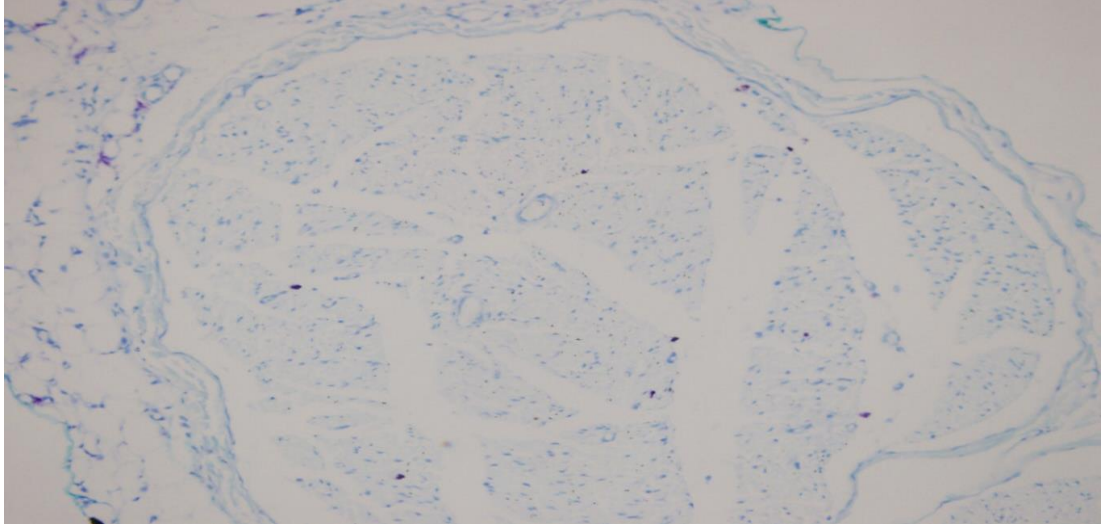
Resim 19. Orta Dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE x200)



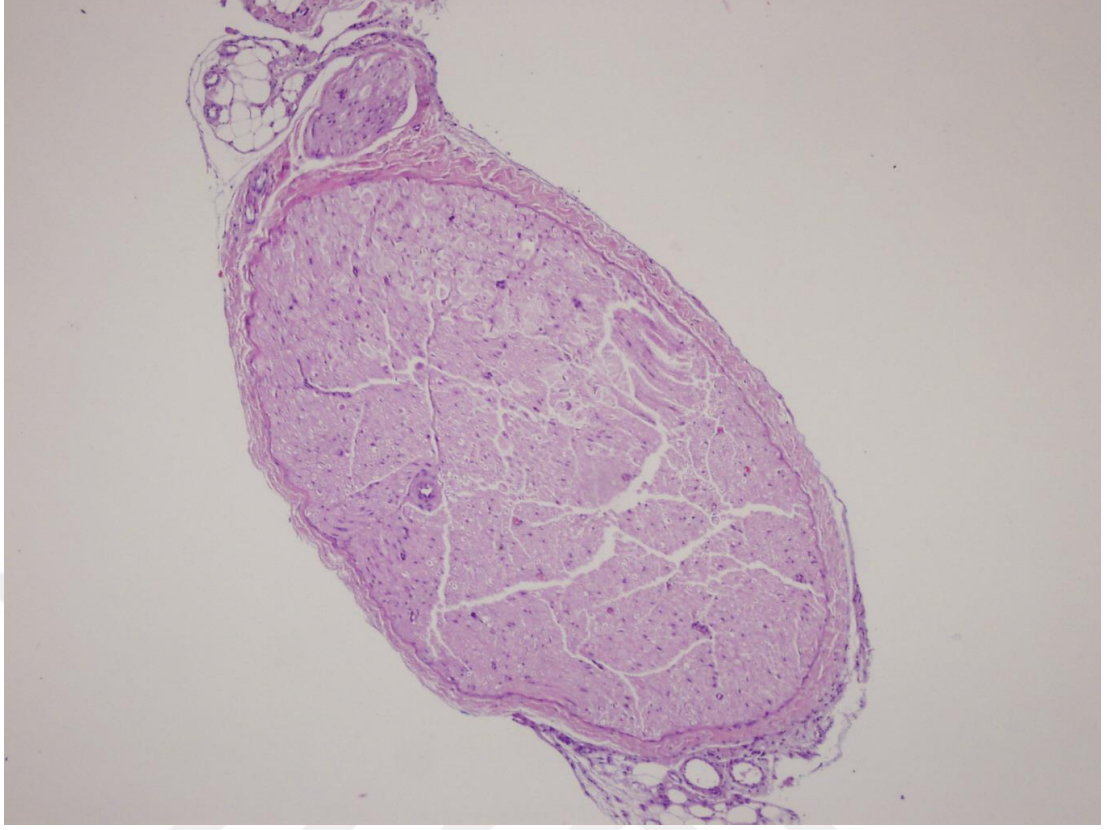
Resim 20. Orta dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Distalinden Alınan Ödem ve Dejenerasyon İçeren Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE x 200)



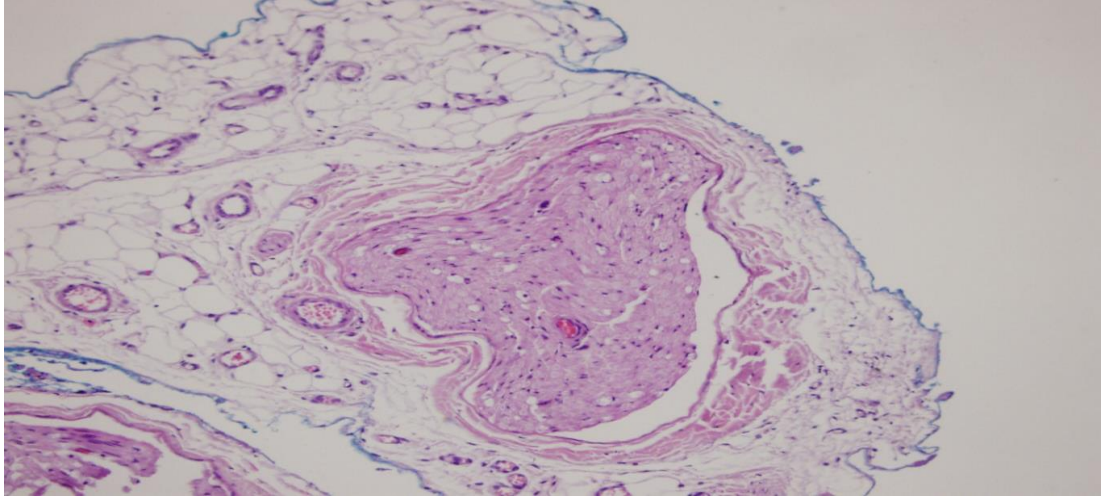
Resim 21. Orta Dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (Toluidin Mavisi x 200)



