

Periferik Sinir Hasarı ve Dejenerasyonu

Şeniz DEMİRYÜREK^o, A. Tuncay DEMİRYÜREK^{**}, Aydan BABÜL^{*}

Periferik Sinir Hasarı ve Dejenerasyonu

Özet : Akson dejenerasyonu, mekanik, metabolik, toksik, inflamatuvar ve kalıtsal nedenlere ilaveten iskemi/hipoksiye bağlı sinir hasarının sonucunda da görülür. Kesi yapılmış aksonun proksimalindeki şişkin uçlardan salıverilen peptidler ve diğer moleküller hasarlı ortamın mikrosirkülasyonunu etkileyecek lokal değişiklikler oluştururlar. Ayrıca distal sinir segmentinde Wallarian dejenerasyonu olarak bilinen olaylara yol açar. Distal sinir segmentinde kümelenen makrofajlar parçalanmış miyelin artıklarının çoğunu uzaklaştırır. Nörotrofillerin, nöral hücre adezyon moleküllerinin, sitokinlerin ve diğer çözünbilir faktörlerin açığa çıkışı ile bunların reseptörlerinin up-regülasyonu distal segmentte görülen moleküller değişikliklerdir. Aksonal dejenerasyonun Na^+ , Ca^{+2} girişi ve K^+ çıkışı ile birlikte görüldüğü bilinmektedir. Nöron içi konsantrasyonu düşük düzeylerde tutulduğunda, serbest radikallerin nöronal canlılık üzerinde olumlu etkileri olabilir. Akson kesisi ve trofik faktörlerin yokluğu sonrasında artan oksidan strese maruz kalan nöronları ise antioksidanlar koruyabilir. Akson dejenerasyon hızı, düşük sıcaklıkta ve ileri yaşta azalır. Aksonal hasar sadece kas güçsüzlüğü ve duyu kaybı oluşturmaz aynı zamanda adaptasyon değişiklikleri ve nöropatik ağrıya da yol açar. Periferik sinir dejenerasyonunun altında yatan mekanizmaların daha kapsamlı tanımlanması, periferik sinir hasarlarındaki tedavi yöntemlerinin gelişmesinde ve başarılı olmasında etkili olacaktır.

Anahtar kelimeler : Sinir hasarı, dejenerasyon, nöropatik ağrı, oksidatif stres, nitrik oksit

Received : 20.8.2001

Revised : 27.2.2002

Accepted : 2.4.2002

GİRİŞ

Periferik sinir sisteminin (PSS) aksonlarında rejenerasyon yeteneğinin olmasına karşın santral sinir sistemi (SSS) nöronlarının böyle bir özelliği bulunmamaktadır. Periferik nöronlar trofik sinyallerle

Peripheral Nerve Injury and Degeneration

Summary : Axon degeneration occurs as a consequence of various nerve injuries including mechanical, metabolic, toxic, inflammatory, and heritable, as well as ischaemic/hypoxic insults. Axonal endbulbs, structures that form at the proximal end of the transected axons, release peptides and other molecules into the injury milieu where they may exert local actions, including those on microcirculation. Nerve injury leads to changes of the distal nerve segment known as Wallerian degeneration. Macrophages, recruited to the distal segment, remove the vast majority of myelin debris. Molecular changes in the distal segment include the release of neurotrophins, neural cell adhesion molecules, cytokines and other soluble factors and the up-regulation of their receptors. It is known that axon degeneration is associated with influx of Na^+ and Ca^{+2} and efflux of K^+ . Free radicals may have beneficial effects on neuronal survival provided that their intraneuronal concentrations are maintained at low levels. Antioxidants may protect neurons subjected to an oxidative stress following axotomy or trophic factor-deprivation. The rate of axon degeneration is slower at cooler temperatures and with aging. Axonal injury not only induces muscle weakness and loss of sensation but also leads to adaptive changes and neuropathic pain. A better definition of the underlying mechanisms of peripheral nerve degeneration will be effective for the development and successful treatment methods of peripheral nerve injury.

Key Words: Nerve injury, degeneration, neuropathic pain, oxidative stress, nitric oxide

karşı duyarlıdır ve yaralanma sonrasında PSS gliası (Schwann hücreleri) rejenerasyon olan aksonlarda büyümenin hızlanmasına yardımcı eder.

PSS'de miyelinli ve miyelinsiz aksonlar Schwann hücreleri ile kuşatılmış, en dış yüzeyde de bazal lamina

* Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Beşevler, Ankara, TÜRKİYE.

** Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, 27310 Gaziantep, TÜRKİYE.

^o Yazışma Adresi

ile örtülmüştür. Miyelinli aksonlardaki Schwann hücreleri birbirlerinden Ranvier boğumları ile ayrılmış ve her biri ayrı ayrı çok katlı sarmal yaparak, akson boyunca dizilmiştir. Buna karşın bazal lamina, komşu Schwann hücreleri ve aralarındaki Ranvier boğumlarında devamlılık gösterir. Miyelinsiz liflerde ise, birden fazla sinir lifi aynı Schwann hücresi içine gömülü şekilde yerleşmiştir ve tek katlı Schwann hücre kılıfına sahiptir. Bütün periferik sinir lifleri sürekli bazal lamina tüpü içerisinde yer alırlar. Akson kesisi sonrasında, distal aksonal segment giderek dejenere olur ve sonuçta fagosite edilir. Schwann hücreleri aksonla temasını kaybeder, daha sonra geçici olarak proliferasyona uğrayarak bazal lamina tüpü içerisinde bandlar oluşturur. Fonksiyonun yeniden sağlanması için, aksonal hasar olan bölgeden sinir liflerinin bazal lamina tüpü içine doğru yeniden büyümesi gerekir¹.

Nöron dejenerasyonunun mekanizmaları arasında apoptozis ile nörotrofik desteğin kaybı, oksidatif stres ve viral enfeksiyonlar bulunur². Periferik sinir hasarından sonra, nöron ve çevresindeki glia hücreleri morfolojik, metabolik ve biyokimyasal değişimle bu olaya karşı reaksiyon oluştururlar.

Periferik sinir hasarı

Periferik sinir lezyonları, genel ve bölgesel anestezi sırasında en sık rastlanan operasyon komplikasyonlarından biridir. Hasarların çoğunlukla ulnar (%33), brakiyal plexus (%23), birleşik peroneal sinirler (%11) ile lumbosakral köklerde (%16) olduğu görülmüştür³. Bunların oluşumunda direkt mekanik hasarlar, nörotoksik materyalin enjeksiyonu ve termal uygulamalar aracı olabilmektedir. Perioperatif sinir lezyonlarının patogeneğinde rol alan sistemik faktörler arasında hipovolemi, dehidrasyon, hipotansiyon, hipoksi ve elektrolit bozukluğu ve hipotermi sayılabilir. Akut veya kronik kompresyonlarda da, kompresyonun uygulandığı yerdeki Schwann hücreleri hasarlanır ve miyelin segmentlerinin kaybı meydana gelir. Bu durum segmental demiyelinasyon olarak tanımlanır ve distal parçada sinir dejenerasyonu görülür. Hasarın derecesi uygulanan basınçla ve süreyle orantılıdır³.