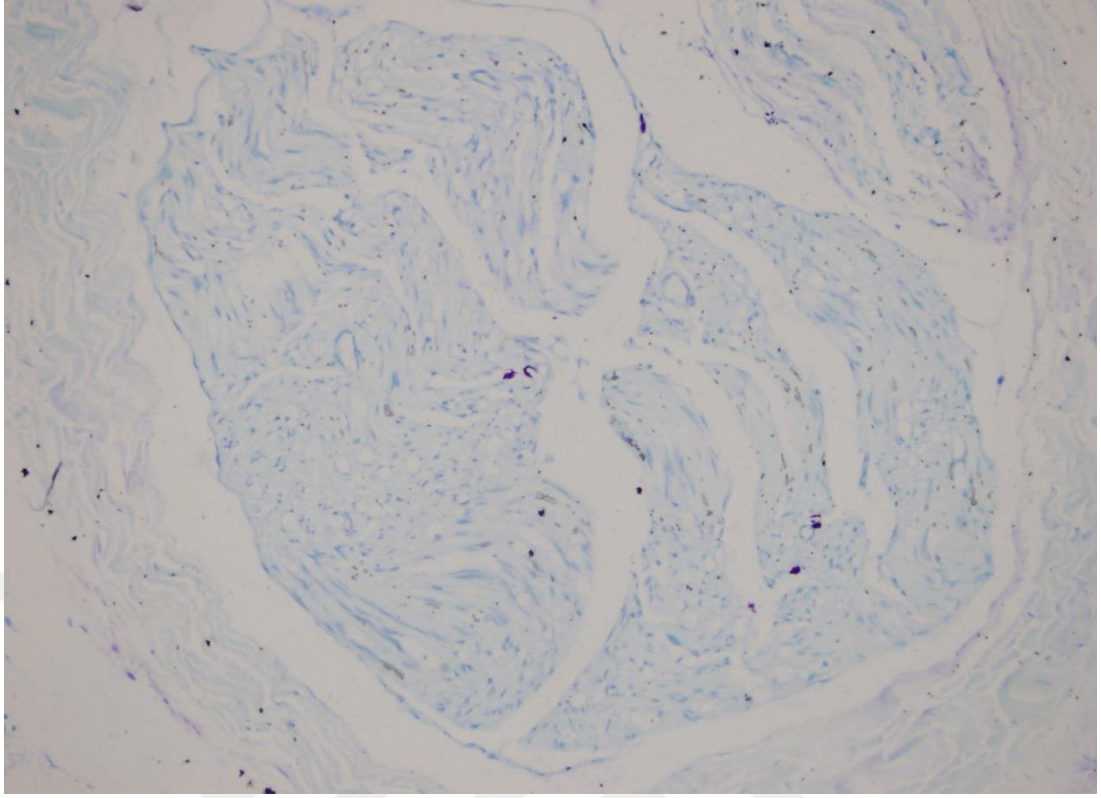
Resim 22. Orta Dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Distalinden Alınan Akson Kaybı Mevcut Olan Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (Toluidin Mavisi x 200)



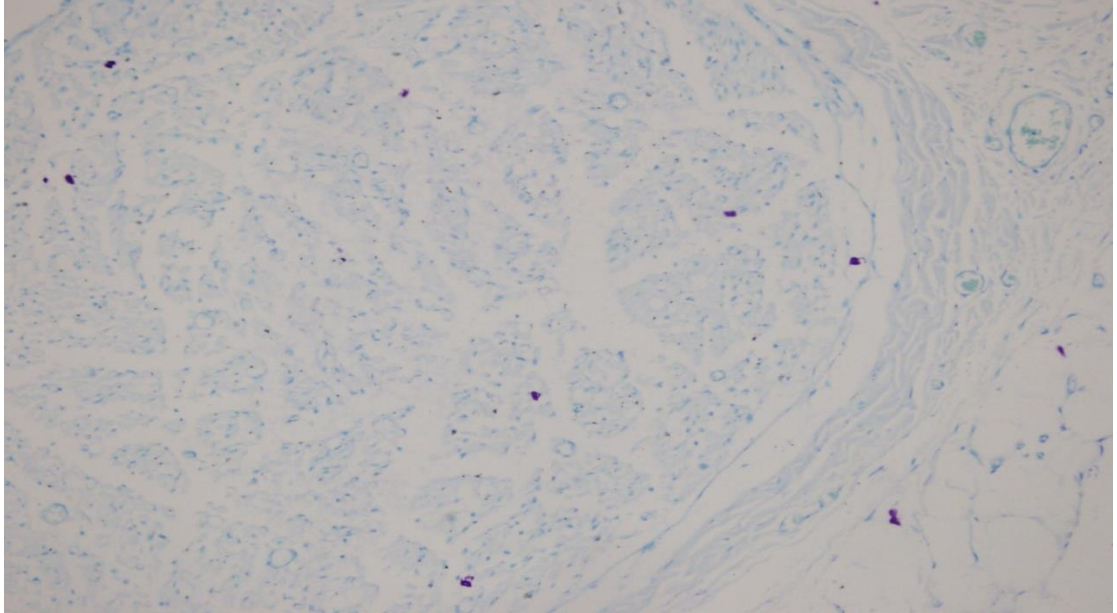
Resim 23. Yüksek Dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE x 100)



Resim 24. Yüksek Dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Distalinden Alınan Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu ve Dejenerasyon İçeren Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (HE * 200)



Resim 25. Yüksek Dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Proksimalinden Alınan Patolojik Bulgu İçermeyen Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (Toluidin Mavisi x 200)



Resim 26. Yüksek Dozda Bevacizumab Tedavisi Verilen Grupta Siyatik Sinir Distalinden Alınan Akson Kaybı İçeren Periferik Sinir Dokusunun Enine Kesidi (Toluidin Mavisi x 200)

5. TARTIŞMA

Periferik sinirler canlıların duyu ve motor fonksiyonlarında etkili önemli yapılardan biridir. Bu yapılarda oluşabilecek hasarlarda sinirlerin fonksiyonlarında kısmi veya tam olarak işlev kaybı olabilir. Hasarın şiddetine, süresine, uyguladığı alana ve seviyesine bağlı olarak hafif parestezi, spontan ağrı, nöropatik ağrı, tam duyu kaybı veya hafif bir güçsüzlük, tam motor fonksiyon kaybı gibi duyu ve motor sorunlar teşkil edebilmektedir (1). Bu sorunlar toplumlarda sık görülmekte olup insanların hayat kalitesini bozmakta, psikolojik sorunlara sebep olmakta, maddi kayıplara sebep olabilmektedir (2). Çalışmada bu yüzden periferik sinir hasarının tedavi edilmesine yönelik bir medikal yöntem tercih edildi.

Periferik sinir hasarına en sık travmalar sebep olmak üzere iskemi, inflamatuvar hastalıklar, radyasyon, traksiyon, elektrik çarpması ve yanık gibi durumlarda sebep olabilir (3). Travma sonrası olan periferik sinir hasarlarında tedavinin bir an önce başlanması gerekmektedir. Çünkü nöronların travma sonrası ödem, rejenerasyon ve apoptozis açısından etkilenmesi sinirin iyileşmesini etkileyebilmektedir. Bu yüzden gerekli medikal veya cerrahi tedavi bir an önce uygulanmalıdır (5). Bu yüzden yapılan çalışmada kompresyondan hemen sonra intraperitoneal olarak sıçanların medikal tedavisi uygulanmıştır. Sinir hasarı sonrası yapılan cerrahi onarım ve medikal tedaviye rağmen çoğunlukla tam bir iyileşme hali görülemediği için halen bu alanda birçok medikal yöntem denenmekte ve araştırılmaktadır. Bu yüzden çalışmada kontrollü nörotrofik etkisi olabilecek, ödemi azaltabilecek, serbest radikal oluşumunu azaltabilecek, skar dokusu oluşumunu azaltabilecek etkisi olacağı düşünülen bevacizumab kullanıldı.

Periferik sinir travmaları endüstrileşme ve sanayileşme arttıkça gün gittikçe görülme sıklığı artan büyük bir sorun olmuştur. Sıklıkla karşılaşılan periferik sinir travmaları ezilme veya kesilme gibi mekanik sebeplerle oluşabilmektedir. Bu hasarın seviyesine göre hastada duyu ve motor fonksiyon bozuklukları gelişebilmektedir. Bu bulguların altında yatan ise sinir hasarı ve hasarın düzeyidir. Hasarın ardından akut ve kronik belirtiler zaman içinde oluşabilir. Günümüzde uygulanan medikal tedaviler ve mikrocerrahi yöntemleri halen tam olarak iyileşme sağlayamamaktadır. Periferik sinir hasarı sonrası fonksiyonel iyileşme çoğunlukla mümkün

olamamaktadır veya iyileşme olduğunda bile süreç çok uzun olmaktadır. Dolayısıyla, bu iyileşmeye katkı sağlayabilecek farmakolojik tedavi uygulamalarının ortaya konulmasına yönelik çalışmalar son derece önemlidir. Bu çalışmada sıçanlarda deneysel siyatik sinir travmatik hasarı modelinde bevacizumab' ın tedavi edici etkisinin araştırılması hedeflendi. Denek olarak sıçan seçilmesinin sebebi kolay bulunabilirliği, uygulama ve teknik deneyimin gelişmiş olması, bakımının daha kolay olması ve motor testlerin yapılabilirliğinin daha mümkün olmasıydı. Anevrizma klibinin kullanılmasının sebebi oluşturulacak sinir hasarının şiddetinin daha kontrol edilebilir ve daha benzer şekilde oluşabilmesini sağlamaktı (98). Sinir dokusunun hasarlanması sinire olan kompresyonun süresine ve şiddetine bağlı olarak nöropraksiden aksonometzise kadar hasar verebilir. Bu yüzden yapılan çalışmada travma uygulanan bütün deneklere aynı sürede hasar verildi (55). Periferik sinir iyileşmesinin bağlı olduğu faktörlerden biri de yaralanma şeklidir. Kesici yaralanmalarda onarım sonrası iyileşen akson hemen yaralanma alanının karşısına geçerken, traksiyon tipi yaralanmalarda ise sinirde oluşan hasara bağlı olarak iyileşme gecikebilmekte veya tam olarak iyileşme olamamaktadır (99). Bu çalışmada, yaralanma tipindeki farklılığın çalışma sonuçlarını etkilememesi için tüm cerrahi işlemler aynı cerrah tarafından ve tek tip anevrizma klibi ile yapıldı.

Sinirde aşırı travma olması, kesilen sinirin tipi, hastanın yaşı, hastanın mevcut hastalıkları ve cerrahi tecrübe de sinir hasarının iyileşmesinde etkilidir (100). Bu faktörler de göz önüne alınarak yukarıda belirtildiği üzere aynı cerrah tarafından uygulanan işlemlerde benzer yaşlarda ve kilolarda sıçanlar kullanıldı.

Sinir sistemi hastalıklarının araştırılması için yapılan çalışmalarda, vasküler endotelial büyüme faktörün (VEGF) doğrudan ve dolaylı olarak nöroprotektif etkilere sahip olduğu ve nörorejenerasyona etkisinin bulunduğu gösterilmiştir. Anti-VEGF tedavisinin de sinir koruması ve işlevi üzerindeki etkisi bildirilmiş olup spinal tümörlü olgularda tümörü normalleştirerek, sinir ödemi hafifletip, oksijenin sinire daha verimli bir şekilde iletebilmesini sağlayarak bu şekilde de sinir hasarını azaltıp ve sinir fonksiyonunu iyileştirerek olabileceği düşünülmüştür (6). Aynı zamanda hasarlanan bir sinir sistemi bölgesinde anjiyogenezin yararlı etkisi olduğu bilinmekle beraber aşırı anjiyogenezin zararlı olacağı bildirilmiş, iyileşme için limitli bir anjiyogenez gerekli olduğu gösterilmiştir (96). Anti VEGF tedavisinin limitli bir