Hem sinir ezilmesinin ve hem de akson kesisinin,

Wallerian dejenerasyon oluşturmaya karşılık bunların rejenerasyon olasılığında önemli farklılıklar bulunur. Ezilme lezyonu sonrasında, sürekliliği olan bazal lamina, proksimal sinir parçasından hedefe doğru rejenerasyon aksonlara rehberlik yapar. Fakat akson kesisinde proksimal ve distal parçalara ayrılma olayı, reinervasyonu engelleyebilir ve sıklıkla nörom oluşumuna yol açar⁴.

Sinir hasarının sınıflandırılması

Sinir hasarının derecesi, iyileşme potansiyeli ve sinir fonksiyonunun geri dönüşü açısından önemlidir. Bu konuda başlıca iki genel sınıflandırma sistemi vardır: Seddon'a göre sinir hasarları üç grupta tanımlanabilir: nörapraksi, aksonotmezis ve nörotmezis. Sunderland'ın sınıflandırmasında ise hasarlanan konnektif doku komponentine bağlı olarak hasar beş tipe ayrılır. Bu iki sınıflandırma birlikte yorumlanacak olursa; nörapraksi, etkilenen segmentte impuls iletim bozukluğu ile sonuçlanan orta derecedeki nöral zedelenmeyi tanımlar ve geri dönüşümlüdür. Aksonotmezis, endonöriyal ve diğer destekleyici konnektif doku yapılarının korunması ile aksonun fiziksel olarak hasarlanmasında görülür. Fonksiyonel iyileşme Wallerian dejenerasyon ve nöral rejenerasyonun görülme zamanına bağlıdır. Nörotmezis ise bir sinirin hasarlanabileceği en yüksek derecedeki hasarı içerir ve tüm destekleyici konnektif doku yapıları tamamen hasarlanmıştır. Nöron tamamen ayrılmıştır, süreklilik yoktur ve tam olarak fonksiyonel iyileşmesi çok zayıftır. Tabloda Seddon ve Sunderland'ın sınıflandırmaları karşılaştırılmıştır³.

Klinikte, spontan iyileşme için prognoz Sunderland'ın Tip 1 hasarında iyi, Tip 2 hasarında ise kısmen iyidir. Kalan diğer gruplarda prognoz zayıftır ve Tip 4 veya Tip 5 sinir hasarlarında cerrahi müdahale genellikle gereklidir.

PSS dejenerasyonu

Kimyasal nörotoksik maddelerin (akrilamid gibi) uygulanması, mekanik travma (sinir kesisi gibi), yetersiz perfüzyon (iskemi, hipoksi gibi) ve kalıtsal nöropatiler (infantil nöroaksonal distrofi gibi) sonucunda aksonal dejenerasyonlar oluşabilir. Akson kesilmiş nöronların somasında nükleusun eksentrik

Tablo. Sinir hasarlarının sınıflandırılması

Seddon	Sunderland	Fonksiyon	Patolojik temel	Prognoz
Nörapraksi	Tip 1	Fokal ileti bloğu	Lokal miyelin hasarı, başlıca daha geniş lifler. Aksonal bütünlük, Wallerian dejenerasyon yok.	Haftalardan aylara kadar süren iyileşme.
Aksonotmezis	Tip 2	Hasar yerinde ve distalinde sinir iletiminin kaybolması	Wallerian dejenerasyon ile aksonal bütünlüğün bozulması	Aksonal rejenerasyon iyileşme için gereklidir. Orijinal uç organlara ulaşıldığından prognoz iyidir.
	Tip 3	Hasar yerinde ve distalinde sinir iletiminin kaybolması	Aksonal bütünlüğün ve endonöriyal tüplerin kaybı. Perinöriyum ve epinöriyumun korunması	Endonöriyal tüplerin hasarı, hemoraji ve ödem skar oluşturur. Aksonal yanlış yönlendirme. Zayıf prognoz. Cerrahi işlem gerekebilir.
	Tip 4	Hasar yerinde ve distalinde sinir iletimin kaybolması	Aksonal bütünlüğün, endonöriyal tüplerin, ve perinöriyumun kaybı. Epinöriyumun intakt kalması.	Rehber elementlerin total organizasyon bozukluğu. İntranöronal skar ve aksonal yanlış yönlendirme. Zayıf prognoz. Cerrahi işlem gereklidir.
Nörotmezis	Tip 5	Hasar yerinde ve distalinde sinir iletimin kaybolması	Tüm sinirin kesilmesi.	Sinir uçlarına cerrahi modifikasyon gerekir. Prognoz, hasarın yapısına ve lokal faktörlere bağlıdır.

pozisyona migrasyonu ile hücrede şişme, nükleus ve nükleolus büyüklüğünde artma gibi fenotipik değişimler gözlenir, Nissl granülleri kaybolur⁵. Akson kesinin hemen sonrasında proksimal ve distal sinir segmentleri büzülür, aksoplazma sızar ve hasarlanmış membran kollabe olur. Makrofajların hasar sonrasındaki ilk hafta içinde lezyonlu bölgede toplanması, miyelinin lizisine ve fagositozuna, daha sonrasında da Schwann hücresi proliferasyonuna katkıda bulunurlar⁶. Proksimal kısımdan filizlenen sinir lifleri hızla büyüme konisi şeklinde uzayarak distal segmentten geçer ve sonunda hedef dokuları yeniden innerve eder. Periferik sinir zedelenmesi veya kesilmesi sonrasında hasarlanmış sinirin proksimal ve distalinde görülen değişimler farklıdır.

Proksimal segmentteki dönemler

Kesilen aksonda aksoplazmik materyalin birikiminden dolayı proksimal kısım genişler ve aksonal şişkin uçlar (endbulbs) meydana gelir. Bu bölgelerin lokal etki gösteren moleküller için önemli depo yerleri olduğu görülmektedir. Örneğin kalitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP) kesilen sinirin proksimal kısmında 48 saat içinde birikir⁷. Lokal da-

marları dilate etmek üzere şişkin uçlardan endonöriyal aralığa salıverilir. Aksonal şişkin uçta biriken diğer peptidler ise P maddesi (SP), nöropeptid Y ve galanindir⁸. Diğer dokulara benzemeyen bir şekilde sinirler kendi onarımlarına katkıda bulunabilirler: Hasarlı olan aksolar ortama lokal olarak nöropeptidleri salıverebilir veya aksoplazmik transport ile onları depolamaya devam edebilirler. Hasarlanmış nöronlarda depolanan lokal peptidlerin kapillerler dışındaki etkileri tam bilinmemektedir. SP kemoatraktandır, CGRP ise Schwann hücreleri için mitojendir, adenilat siklaz üzerinden etki eder⁸. Her iki peptid de mast hücrelerini degranüle eder. SP ve histaminin indüklediği plazma eksüdasyonu, trofik faktörlerin plazmadan tamir ortamına geçişi için önemli bir yol oluşturur. Galanin ise lokal analjezik peptid olarak etki edebilir⁹. Nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin izoformu olan endotelial NOS (eNOS) da hasar sonrasında erken dönemde proksimal segmente taşınır ve depolanır¹⁰. CGRP gibi NOS'un da lokal vazodilatasyona katkıda bulunduğu ve proksimal kısmın uçundaki aksonal şişkin uç bölgesindeki nörofilamentler ile birlikte lokalize olabildiği bilinmektedir. Sempatik nöronların aksotomisi sonrasında superior servikal gangliyonda galanin ve va-

zoaktif intestinal polipeptid (VIP) gibi peptidlerin arttığı saptanmıştır¹¹.