anjyogenez sağlayarak sinir sistemi patolojileri üzerine olumlu etkisi olabileceği düşünülmüştür (97). Ayrıca yapılan bir diğer çalışmada, VEGF antagonizmasının serebral iskemik-reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiş, nöral hücreleri koruduğu bunun da endoplazmik retikulum aracılı apoptoz yolları üzerindeki etkisiyle olabileceği düşünülmüştür (96). Anti-VEGF optik sinir nöropatilerinde kullanılmış, sinir sistemi tümörlerinde radyoterapi nekrozu sonrası kullanılmıştır. Radyoterapi nekrozlarında ve optik nöropatilerde etkin olduğu gösterilmiştir. Optik sinir dışında ki diğer sinirlerde de denenmesi önerilmiştir (101, 102). Bu sebeplerden dolayı bu çalışmada Anti-VEGF tedavinin benzer yollar üzerindeki etkilerinden yararlanıp Bevacizumabın periferik sinir hasarında sinir rejenerasyonu, ödem azaltıcı, inflamasyon azaltıcı, skar dokusunu azaltıcı, sinirin oksijenlenmesini sağlayarak iyileştirici etkisi araştırıldı.

Periferik sinir hasarı sonrası sinirin iyileşmesinin gösterilebilmesi ise periferik sinir araştırmalarında halen önemli bir problemdir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda sinirin iyileşmesinin değerlendirilmesinde histolojik, elektrofizyolojik, motor fonksiyon ve duysal fonksiyon değerlendirme yöntemlerinin bir arada değerlendirilmesi daha iyi kanaate varılabileceğini göstermiştir. Bu yöntemlerin hiç biri tam olarak sinir fonksiyonunu ve iyileşmeyi gösterememektedir. Her bir yöntem sinir rejenerasyonunu farklı bir evresi hakkında fikir sahibi olmayı sağlar. Yapılan bir çok çalışmada bu yöntemler arasında sıklıkla uyumsuzluklar olmuştur. Deneysel travma modellerinde sinir hasar sonrası sinirin tam olarak iyileştiğini gösterebilecek altın standart bir test yöntemi henüz bulunamamıştır. Bu nedenle farklı araştırmacılar çalışmalarında farklı yöntemleri kullanarak, sinir iyileşmesinin farklı evrelerini test etmişlerdir. (103,104, 105, 106, 107, 108)

Bu zamana kadar yapılan araştırmalarda sinir hasarının ardından iyileşmenin en önemli göstergelerinden biri sinirin fonksiyonel olarak eski haline gelebilmesi değerlendirildi. Bu yüzden çalışmada fonksiyonel olarak iyileşmeyi test etmek amacıyla sıçanlara rotarod testi ve termal plantar testi uygulandı. Bu testler tedaviye yanıtı belirleyebilmek için hem travma öncesi hem travmadan 3 hafta sonra yapıldı ve veriler kayıt edildi. Rotarod testine tabi tutulan sıçanların travma öncesi yürüme süreleri birbirine yakındı. Travmadan 3 hafta sonra yapılan rotarod testinde ise kontrol grubunun (travma uygulanmayan grup) travma öncesiyle benzer sürelerde

yürüdüğü görüldü. Travma uygulanıp herhangi bir tedavi uygulanmayan grubun yürüme süresinde anlamlı bir kısalma görüldü. Orta dozda ve yüksek dozda tedavi verilen grupların ise kontrol grubuna göre daha kısa süreli yürüdüğü, travma uygulanıp tedavi verilmeyen gruba göre ise daha uzun süreli yürüyebildiği görüldü. Aynı şekilde termal plantar testinde ise farelerin duyu yanıtları değerlendirildi. Kontrol grubunun travma öncesi ile aynı sürelerde ısıyı hissettiği travma grubunun ise hasar sonrası ısıyı hissetme süresinin oldukça uzadığı görüldü. Orta dozda ve yüksek dozda tedavi verilen grupların ise ısıyı hissetme sürelerinde bir miktar uzaman olduğu ancak bu sürenin travma uygulanıp tedavi verilmeyen grup kadar uzun olmadığı görüldü.

Travma sonrası oluşan periferik sinir hasarlarında sinir rejenerasyonunu sağlamakta etkili olan birçok faktör vardır. Hasar sonrası sıklıkla sinirin beslenmesi bozulabilmekte ve buna bağlı olarak sinirin iletimi bozulmaktadır. Bu sinirlerin görevlerini yerine tam olarak getirebilmesi için sinir hücrelerinin vasküler beslenmesinin yeterli olması gerekmektedir. Eğer yeterli vaskülarizasyon devam etmez veya vaskülarizasyon gereğinden fazla miktarda olur ise sinir rejenerasyonu tam olarak gerçekleşmeyebilir ve sinir dejenerasyonu ilerleyebilir. Son zamanlarda Anti VEGF ilaçların aşırı vaskülarizasyonu engelleyerek nöral dokular üzerinde sinir dokusunun gelişimini pozitif etkileyebileceği çalışmalar olmuştur. Bu etkisini travma oluşan doku etrafındaki ödemi azaltarak optimal vaskülarizasyon ile birlikte sağladığı düşünülmüştür (6). Periferik sinir hasarı sonrası rejenerasyonun değerlendirilmesinde ENMG' nin rejenerasyon ile ilgili bilgiler verdiği bilinmektedir. Bu yüzden çalışmada sıçanlara travma öncesi ve travmadan 3 hafta sonra ENMG çekildi ve verilerin birbiriyle istatistiksel olarak kıyaslamalı analizi yapıldı. Yapılan ENMG testlerinde eşik değer ve amplitüd değerleri hesaplandı.

Yapılan testlerin sonucunda elde edilen veriler ile birlikte yapılan analizler siyatik siniri hasara uğramayan denekler ile siyatik siniri hasara uğrayan denekler arasında motor ve duyu testleri de anlamlı farklar olduğunu göstermiştir. Sıçanların sağ siyatik sinirlerine hasar yapıldıktan hemen sonra, birinci haftada ve ikinci haftada Anti-VEGF tedavisi verildi. 3 haftalık takibin ardından tedavi alan deneklerin tedavi almayan deneklere göre rotarod testlerinde bobin üzerindeki yürüme sürelerinin uzadığı, özellikle travma alıp herhangi bir tedavi almayan grubun diğer gruplara

kıyasla anlamlı derecede yürüme sırasının kısaldığı gözlemlendi. Bu durum Anti-VEGF tedavisinin sıçanlar üzerinde siyatik sinir travması sonrasında motor fonksiyonların iyileşmesine katkı sağladığını gösterdi.