Proksimal parçada, ufak bir alanda Wallerian dejenerasyonu oluşturulduğunda, ilk Ranvier düğümüne kadar kademeli olarak akson dejenere olur. Hasarlanmış akson, birkaç saat içinde birçok nöronal filizler oluşturur. Bunların sayıları orjinal sinir demetindeki akson sayısından fazladır. Bu olayın herbir nöron hücrelerinin hedef organa ulaşma şansını artırmak için olduğu ileri sürülmüştür⁸. Büyüme konilerinin bazıları 24 saat içinde lezyon bölgesine ulaşır, ikinci ve üçüncü günde fibrotik dokuya giriş yaparlar. Distal sinir segmentine giren büyüme konileri, periferik hedef organa erişmek üzere endonöriyal tüp boyunca uzar⁵.

Distal segmentteki dönemler

Büyümüş bir sinirde kesi olursa distal segmentteki miyelinize ve non-miyelinize hücreler morfoloji ve gen ekspresyonu bakımından hızla, çok sayıda radikal değişimlere uğrar. Bu yanıtların bir kısmı geçici ve komplekstir. Kesiye uğramış sinirin distal segmentinden doğan sinyaller direkt veya indirekt olarak, makrofajların hasarlı sinire toplanması için etki eder¹².

Periferik sinir hasarından etkilenen başlıca iki hedef vardır: bunlar, miyelin kılıfıyla birlikte olan akson ve Schwann hücreleridir. İnflamatuar nöropatilerde sık görüldüğü gibi miyelin kılıfı veya Schwann hücrelerine yönelik ataklar aksonun kısmen korunmasını sağlarken fokal demiyelinizasyona yol açar. Onarım mekanizmaları remiyelinizasyonu ve hızla iletimin tekrar sağlanmasına yöneliktir. Kesidekinin aksine, darbe, aksotomi, iskemi veya inflamasyonla meydana gelen aksonal hasarlar aksonal bütünlüğün bozulmasına ve hasarlanmış bölgenin distalindeki kısmın dejenerasyonuna yol açar. Bu olay Wallerian dejenerasyonu olarak bilinir^{1,4}. Akson dejenerasyonunda, miyelin kılıfı ayrılır, parçalanır ve yıkım ürünleri ile birlikte makrofajların salgısı, distal kısımdaki Schwann hücrelerini proliferere olmaları için stimüle eder. Schwann hücreleri 3. günde maksimum bölünmeye uğrar ve yaklaşık 2 hafta süresince bazal lamina tüpünde sıralanarak Büngner bantları denilen yapıyı oluşturur^{1,4,13}.

Wallerian dejenerasyonuna uğrayan periferik sinirlerde, endoplazmik retikulumun genişlemesinden dolayı internodal akson hacminde artma görülür. Daha sonra bunu mitokondri şişmesi ve aksonal büzülme izler. Bu olay, nörofilamentler ve mikrotübüller gibi hücre içi iskelet yapılarının kaybı, aksooplazmadaki integrasyonun kaybı nedeniyle aksooplazmanın granular, amorf kalıntılara dönüşmesiyle karakterizedir¹⁴. Bir glikoprotein olan distroglikan ve laminin-2 de Schwann hücresi adhezyonunda rol oynar ve bunların artışı akson ile Schwann hücrelerinin etkileşimine bağlıdır. Periferik sinir dejenerasyonunda Schwann hücrelerinin akson ile teması kaybolduğunda distroglikan ve laminin-2 yapımları azalır¹⁵. Kesi yapılmış sinirlerin distal akson segmenti, Schwann hücreleri ile teması olmadığında en fazla bir kaç ay canlı kalabilirler. Schwann hücreleri aksonal rejenerasyon işlemi için gereklidir, çünkü akson uzamasını sağlayacak çeşitli nörotrofik faktörleri sekrete ederler. Gerek denerve Schwann hücreleri ve gerekse endonöriyal fibroblastlar, erken dönemde sinir büyüme faktörü (NGF), interlökin 6 (IL-6), lökemi inhibitör faktör (LIF), insülin-benzeri büyüme faktörü (IGF), geç dönemde ise beyin-kökenli nörotrofik faktör (BDNF) ve nörotrofin 4/5 (NT4/5) gibi nörotrofik faktörleri yüksek miktarlarda salgılama kapasitesine sahiptir. Kesi yapılmış bir sinirin distal segmentindeki Schwann hücreleri, aksonal uzamada önemi olan L1, nöral hücre adhezyon molekülü (N-CAM), N-kaderin gibi adhezyon molekülleri ile p75NGF reseptörünü de sentezlerler. Diğer taraftan, Schwann hücreleri sekresyonunun, kendilerinin canlı kalması için de gerekli olduğu bildirilmiştir¹².

Akson dejenerasyonunda olayı başlatıcı faktörler, aksooplazmik Na⁺, K⁺ ve Ca²⁺ iyon akımlarında da değişiklikler yapar. Örneğin hücre hasarına yol açan olaylar Na⁺ girişi ile, K⁺ çıkışına, dolayısıyla polarizasyon kaybına yol açarlar. Na⁺ ile birlikte, Ca²⁺ girişinin artması, akson dejenerasyonunu artırabilir. Çünkü, aksondaki Ca²⁺ artışı ile birlikte, Ca²⁺-bağımlı fosfolipazlar ve proteazların aktivasyonu, mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun bozulması ve serbest radikal oluşumu görülür. Ca²⁺ ile başlatılan bu olaylar aksooplazmik fonksiyon bütünlüğünün bozulmasına sonuçta lif dejenerasyonuna yol açar. Kesi yapılan periferik sinirlerde membran Na⁺-K⁺-ATPaz

aktivitesinin azalması dolayısıyla değişen Na^+ ve K^+ akımları muhtemelen osmoregülasyonun ve aksosolommal depolarizasyonun kaybindan sorumludur¹⁴.