Aynı şekilde termal plantar testlerde de deneklerin duyuşal fonksiyonları test edildi. Travma gurubunda diğer gruplara göre anlamlı farklar görölmüş ve ağrıyı hissetme süreleri anlamlı düzeyde arttığı göröldü. Tedavi alan deneklerin duyuşal fonksiyonlarında ise travma uygulanmayan gruba göre benzerlik olduğu göröldü.

Bu veriler göstermektedir ki Anti-VEGF tedavisinin siyatik sinir hasarı sonrasında sinir iyileşmesi üzerine pozitif etkileri vardır. Bu etkiyi hem travma sonrası hasarlı lezyon bölgesinde oluşun ödemi azaltarak, skar dokusunun oluşmasını engelleyerek, fazla miktarda olabilecek anjiyogenezi sınırlandırarak ve serbest oksijen radikallerinin salınmasını azaltarak yaptığı düşünölmektedir.

Motor fonksiyon testler anlamlı çıkması sonucu Anti-VEGF ilacının etkililiği elektrofizyolojik çalışmalar ile desteklenmeye çalışıldı. ENMG verilerine göre bir uyarı sonrası aksiyon potansiyeli oluşturulması gereken en düşük değer olarak adlandırılan eşik değer travmaya uğrayan ve herhangi bir tedavi almayan sıçanlarda arttığı orta doz tedavi alan grupta ise aynı kaldığı gözlemlendi. Yüksek dozda tedavi alan grupta da eşik değerin anlamlı şekilde arttığı göröldü bunun sebebinin ise daha önce bahsedilen iyileşmenin farklı evresinde olabileceği veya her ne kadar eşit şartlarda sıçanların deneye tabi tutulmaya çalışılsa da sıçanların kas fonksiyonlarında bir farklılık veya enmg cihazında çekim esnasında oluşabilecek bir sorun olarak değerlendirildi.

Sıçanlar tüm çalışmaların sonucunda veriler elde edildikten sonra histopatolojik olarak siyatik sinirleri incelenmek üzere dekapitasyon yöntemiyle sakrifiye edildi ve siyatik sinirleri çıkartıldı. Anti VEGF için bahsettiğimiz dejenerasyon azaltıcı veya kısıtlayıcı, ödem azaltıcı, inflamasyonu baskılayıcı etkileri açısından histopatolojik incelemeleri yapıldı. Yapılan histopatolojik incelemeler sonucunda tedavi kontrol grubu olarak adlandırılan grupta herhangi bir ödem inflamasyon veya dejenerasyon gözlenmedi. Tedavi uygulanan gruplarda travma uygulanıp tedavi uygulanmayan gruba göre ise ödem, dejenerasyon ve inflamasyon miktarının çok daha fazla olduğu göröldü.

Yapılan alışma sonucunda Anti-VEGF tedavinin periferik sinir hasarlarında ödem azaltıcı, sınırlı anjiogenez, skar dokusunu azaltıcı gibi etkiler ile yaparak sinir hasarlarında rejenerasyona katkı sağladığı ve dejenerasyonu azalttığı grld. Bu etkilerle birlikte sinirin motor ve duysal fonksiyonlarını korumasında etkili olduğu dşnld.



6. SONUÇ

Yaptığımız araştırmalar sonucu sıyatik sinir hasarı sonrası Anti-VEGF tedavisi kullanıldığında sıçanlarda motor ve duyuşal fonksiyonlar üzerinde olumlu bir iyileşme gözlendi. Bu sonuçlar motor testler, elektrofizyolojik değerlendirmeler ve histopatolojik olarak desteklenmektedir. Ancak yaptığımız çalışmada elde edilebilecek anlamlı sonuçlar için minimum sayıda sıçan kullanıldı. Anti-VEGF ile ilgili deneylerin daha geniş kapsamlı ve parametrik testler ile desteklendiğı takdirde daha anlamlı sonuçlar bulunabileceğini düşünmekteyiz. Anti-VEGF tedavisinin bahsettiğimiz yollar üzerinden sıyatik sinir hasarında iyileşmeye yönelik umutlandıran bir molekül olduğunu düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Brushart TM. Nevre repair and grafting. In: Gren DP Operative Hand Surgery, Churchill Livingstone Inc. Fourth Ed.; Vol 2, 1381-1403, 1998
2. Shiers, S., Mwirigi, J., Pradhan, G., Kume, M., Black, B., Barragan-Iglesias, P., Moy, J. K., Dussor, G., Pancrazio, J. J., Kroener, S., & Price, T. J. Reversal of peripheral nerve injury-induced neuropathic pain and cognitive dysfunction via genetic and tomivosertib targeting of MNK. *Neuropsychopharmacology: Official Publication Of The American College Of Neuropsychopharmacology*, 2020. 45(3): 524–533.
3. Rosberg HE, Carlsson KS, Hojgard S, Lindgren B, Lundborg G, Dahlin LB(2005) Injury to the human median and ulnar nerves in the forearm--analysis of costs for treatment and rehabilitation of 69 patients in southernSweden. *J Hand Surg [Br]* 30: 35-39.
4. Noble J, Munro CA, Prasad VSSV, Midha R.. Analysis of upper and lower extremity peripheral nerve injuries in a population of patients with multiple injuries, *J Trauma*, 1998, 45: 116-22.
5. Dahlin, L. B. (2008). Techniques of peripheral nerve repair. *Scandinavian Journal of Surgery*, 97(4), 310-316.
6. Anti-VEGF treatment improves neurological function in tumors of the nervous system Na Zhang 1, Jie Chen 1, Gino B Ferraro 1, Limeng Wu 1, Meenal Datta 2, Rakesh K Jain 1, Scott R Plotkin 3, Anat Stemmer-Rachamimov 4, Lei Xu 5 DOI: 10.1016/j.expneurol.2017.09.008
7. Terzis JK, Smith KL. Repair and grafting of the peripheral nerve. In: Mc Carthy JG 60 (Ed.): *Plastic surgery*, W. B. Saunders Co. Vol 1; 630-697, 1990.
8. Jager RD, Mieler WF, Miller JW. Age-related macular degeneration. *N Engl J Me* 2008;358(24):2606-17.
9. Kayalı, H: İnsan Embriyolojisi, Beta Yayınevi, 2. baskı, İstanbul 254-7, 1984.
10. Onger, M. E., Türkmen, A. P., Elibol, E., Altun, G., Deniz, O. G., Altunkaynak, B. Z., & Kaplan, S. (2015). Embryology of the Peripheral Nerves. In *Nerves and Nerve Injuries*
11. Arinci K, Elhan A (eds.). Periferik sinir sistemi. İçinde: *Anatomi*. 4. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 2006. p129-210.
12. Myers RR. Morphology of the peripheral nervous system and its relationship to neuropathic pain. *Anesthesia: Biologic Foundations*, Yaksh TL, Lynch III C,