Akson dejenerasyon hızı yaşa bağlıdır. Yenidoğan hayvanlarda aksotomi genellikle nöron ölümü ile sonuçlanırken, yaşlılarda nöronal hasar sonrasında oluşan Wallerian dejenerasyonunda gecikme görülür. Bu cevap muhtemelen, zedelene sinire infiltrate olan makrofajların ve Schwann hücrelerinin yanıtındaki yavaşlamadan kaynaklanmaktadır. Yaşa paralel olarak, makrofajlarda biriken miyelin artıkları da artar^{5,14}.

Sıcaklığın düşmesi Wallerian dejenerasyonunu yavaşlatır. Bu etki muhtemelen yıkıcı enzimlerin aktivitesindeki ve aksonal transport hızındaki değişime bağlıdır¹⁶. 25 ve 37°C'de yapılan deneylerde, Wallerian dejenerasyonunun üç basamakta gerçekleştiği saptanmıştır. Wallerian dejenerasyonuna yol açan olayların benzeri, 37°C lik ortamın birinci basamağında, aksotomi sonrasında ilk 12 saat içinde görülür. Sıcaklık 25°C'ye düşürüldüğünde bu faz 24 saat gecikebilir. İkinci basamak, aksotomi sonrasında 12-24 saatleri (37°C'de) arasındadır, bu düşük sıcaklıkta (25°C) gecikmez (24 saat) ve Wallerian dejenerasyonu tam belirgin değildir, morfoloji normaldir. Üçüncü basamak, aksotomi sonrasında 24-48 saatleri (25 ve 37°C'de) arasında, 1. ve 2. basamaklar tamamlandıktan sonra görülür. Akson komponentlerinin hızlı enzimatik sindirimi ile birlikte hızlı dejenerasyonun olduğu basamaktır. Katastrofik Ca^{2+} girişi, 1. ve 2. basamakları ayırır. 3. basamaktaki Ca^{2+} girişi lipazlar ve proteazların aktivasyonu ile sonuçlanır¹⁶.

Makrofajlar

Dejenere sinire makrofajlar girmeden önce, Schwann hücreleri miyelin artıklarını kısmen fagosite eder ve lipid damlacıkları oluştururlar. 1.-2. günden itibaren kandaki makrofajlar distal segmente girmeye başlarlar ve iki hafta içinde makrofajlar miyelin artıklarının tamamını temizlerler. Siyatik sinirin ezilmesine bağlı olarak gelişen hasar sonucunda CD8+ makrofajları, hasar bölgesine ve dejenere distal sinir segmentine infiltrate olmaktadır. Bu makrofajların ilk

24 saat içinde görülmelerine rağmen, distal sinir parenkimasına infiltrasyon ikinci haftada gerçekleşir¹⁷.

Wallerian dejenerasyonunda makrofajların kümelene mekanizması kesin olarak bilinmemektedir. Fakat sinir hasarından sonraki dejenerasyon sırasında, endonöriyuma makrofajların birikmesini etkileyen kemotaktik faktörler arasında sitokinler, miyelin, serum komponentleri ve kemokinler sayılmıştır. Örneğin, serum komplement C3 eksikliğinde dejenere sinirlerle makrofajların giremediği Brück ve Friede'in çalışmalarında gözlemlenmiştir¹⁸. Ayrıca kemokinlerden makrofaj kemoatraktant protein olan MCP-1 ve makrofaj inflamatuvar proteini olan MIP-1 α 'nın Schwann hücresindeki yapımında, siyatik sinir kesisi sonrasında artış olduğu saptanmıştır¹⁹. Diğer taraftan makrofajların birikiminde hücre adezyon moleküllerinin rolü ile ilgili çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin makrofajların yüzeylerinde bulunan CD11a/CD18 (LFA-1), "very late antigen-4" (VLA-4) ve CD11b/CD18 (MAC-1, CR3) komplekslerinden VLA-4'ün sinir hasarı sonrasında hücreyel infiltrasyona katılmadığı saptanmıştır²⁰. Araştırmalar, periferik sinirlerde Wallerian dejenerasyonu sırasında makrofajların infiltrasyonunda ve aktivasyonunda serum komplemanının önemli rolü olduğunu ortaya koymuştur²¹. Serum komplemanı tüketildiğinde aksonal rejenerasyon da gecikmektedir. Genelde, miyelinlerin tanınması ve alınması için en az iki yüzey molekülüne gereksinim vardır. Kompleman reseptör tip 3 (CR3) makrofajlarda bulunur ve Wallerian dejenerasyonu sırasında miyelin, kompleman tarafından opsonize edilir. Sinir kesilerinden sonra sıçan CR3'üne karşı MAC-1 antikörünün in vivo uygulanması ile miyelin fagositozunda anlamlı azalma olması, CR3'ün fonksiyonel rolünü desteklemektedir¹⁸. Wallerian dejenerasyonu sırasında, galaktoz-spesifik lektin MAC-2'in yapımı, hem fagosite makrofajlarda hem de Schwann hücrelerinde granulosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) tarafından indüklenir^{22,23}. Sinir hasarı sonrasında GM-CSF'in Schwann hücreleri ve makrofajlar tarafından değil de fibroblastlar tarafından üretilmesi Wallerian dejenerasyonundaki moleküler olaylar dizisinde fibroblastların da önemli rol oynadığını göstermektedir. GM-CSF, makrofajları ve Schwann hücrelerini aktive ederek Wallerian dejenerasyonunun başlatılmasına ve ilerlemesine katkıda bulunurken; IL-10, miyelin uzaklaştırıldıktan sonra

GM-CSF üretimini inhibe ederek Wallerian dejenerasyonunu azaltır²⁴.

Aksonal hasarın ilk gününde başlayan makrofaj birikimi 14.-21. günler arasında pik düzeyine erişir²⁵. Wallerian dejenerasyonu sırasında makrofajlar çok değişik hücresele yanıtlara karışırlar. Aktive olduklarında Schwann hücreleri için mitojen faktörler salıverirler²⁶. Schwann hücreleri miyelin fagositozunu başlatabilmelerine karşın, Wallerian dejenerasyonunun tamamlanması makrofajların fagositik yeteneği ile miyelin ve aksonal artıkların parçalanmasına bağlıdır²⁷. Makrofajlar ayrıca, aksonal rejenerasyonu inhibe edici molekülleri de parçalarlar.

Makrofajlar, bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF), GM-CSF, transforming büyüme faktörü alfa (TGF α), IGF-1, trombosit-kökenli büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), ve interlökin 8 (IL-8) gibi önemli molekülleri rejenerasyon ortamına salıverirler. Makrofajlar denerve olmuş Schwann hücrelerinde muhtemelen indüklenebilir NOS (iNOS) üzerinden NO sentezini stimule ederler. Makrofaj fonksiyonlarının baskılanması rejenerasyonu geciktirir²⁸. Brück ve ark.²⁹ sıçanlarda diklorometilen difosfonat içeren lipozomlarla kandaki makrofajları tüketime uğratarak yaptıkları çalışmada sinir kesilerinden sonra, dejenere sinirlerdeki fagositozun anlamlı olarak azaldığını fakat miyelin parçalanmasının tamamen ortadan kalkmadığını gözlediler. Bu çalışma, miyelinin temizlenmesinde makrofajların predominat rolünü ortaya koymakla birlikte periferik sinir sistemindeki diğer hücrelerin de miyelinin uzaklaştırılmasına katıldığını ve makrofajların görevini kısmen yerine getirebildiklerini göstermiştir. İn vitro şartlarda Schwann hücreleri makrofajların yardımı olmaksızın kısa miyelin segmentlerini parçalayabilmektedirler³⁰. Tüm bu bulgulara rağmen, normal koşullar altında makrofajlar miyelin kalıntılarının büyük kısmını uzaklaştırırlar.

Distal parçadaki moleküler yanıtlar

Periferik sinirlerin kesilmesi veya zedelenmesi distal sinir segmentindeki moleküler kompozisyonda dramatik değişikliklere neden olur. Miyelinize Schwann hücrelerinin aksonla teması kaybolduğunda 2 gün içerisinde miyelin bazik protein (MBP), miyelinin

eşlik ettiği glikoprotein (MAG), protein sıfır (P0), periferik miyelin proteini-22 (PMP22) ve periaksin gibi miyelin komponentlerinin mRNA düzeyleri hızla azalır⁴. Siyatik sinir hasarını takip eden ilk 2 günde akut-faz proteini olarak bilinen ve Schwann hücreleri ile makrofajların migrasyon ve proliferasyonunda rolü olan hemapeksinin mRNA düzeyleri ile sentezi artar ve sinirde birikir. Bu geçici artışı IL-6 kontrol edebilir ve rejenera sinirde ise hemapeksin çıkışı azalır³¹.

Miyelinize Schwann hücrelerinin farklılaşması sırasında öncelikle, N-CAM, hücre adhezyon moleküllü L1, glial maturasyon faktörü- β , glial fibriler asidik protein (GFAP), p75NGF reseptörlerinin ortaya çıkışı ile pre/nonmiyelinize Schwann hücreleri fenotipi oluşur. Bu farklılaşmanın düzenlenmesine, transkripsiyon faktörleri; Pax3, SCIP, c-jun ve Krox-20 katılırlar⁴. Gelişimini tamamlamış sinirlerin kesisi sonrasında ise distal segmentte Krox-20 yapımı azalırken, Krox-24 çıkışı aktive edilir¹².

Dejenere sinir segmentinde nörotrofik faktörler ve bunların reseptörleri artar⁴. Akson kaybı sonrasındaki, Wallerian dejenerasyonu sırasında Schwann hücreleri bölünürler. İn vitro şartlarda glial büyüme faktörleri (GGF)'nin potent Schwann hücresi mitojeni olduğu ve in vivo şartlarda da hücre proliferasyonuna katıldığı saptanmıştır⁴.

Sinir hasarından sonra Schwann hücrelerinde glial kökenli nörotrofik faktör (GDNF) mRNA düzeyi artar¹². Siyatik sinir kesilerinde, neuregulin mRNA'ları artar. β -neuregulinler ErbB2, ErbB3 ve ErbB4 reseptörleri üzerinden etkisini gösterir ve sinir kesisi bu reseptörlerin de hızla artmasına neden olur³².

Wallerian dejenerasyonunda pro- ve anti-inflamatuar sitokinler ile ilgili transkripsiyon olayları ve protein düzeyleri belirgin bir şekilde artış gösterir. Sinir ezilmesinden sonraki ilk 24 saat içinde periferik sinirlerin distal segmentlerinde IL-1 β -mRNA düzeyleri artar bir hafta boyunca yüksek düzeylerde kalır. Schwann hücrelerinde IL-1, NGF sentezini indükler^{33,34}. IL-1 reseptör antagonisti periferik sinir rejenerasyonunu engeller³⁵. IL-1'e ilaveten, sinir zedelenmesinden sonraki ilk günde IL-6- ve IL-10'un

mRNA düzeylerinde de artışlar saptanmıştır. IL-10 mRNA sentezini sadece Schwann hücreleri yaparken, IL-6 proteininin Schwann hücreleri, fibroblastlar ve makrofajlarda lokalize olduğu saptanmıştır^{36,37}. Zedelenme sonrasında bir kaç günlük gecikme ile diğer proinflatuar sitokinler olan IFN β ve IL-12 mRNA'larında da anlamlı artışlar bulunmuştur. IL12 mRNA yapımının, makrofaj fagositik aktivitesinin maksimum olduğu, 7-14 günleri arasında en üst düzeylerine ulaştığı görülmektedir. Normal yetişkin siyatik sinirin, Schwann hücresi sitoplazmasında TGF- β 1, - β 2 ve - β 3 'ün varlığı saptanmıştır^{38,39}. Aksotomide ise TGF- β 1 mRNA düzeyleri artarken, TGF- β mRNA düzeyleri düşmektedir. LIF aksotomiden sonra sentezi artan diğer önemli bir sitokindir. Wallerian dejenerasyonundaki LIF'in hücrel kaynakları bilinmemektedir. Embriyonik Schwann hücreleri kültür ortamında LIF mRNA'sını yüksek düzeyde sentezleyebilmektedir. Sıçanlarda kesinin yapıldığı bölgeye LIF uygulandığında, duysal ve motor nöronların aktivitesinde artış saptanmıştır⁴. Bu çalışmalar, periferik sinir sisteminde sitokin yapımının anlamlı olduğunu göstermektedir.

Wallerian dejenerasyonunda miyelin kökenli lipidler rejenerasyon ve remiyelinizasyon için tekrar kullanılır. Apolipoprotein D (Apo D) ile E (Apo E) lipid bağlayıcı proteinlerdir ve aksotomiden sonra distal segmentte birikirler. Apo E infiltrate makrofajlar tarafından üretilirken, Apo D endonöriyal fibroblastlar tarafından sentezlenir⁴.

Wallerian dejenerasyonu ve hiperaljezi

Siyatik sinir aksotomisi sadece kas güçsüzlüğüne ve duyu kaybına yol açmaz, aynı zamanda nöropatik ağrı da oluşturur. Sıçan ve farelerde siyatik sinirin gevşek halde bağlanmasıyla kronik olarak sıkıştırılması veya bağlanan sinirin distalindeki parçanın Wallerian dejenerasyonuna uğraması, mekanoadalodini ve termal hiperaljezi gelişimine sebep olur⁴⁰. Wallerian dejenerasyonu ile ilişkili termal hiperaljezide iki pik görülmektedir. Bunlardan ilki, hasar sonrasındaki ilk saatler içinde, ikincisi ise 5. ve 7. günler arasında görülür ve TNF- α aktivitesindeki değişimle ilişkilendirilmektedir⁴¹. Bunu destekleyen yönde Wallerian dejenerasyonu sırasında infiltrate

olan makrofajlar, TNF α immunoreaktivitesi gösterirler ve TNF α 'nın intranöral enjeksiyonu nöropatik ağrı oluşturur⁴².