Zapol WM, Maze M, Biebuyck JF, Saidman LJ (eds), Lippincott-Raven, Philadelphia, s:447-1998

13. Atik B. Melatonin periferik sinir rejenerasyonu üzerine etkileri. Uzmanlık Tezi. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gaziantep 2001
14. İTF Nöroloji 2. Baskı sayfa 652
15. Spencer H, Spencer H. The structure of the nervous system. Princ Psychol Vol 1 (2nd ed). 2010;15-45
16. Berry M, Bannister LH, Standring SM. Nervous system. Gray's anatomy. 38th ed. Williams P.L. Churchill Livingstone, Edingburgh
17. Girault JA, Peles E. Development of Nodes on Ranvier. Curr Opin Neurobiol 2002; 12:476,85
18. David H. Cormack Essential Histology, 2001, s.228
19. Ökten F, Çakar AC, Leblebici F. Lokal Anestezikler. İçinde: Güldoğan F, Gürkan Y. Editörler: Rejyonel Anestezi, 1.baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2013. s. 21-54.
20. Carroll, S. L. (2017). The Molecular and Morphologic Structures That Make Saltatory Conduction Possible in Peripheral Nerve. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology, 76(4), 255-257. <https://doi.org/10.1093/jnen/nlx013>
21. Mc Carthy, Plastic Surgery General Principles, 1990, s.641
22. Myckatyn TM, Mackinnon, S.E. Microsurgical Repair of Peripheral Nerves and Nerve Grafts. In: C.T. Thorne, Editor. Grabb and Smith's Plastic Surgery; 2007.p.74
23. Scalnlon VC, Sanders T. The Nervous System. In: Essentials of Anatomy and Physiology. 5th ed. Philadelphia: F. A. Davis Company. 2007; 163-96
24. Türk Nörosirürji Dergisi, 2005, Cilt: 15, Sayı: 3, 198-201 Periferik Sinirin Mikroanatomi ve Sinir Kesilerinde Uygulanan Cerrahi Teknikler. Dr. Atilla AKBAY Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nörosirürji Anabilim Dalı
25. Ubogu EE., Biology of the human blood-nerve barrier in health and disease. Exp Neurol, 2020, 328:113272
26. Mizisin, A. P., & Weerasuriya, A., Homeostatic regulation of the endoneurial microenvironment during development, aging and in response to trauma, disease and toxic insult. Acta neuropathologica, 2011, 121(3): 291-312.

27. Maggi, S.P., J.B. Lowe, 3rd, and S.E. Mackinnon, Pathophysiology of nerve injury. Clin Plast Surg, 2003. 30(2): p. 109-26.
28. İmer M. Travmatik periferik sinir yaralanmaları. İçinde: Aksoy K, editör. Temel Nöroşirürji. 1. Baskı. Ankara: TND Yayınları; 2005, p1251-1261.
29. Danyemez MD, Seçer Hİ. Periferik sinir yaralanmaları ve cerrahisi. Temel nöroşirürji. Kofralı E, Zileli M (ed). Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları. Ankara 2010; S:1763-1787.
30. H.Hunt Batjer, Textbook of Neurological Surgery Principles and Practice, 2002, s.2230
31. Bayramiçli M: Sinirde Mikrocerrahi Çalışması: Deneysel Mikrocerrahi. 1. Baskı. Argos, İstanbul 2005, s: 340
32. Lundborg G. Nerve injury and repair: Churchill Livingstone Edinburg; 1988.
33. Shier D, Butler J, and Lewis R. Hole's essentials of human anatomy and physiology.9th ed. Boston: McGraw-Hill, 2006; xviii, 590 p.)
34. Seçer Hİ, Danyemez MK. Periferik sinir yaralanmaları ve cerrahisi. İçinde: Temel Nöroşirürji. Ankara: Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları; 2010. p1763-1764.
35. Robinson, L. R. (2000). Traumatic injury to peripheral nerves. Muscle & Nerve, 23(6),863–873. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-598\(200006\)23:6<863::AID_MUS4>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-598(200006)23:6<863::AID_MUS4>3.0.CO;2-0)
36. Modrak, M., Talukder, M. A. H., Gurgenshvili, K., Noble, M., & Elfar, J. C. (2020). Peripheral nerve injury and myelination: Potential therapeutic strategies. Journal of Neuroscience Research, 98(5), 780–795. <https://doi.org/10.1002/jnr.24538>
37. Burnett, M. B., & Zager, E. (2004). Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. Neurosurg Focus, 16(5), 1–7
38. Danyemez MD, Seçer Hİ. Periferik sinir yaralanmaları ve fizyopatolojisi. Periferik sinir cerrahisi. Demircan N, Zileli M (ed). Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları. Ankara 2008; S:99-107
39. Bozkurt G, Benli K. Periferik sinir yaralanmaları: Temel Nöroşirürji. 1. Baskı. Benli K(ed) Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi, Ankara 2004; S: 319-327. 2.3.1 Seddon Sınıflaması
40. Seddon, H. J. (1943). Three Types of Nerve Injury. Brain, 66(4), 237–288. <https://doi.org/10.1093/brain/66.4.237>