Periferik sinir hasarına duysal nöronlar ve motor nöronların yanıtları

Duysal nöronlardaki akson hasarı nöropeptid ve sitokin yapımlarında değişikliklere yol açar. Siyatik sinir kesisinden sonraki birinci günde geniş ve orta büyüklükteki gangliyonlarda IL-6 mRNA ve proteini bulunur. Bunlarda 2.-4. günler arasında maksimum sentez vardır fakat bir hafta içinde bazal düzeylerinin altına düşer⁴³. Aynı şartlarda, IL-1 β ve TNF α mRNA'larında da artış olur. Duyusal nöronlarda oluşan reaksiyonların başlatılmasında LIF'in de rolü bulunmaktadır. Aksonal hasar sonrasında galanın nöropeptidinde artış olur. LIF geni uzaklaştırılan transjenik farelerde, siyatik sinir lezyonu sonrasında, dorsal kök gangliyonundaki galanın sentezinin azaldığı saptanmıştır^{44,45}. Siyatik sinir kesisinden sonra dorsal kök gangliyon hücrelerinde galanın, nöropeptid Y ve VIP sentezi artarken, SP sentezi azalır⁴⁶. Ayrıca, duysal nöronlarda aksonal hasar NOS enziminde belirgin artışa yol açar^{47,48}. Aksotomize motonöronlarda da nNOS yanında dimetilargininin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi sentezleri de yükselir. DDAH asimetrik dimetil-L-arginin (ADMA) gibi endojen NOS inhibitörlerini de metabolize eden bir enzimdir, dolayısıyla NO oluşumunun kontrolünde rol oynar⁴⁹.

Aksotomize motonöronlar çeşitli yapısal, metabolik ve fonksiyonel değişime uğrarlar. Nissl partiküllerinin dağılması ve çekirdeğin eksentrik pozisyona dönmesi gibi olaylar değişen gen yapımı ile birlikte gelişir. Transmitter yapımı ile ilgili enzimler ve nörofilament proteinleri azalırken, tubulin izoformları, aktin, GAP-43 ve büyüme faktörleri reseptörleri gibi rejenerasyon ile ilgili protein sentezlerinde artış olur. Nörofilament proteini miktarındaki azalma, akson çapı ve iletim hızındaki dramatik azalmayı oluşturur. Akson kesisi yapılmış neonatal motonöronlar hücre ölümüne daha duyarlıdır. Bu şartlarda siliar nörotrofik faktör (CNTF), GDNF, BDNF, NT-3 ve NT4/5 gibi nörotrofik faktörlerin dışarıdan verilmesi hücre ölümünü kısmen önleyebilir⁵⁰. Aksotomize mo-

tonöronlarda sinir büyüme faktörü reseptörü (NGF-R) mRNA'sı ile proteini ve BDNF ve NT-4 için reseptör olan trkB mRNA sentezlerinde artış olur. Bu artış 3. günde maksimuma ulaşır ve üç hafta içinde normale döner. Glutamat reseptör sentezinde değişiklikler ile CGRP immunoreaktivitesinde geçici artışlar da görülür⁴. Uzun süreli aksotomize motonöronların rejenerasyon kapasitesi zamanla azalır⁵⁰. Aksonal hasara cevap olarak perikaryonda oluşan ilk yanıt kromatolizis ve transkripsiyon faktörü c-jun'un artışıdır⁵¹. Büyümeye eşlik eden protein (GAP)-43/B50 ve ara filament proteini periferin, aksonal lezyon sonrasındaki ilk gün içinde artar ve aksonal uzamaya destek olur^{52,53}. Aksotomi sonrasında üç nörofilament geni, NF-L, NF-M, ve NF-H azalırken, sınıf II ve III β -tubulin mRNA'larında ve proteinlerinde artış olur^{4,53}.

Aktive edici transkripsiyon faktörü 3 (ATF3), spesifik olarak sinir hasarı sonrasında indüklenen bir proteindir. Periferik sinir aksotomisi sonrasında hemen hemen bütün dorsal kök gangliyon hücrelerinde ve motonöronlarda artar. Bu nedenle sinir hasarının bir belirleyicisi olarak kabul edilmesi gerektiği ileri sürülmüştür⁵⁴.

Oksidatif stres ve nitrik oksit

Nöronal canlılığın sürdürülmesinde redoks sistemi dar bir sınır içinde tutulmalıdır. Serbest radikallerin nöron içindeki miktarlarının fizyolojik konsantrasyonlarda olmasının nöron canlılığının sürdürülmesinde, çeşitli hücre fonksiyonların düzenlenmesinde etkileri vardır. Diğer taraftan kültür ortamında hidrojen peroksit, süperoksit, peroksinitrit gibi serbest radikal ürünleri, oksidatif hasar şiddetine bağlı olarak apoptozis veya nekroz oluşturarak nöronları öldürebilir. Demir de hidroksil radikali oluşumunu artırarak aynı etkiyi yapar. NGF'den yoksun sempatik nöronlarda apoptozis öncesinde reaktif oksijen ürünlerinin aşırı yapımı ve birikimi görülmektedir⁵⁵. Aksotomi veya trofik faktörlerin yokluğu sonucunda oluşan oksidatif strese karşı antioksidan kullanılması, nöronu koruyabilmekte fakat bu defa da serbest radikallerin aşırı azalmasının nöronda olumsuz etkileri görülmektedir⁵⁶. Periferik sinirin kısmi hasarı sonrasında peroksinitritin arttığı, peroksinitrit temizleyicisi olan ürik asit ile nit-

rotirozin oluşumunun azaltıldığı ve Wallerian dejenerasyonunu ile termal hiperaljezinin hafiflediği gösterilmiştir⁵⁷. Trofik hasarlarda oluşan peroksinitrit gibi reaktif oksijen ürünleri apoptotik hücre ölümüne yol açar⁵⁸. Bir çok oksidatif olayda antioksidan rolü olduğu gösterilmiş olan E vitamini uygulamasının siyatik sinir aksotomisi sonrasındaki denervasyon atrofisini de önleyebildiği saptanmıştır⁵⁹.

Sinir sistemi, Cu-Zn ve Mn süperoksit dismutaz SOD (Cu-Zn, Mn-SOD), glutatyon peroksidaz daha az oranda katalaz içerir. Bazı trofik faktörler nöronal antioksidan mekanizmaları aktive edebilir. Örneğin, NGF'nin glutatyon peroksidaz ve katalaz aktivitelerini arttırdığı gösterilmiştir⁵⁶.