41. Mackinnon SE. New directions in peripheral nerve surgery. *Ann Plast Surg* 1989; 22: 257-73
42. Sunderland, S. (1951). A Classification of Peripheral Nerve Injuries Producing Loss of Function. *Brain*, 74(4), 491–516.
<https://doi.org/10.1093/brain/74.4.491>
43. Svehngisen, Å., & Dahlin, L. (2013). Repair of the Peripheral Nerve—Remyelination that Works. *Brain Sciences*, 3(4), 1182–1197.
<https://doi.org/10.3390/brainsci3031182>
44. Renno WM, Benov L, Khan KM. Possible role of antioxidative capacity of (-)-epigallocatechin-3-gallate treatment in morphological and neurobehavioral recovery after sciatic nerve crush injury, *J Neurosurg Spine*. 2017;27:593–613.
45. Thaller, S.R., Grabb and Smith's Plastic Surgery, Seventh Edition. 2014. 133(5): p. 1311-1312.
46. Tomaszewski KA, Graves MJ, Henry BM, et al. Surgical anatomy of the sciatic nerve: A meta-analysis. *J Orthop Res* 2016; 34: 1820-1827
47. Massing MW, Robinson GA, Marx CE, Alzate O, Madison RD. Applications of Proteomics to Nerve Regeneration Research. In: Alzate O, ed. *Neuroproteomics*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2010. 52 .
Mters RR: Anatomy and microanatomy of pheripheral nerve. *Neurosurgery Clin N Am*, 1991, 2:1-2
48. Mters RR: Anatomy and microanatomy of pheripheral nerve. *Neurosurgery ClinN Am*, 1991, 2:1-20
49. Zochodne, D. W. (2008). *Neurobiology of Peripheral Nerve Regeneration*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511541759>
50. Svehngisen, A. F., & Kanje, M. (1998). Regulation of Schwann cell proliferation in cultured segments of the adult rat sciatic nerve. *Journal of Neuroscience Research*,52(5), 530–537. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19980601\)52:5<530::AIDJNR5>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19980601)52:5<530::AIDJNR5>3.0.CO;2-D)
51. Zimmerman, B. J., & Granger, D. N. (1994). Mechanisms of Reperfusion Injury. *The American Journal of the Medical Sciences*, 307(4), 284–292.
<https://doi.org/10.1097/00000441-199404000-00009>
52. Hillenbrand M, Holzbach T, Matiasek K, Schlegel J, Giunta REJNr. Vascular endothelial growth factor gene therapy improves nerve regeneration in a model of obstetric brachial plexus palsy. 2015;37(3):197-203.

53. Podhajsky, R. J., & Myers, R. R. (1993). The vascular response to nerve crush: relationship to Wallerian degeneration and regeneration. *Brain Research*, 623(1), 117–123. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90018-I](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90018-I)
54. Caillaud, M., Richard, L., Vallat, J.-M., Desmoulière, A., & Billet, F. (2019). Peripheral nerve regeneration and intraneural revascularization. *Neural Regeneration Research*, 14(1), 24. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.243699>
55. Sarikcioglu, L., Yaba, A., Tanriover, G., Demirtop, A., Demir, N., & Ozkan, O. (2007). Effect of Severe Crush Injury on Axonal Regeneration: A Functional and Ultrastructural Study. *Journal of Reconstructive Microsurgery*, 23(3), 143–149. <https://doi.org/10.1055/s-2007-974649>
56. Sarikcioglu, L., & Ozkan, O. (2003). Instrumentation Note: YASARGIL-PHYNOX ANEURYSM CLIP: A SIMPLE AND RELIABLE DEVICE FOR MAKING A PERIPHERAL NERVE INJURY. *International Journal of Neuroscience*, 113(4), 455–464. <https://doi.org/10.1080/00207450390162218>
57. Rothwell, N., Loddick, S., & Lawrence, C. (1997). Cytokines and neurodegeneration. In *Immune Responses in the Nervous System* (Vol. 2, Issue October, pp. 77–100). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9781872748795.003.0004>
58. Simone CB, Simone NL, Simone V, Simone CB. Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival. *Altern Ther Health med*, 2007, 13: 22-28
59. Sinclair AJ, Barnett AH, Lunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Br J Hos Med*, 1990, 43: 334-344.
60. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. MIMOZA Yayınları. Sağlık Dizisi. Konya, 1995
61. Zhang Y, Micheal G, Irwin M, Tak MW. Remifentanil preconditioning protects against ischemic injury in the intact rat heart. *Anesthesiology* 2000;101:918-23
62. Bachschmid M, Schildknecht S, Ullrich V. Redox regulation of vascular prostanoid synthesis by the nitric oxide-superoxide system. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;338:536-542
63. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews* 2004;25:612–628.
64. Smith C, Marks AD, Lieberman M. Oksijen toksisitesi ve serbest radikal örsentisi. Marks temel medikal biyokimyası, 2. Baskı. Ankara, Güneş Tıp Kitapevleri; 2007:439-457

65. Okada Y, Copeland BR, Fritridge R. Fibrin contributes to microvascular obstructions and parenchymal changes during early focal cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke* 1994; 25(9): 1847- 1854
66. Adamson JW. Iron deficiency and other hypoproliferative anemias. In: Fauci AS, Kasper DL, Longo DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J (eds). *Harrison's principles of internal medicine*, 18th ed. United States of America, McGraw-Hill companies, 2012:844-851
67. Zhang Q, Huang X. Induction of interleukin-6 by coal containing Bioavailable iron is through both hydroxyl radical and ferryl species. *J Biosci* 2003;28:95-100.
68. Kruszewski M. Labile iron pool: the main determinant of cellular response to oxidative stress. *Mutat Res* 2003;531:81-92.
69. Pratico D. Antioxidants and endothelium protection. *Atherosclerosis* 2005;181:215-224.
70. Baykal Y, Kocabalkan F. Serbest radikaller ve hücre hasarı. Sendrom 2000;9:31-39 SOR'un membran lipitlerine etkileri
71. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998;11:336-341.
72. Taysi S. Oxidant/antioxidant status in liver tissue of vitamin B6 deficient rats. *Clinical Nutrition* 2005;24:385–389
73. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N., Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118, 2010.
74. Woo, R. A., McLure, K. G., Lees-Miller, S. P., Rancourt, D. E., & Lee, P. W., DNA-dependent protein kinase acts upstream of p53 in response to DNA damage. *Nature*, 394(6694), 700-704, 1998
75. Cruthirds, D.L., Novak, L., Akhi, K.M., Sanders, P.W., & Thompsan, J.A., Mitochondrial Targets of Oxidative Stress During Renal Ischemia/Reperfusion. *Archives Biochemistry and Biophysics*. 412, 27-33,2003.
76. Biçim G. (2013). Oksidatif stres ve antioksidan kapasite ile ilişkili gen polimorfizmlerinin değişik yöntemlerle belirlenmesi. *Marmara Üni. Biyokimya Tıp.YL-Tez*
77. Knubel CP, Martínez FF, Fretes RE, Lujan CD, Theumer MG, Cervi L, Motrán, CC. Indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) is critical for host resistance against *Trypanosoma cruzi*. *The FASEB Journal* 2010, 24(8): 2689-701