Cu-Zn SOD nöronlarda ve diğer hücrelerde serbest radikalleri detoksifiye ederek hücreyi hasardan koruyan enzimlerden biridir². Cu-Zn SOD'u azaltan olaylarda süperoksit radikali birikimine bağlı oksidatif hasarın ve hücre ölümünün olabileceği görülmektedir^{60,61}. Süperoksitin kendisi yüksek reaktiviteye sahip olmadığından açığa çıkan iki ürünü aracılığı ile etkili olabileceği öne sürülmektedir. Bunlardan ilki, süperoksit radikalının nitrik oksit ile reaksiyona girmesi sonucunda açığa çıkan peroksinitrittir^{62,63}. Diğer ise, gene süperoksitin hidrojen peroksitle reaksiyona girmesi sonucunda açığa çıkan hidroksil radikalidir. Burada Haber-Weiss reaksiyonu ile Fe^{+3} indirgenir⁶⁴. Peroksinitrit oluşumunun süperoksit hasarında esas basamak olduğunu destekleyen kanıtlar bulunmaktadır⁶⁵. Cu-Zn SOD'un azaltılmasıyla oluşan hücre ölümü NOS inhibitörleri ile önlenirken, bu koruyucu etki aşırı L-arjinin ile ortadan kalkmaktadır^{2,61}. Diğer taraftan, NO oluşturucu S-nitrosopenisilamin ve sodyum nitroprusid, Cu-Zn SOD azalmasına bağlı hücre ölümünü potansiyelize etmektedir⁶¹. Hidroksil radikal süpürücüsü N-asetil sistein'in Cu-Zn SOD azalmasına bağlı hücre ölümünü önlememesi, hidroksil radikalının majör rol oynamadığını göstermektedir^{2,61}. Fakat, Cu-Zn SOD azalmasına bağlı hücre ölümünü antiapoptotik bcl-2 sentezi önler⁶¹. Ayrıca, Cu-Zn SOD eksikliği oluşturulan hücrelere IL-1 β ilavesi hücre ölümünü potansiyelize ederken, IL-1 β 'yi bloke eden antikör veya IL-1 reseptör antagonisti uygulanması hücre ölümünü tamamen

önler⁶⁶. Burada IL-1 β muhtemelen NO oluşumunu artırarak hücre ölümünü potansiyelize etmektedir².

Kesi yapılmış periferik sinirlerin proksimal segmentinin şişkin uçlarında eNOS ve nNOS birikmesi lokal NO yapımına neden olurlar. NO'nun sinir hasarı sonrasında bazı lokal etkileri olduğu görülmektedir. Hasardan 14 gün sonra NOS aktivitesindeki artış belirgindir¹⁰. NO, peptidlerle birlikte mikrodamarlar üzerindeki etkisine ilaveten, nöropatik ağrı ve rejeneratif aktiviteyi etkileyebilir⁶⁷⁻⁶⁹. Örneğin, erken dönemde salıverilen NO, hasarlı sinirden mekanosensitif ektojik ağrı akımlarını başlatabilir ve büyüme konilerini çökertebilir⁶⁷. Daha sonraki dönemde Schwann hücreleri ve inflamatuvar hücrelerdeki iNOS tarafından oluşturulan NO ise; miyelin artıklarının parçalanması ve distal sinir kısımlarına aksonun yeniden büyümesi için gerekli olabilir. Çünkü, iNOS bozukluğu olan farelerde Wallerian dejenerasyonu ve sonrasında miyelinli liflerin yeniden büyümesi aşamalarında gecikme olduğu gözlenmiştir⁸.

İzole motor nöronlarda yüksek düzeyde süperoksit yapımı vardır. İnkübasyon ortamına NO donörleri, H₂O₂ veya peroksinitrit ilave edildiğinde de dejenerasyon oluşturur. Motor nöronların oksidatif strese veya kesiye maruz kalmaları, nöronal dejenerasyon yapmaktadır. Bunun mekanizmasında da peroksinitrit oluşumu yer almaktadır⁷⁰.

Periferik sinir hasarıyla gelişen aksonal dejenerasyon kompleks bir olaydır. Dolayısıyla, periferik sinir dejenerasyonundaki basamakların ve mekanizmaların anlaşılması periferik sinir hasarının tedavisi açısından yeni stratejilerin geliştirilmesinde önem taşıyacaktır.

KAYNAKLAR

1. Thanos PK, Okajima S, Terzis JK. Ultrastructure and cellular biology of nerve regeneration, *J. Reconstr. Microsurg.*, 14, 423-436, 1998.
2. Troy CM, Stefanis L, Greene LA, Shelanski ML. Mechanisms of neuronal degeneration: a final common pathway?, *Adv. Neurol.*, 72, 103-11, 1997.
3. Sawyer RJ, Richmond MN, Hickey JD, Jarratt JA. Peripheral nerve injuries associated with anaesthesia, *Anaesthesia*, 55, 980-91, 2000.
4. Stoll G, Müller HW. Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights, *Brain Pathol.*, 9, 313-325, 1999.
5. Verdu E, Ceballos D, Vilches JJ, Navarro X. Influence of aging on peripheral nerve function and regeneration, *J. Peripher. Nerv. Syst.*, 5, 191-208, 2000.
6. Perry VH, Brown MC, Gordon S. The macrophage response to central and peripheral nerve injury. A possible role for macrophages in regeneration, *J. Exp. Med.*, 165, 1218-1223, 1987.
7. Zochodne DW, Allison JA, Ho W, Ho LT, Hargreaves K, Sharkey KA. Evidence for CGRP accumulation and activity in experimental neuromas, *Am. J. Physiol.*, 268, H584-H590, 1995.
8. Zochodne DW. The microenvironment of injured and regenerating peripheral nerves, *Muscle Nerve*, 23, S33-S38, 2000.
9. Verge VM, Xu XJ, Langel U, Hokfelt T, Wiesenfeld-Hallin Z, Bartfai T. Evidence for endogenous inhibition of autotomy by galanin in the rat after sciatic nerve section: demonstrated by chronic intrathecal infusion of a high affinity galanin receptor antagonist, *Neurosci. Lett.*, 149, 193-197, 1993.
10. Zochodne DW, Levy D, Zwiers H, Sun H, Rubin I, Cheng C, Lauritzen M. Evidence for nitric oxide and nitric oxide synthase activity in proximal stumps of transected peripheral nerves, *Neuroscience*, 91, 1515-1527, 1999.
11. Mohny RP, Siegel RE, Zigmond RE. Galanin and vasoactive intestinal peptide messenger RNAs increase following axotomy of adult sympathetic neurons, *J. Neurobiol.*, 25, 108-18, 1994.
12. Mirsky R, Jessen KR. The neurobiology of Schwann cells, *Brain Pathol.*, 9, 293-311, 1999.
13. Son YJ, Thompson WJ. Schwann cell processes guide regeneration of peripheral axons, *Neuron*, 14, 125-32, 1995.
14. LoPachin RM, Lehning EJ. Mechanism of calcium entry during axon injury and degeneration, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 143, 233-44, 1997.
15. Masaki T, Matsumura K, Saito F, Sunada Y, Shimizu T, Yorifuji H, Motoyoshi K, Kamakura K. Expression of dystroglycan and laminin-2 in peripheral nerve under axonal degeneration and regeneration, *Acta Neuropathol. Berl.*, 99, 289-95, 2000.
16. Tsao JW, George EB, Griffin JW. Temperature modulation reveals three distinct stages of Wallerian degeneration, *J. Neurosci.*, 19, 4718-26, 1999.
17. Jander S, Lausberg F, Stoll G. Differential recruitment of CD8+ macrophages during Wallerian degeneration in the peripheral and central nervous system, *Brain Pathol.*, 11, 27-38, 2001.
18. Brück W, Friede RL. The role of complement in myelin phagocytosis during PNS wallerian degeneration, *J. Neurol Sci.*, 103, 182-187, 1991.
19. Taskinen HS, Røytta M. Increased expression of chemokines (MCP-1, MIP-1 α , RANTES) after peripheral nerve transection., *J. Peripher. Nerv. Syst.*, 5, 75-81, 2000.