78. Shahidi F, Ambigaipalan P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897.
79. Şener G, Yeğen Berrak Ç. İskemi Reperfüzyon Hassarı. *Klinik Gelişim Dergisi* 2009, 22: 5-13
80. Appenzeller-Herzog C. Glutathione-and non-glutathione-based oxidant control in the endoplasmic reticulum. *J Cell Sci* 2011, 124(6): 847-55
81. Gill SS, Anjum NA, Hasanuzzaman M, Gill R, Trivedi DK, Ahmad I, Pereira E, Tuteja N. Glutathione and glutathione reductase: a boon in disguise for plant abiotic stress defense operations. *Plant Physiol Biochem* 2013, 70: 204- 12.
82. Champe PC, Harvey RA. Glikozaminoglikanlar. Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E (eds). Lippincott's illustrated reviews serisinden: Biyokimya. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1997. 147-56.
83. Townsend DM, Kenneth D, Tew KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother* 2003, 57: 145-55.
84. Couto N, Wood J, Barber J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radic Biol Med* 2016, 95: 27-42.
85. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *TIBS* 2000;25:502- 7.
86. Scandalios JG. The rise of ROS. *TRENDS in Biochemical Sciences* 2002;27:483-6
87. Schneider BP, Radovich M, Miller KD. The role of vascular endothelial growth factor genetic variability in cancer. *Clin Cancer Res.* 2009 Sep 1;15(17):5297-302.
88. Kabbinavar F, Hurwitz HI, Fehrenbacher L, Meropol NJ, Novotny WF, Lieberman G, Griffing S, Bergsland E. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2003 Jan 1;21(1):60-5.
89. Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat Med.* 2003 Jun;9(6):677-84
90. Teoh, D.G. and A.A. Secord, Antiangiogenic therapies in epithelial ovarian cancer. *Cancer Control*, 2011. 18(1): p. 31-43.

91. Li, D.-P., et al., Breastfeeding and ovarian cancer risk: a systematic review and metaanalysis of 40 epidemiological studies. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2014. 15(12): p. 4829-4837
92. Ferrara, N., et al., Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *NatWang, Y., et al., Biological activity of bevacizumab, a humanized anti-VEGF antibody in vitro. Angiogenesis*, 2004. 7(4): p. 335-345
ure reviews Drug discovery, 2004. 3(5): p. 391-400.
93. Wang, Y., et al., Biological activity of bevacizumab, a humanized anti-VEGF antibody in vitro. *Angiogenesis*, 2004. 7(4): p. 335-345
94. Fogli, S., et al., Clinical pharmacology of intravitreal anti-VEGF drugs. *Eye (Lond)*, 2018. 32(6): p. 1010-1020.
95. VEGF Antagonism Attenuates Cerebral Ischemia/Reperfusion-Induced Injury via Inhibiting Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Apoptosis Shu-Qing Feng 1 2, Shao-Yun Zong 1 2, Jia-Xin Liu 3, Yang Chen 1 2, Rong Xu 1 2, Xin Yin 1 2, Rong Zhao 4, Ying Li 5 6, Ting-Ting Luo 1 2 DOI: 10.1248/bpb.b18-00628
96. Anti-VEGF treatment improves neurological function and augments radiation response in NF2 schwannoma model Xing Gao 1, Yingchao Zhao 2, Anat O Stemmer-Rachamimov 3, Hao Liu 4, Peigen Huang 4, ShanMin Chin 4, Martin K Selig 3, Scott R Plotkin 5, Rakesh K Jain 4, Lei Xu 6 DOI: 10.1073/pnas.1512570112
97. Shokouhi G, Tubbs RS, Shoja MM, Hadidchi S, Ghorbanihaghjo A, Roshangar L Farahani RM, Mesgari M, Oakes WJ, Neuroprotective effects of high-dose vs low-dose melatonin after blunt sciatic nerve injury. *Childs Nerv Syst*. 2008; 24:111-117.
98. Cabaud HE, Rodkey WG, Nemeth TJ. Progressive ultrastructural changes after peripheral nerve transection and repair. *J Hand Surg [Am]*. 1982; 7: 353-65
99. Karşıdağ S, Özcan A, Şahin Ş, Karşıdağ S ve ark. Farklı seviyelerde ve onarım tiplerindeki periferik sinir iyileşmesinin elektrofizyolojik ve histopatolojik olarak değerlendirilmesi. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 2008; 42(4): 278-283
100. Anti-VEGF bevacizumab (Avastin) for radiation optic neuropathy Paul T Finger 1 DOI: 10.1016/j.ajo.2006.09.014
101. Radiation-induced myelopathy: treatment with bevacizumab Marc C Chamberlain 1, Keith D Eaton, James Fink DOI: 10.1001/archneuro.2011.621

102. Kanaya F, Firrell JC, Breidenbach WC. Sciatic function index, nevre conduction tests, muscle contraction, and axon morphometry as indicators of regeneration. *Plast Reconstr Surg*. 1996; 98(7): 1264-71, discussion 1272-4.
103. Wolthers M, Moldovan M, Binderup T, Schmalbruch H, Krarup C. Comparative electrophysiological, functional and histological studies of nevre lesions in rats. *Microsurgery*. 2005; 25(6): 508-19.
104. Varejao AS, Melo-Pinto P, Meek MF, Filipe VM, Blulas-Cruz J. Methods for experimental functional assessment of rat sciatic nerve regeneration. *Neurological Research*. 2004; 26: 186-194.
105. Luís AL, Amado S, Geuna S et al. Long-term functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. *J Neurosci Methods*. 2007; 163(1): 92-104.
106. Varejão AS, Cabrita AM, Meek MF et al. Functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. *J Neurotrauma*. 2004; 21(11): 1652-70.
107. Martins RS, Siqueira MG, Da Silva CF, Plese JP. Correlation between parameters of electrophysiological, histomorphometric and sciatic functional index evaluations after rat sciatic nerve repair. *Arq Neuropsiquiatr*. 2006; 64(3B): 750-6.