20. Jander S, Pohl J, Gillen C, Schroeter M, Stoll G. Vascular cell adhesion molecule-1 mRNA is expressed in immune-mediated and ischemic injury of the rat nervous system, *J. Neuroimmunol.*, 70, 75-80, 1996.
21. Dailey AT, Avellino AM, Benthem L, Silver J, Kliot M. Complement depletion reduces macrophage infiltration and activation during Wallerian degeneration and axonal regeneration, *J. Neurosci.*, 18, 6713-22, 1998.
22. Reichert F, Saada A, Rotshenker S. Peripheral nerve injury induces Schwann cells to express two macrophage phenotypes: phagocytosis and the galactose-specific lectin MAC-2, *J. Neurosci.*, 14, 3231-45, 1994.
23. Saada A, Reichert F, Rotshenker S. Granulocyte macrophage colony stimulating factor produced in lesioned peripheral nerves induces the up-regulation of cell surface expression of MAC-2 by macrophages and Schwann cells, *J. Cell. Biol.*, 133,159-167, 1996.
24. Be'eri H, Reichert F, Saada A, Rotshenker S. The cytokine network of wallerian degeneration: IL-10 and GM-CSF, *Eur. J. Neurosci.*, 10, 2707-13, 1998.
25. Avellino AM, Hart D, Dailey AT, MacKinnon M, Ellegala D, Kliot M. Differential macrophage responses in the peripheral and central nervous system during wallerian degeneration of axons, *Exp. Neurol.*, 136, 183-98, 1995.
26. Baichwal RR, Bigbee JW, DeVries GH. Macrophage-mediated myelin-related mitogenic factor for cultured Schwann cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 85, 1701-5, 1988.
27. Griffin JW, George R, Lobato C, Tyor WR, Yan LC, Glass JD. Macrophage responses and myelin clearance during Wallerian degeneration: relevance to immune-mediated demyelination, *J. Neuroimmunol.*, 40, 153-65, 1992.
28. Tanaka K, Zhang QL, Webster HD. Myelinated fiber regeneration after sciatic nerve crush: morphometric observations in young adult and aging mice and the effects of macrophage suppression and conditioning lesions, *Exp. Neurol.*, 118, 53-61, 1992.
29. Brück W, Huitinga I, Dijkstra CD. Liposome-mediated monocyte depletion during wallerian degeneration defines the role of hematogenous phagocytes in myelin removal, *J. Neurosci. Res.*, 46, 477-84, 1996.
30. Fernandez-Valle C, Bunge RP, Bunge MB. Schwann cells degrade myelin and proliferate in the absence of macrophages: evidence from in vitro studies of Wallerian degeneration, *J. Neurocytol.*, 24, 667-679, 1995.
31. Madore N, Camborieux L, Bertrand N, Swerts JP. Regulation of hemopexin synthesis in degenerating and regenerating rat sciatic nerve, *J. Neurochem.*, 72, 708-15, 1999.
32. Carroll SL, Miller ML, Frohnert PW, Kim SS, Corbett JA. Expression of neuregulins and their putative receptors, ErbB2 and ErbB3, is induced during Wallerian degeneration, *J. Neurosci.*, 17, 1642-59, 1997.
33. Lindholm D, Heumann R, Meyer M, Thoenen H. Interleukin-1 regulates synthesis of nerve growth factor in non-neuronal cells of rat sciatic nerve, *Nature*, 330, 658-9, 1987.
34. Heumann R, Lindholm D, Bandtlow C, Meyer M, Radeke MJ, Misko TP, Shooter E, Thoenen H. Differential regulation of mRNA encoding nerve growth factor and its receptor in rat sciatic nerve during development, degeneration, and regeneration: role of macrophages, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, 8735-8739, 1987.
35. Guenard V, Dinarello CA, Weston PJ, Aebischer P. Peripheral nerve regeneration is impeded by interleukin-1 receptor antagonist released from a polymeric guidance channel, *J. Neurosci. Res.*, 29, 396-400, 1991.
36. Murwani R, Armati P. Peripheral nerve fibroblasts as a source of IL-6, TNFalpha and IL-1 and their modulation by IFNgamma, *J. Neurol. Sci.*, 161, 99-109, 1998.
37. Grothe C, Heese K, Meisinger C, Wewetzer K, Kunz D, Cattini P, Otten U. Expression of interleukin-6 and its receptor in the sciatic nerve and cultured Schwann cells: relation to 18-kD fibroblast growth factor-2, *Brain Res.*, 885, 172-81, 2000.
38. Rufer M, Flanders K, Unsicker K. Presence and regulation of transforming growth factor beta mRNA and protein in the normal and lesioned rat sciatic nerve, *J. Neurosci. Res.*, 39, 412-23, 1994.
39. Unsicker K, Strelau J. Functions of transforming growth factor-beta isoforms in the nervous system. Cues based on localization and experimental in vitro and in vivo evidence, *Eur. J. Biochem.*, 267, 6972-5, 2000.
40. Ramer MS, French GD, Bisby MA. Wallerian degeneration is required for both neuropathic pain and sympathetic sprouting into the DRG, *Pain*, 72, 71-8, 1997.
41. Shubayev VI, Myers RR. Upregulation and interaction of TNF α and gelatinases A and B in painful peripheral nerve injury, *Brain Res.*, 855, 83-9, 2000.
42. Wagner R, Myers RR. Endoneurial injection of TNF-alpha produces neuropathic pain behaviors, *Neuroreport*, 7, 2897-901, 1996.
43. Murphy PG, Grondin J, Altares M, Richardson PM. Induction of interleukin-6 in axotomized sensory neurons, *J. Neurosci.*, 15, 5130-8, 1995.
44. Corness J, Shi TJ, Xu ZQ, Brulet P, Hokfelt T. Influence of leukemia inhibitory factor on galanin/GMAP and neuropeptide Y expression in mouse primary sensory neurons after axotomy, *Exp. Brain Res.*, 112, 79-88, 1996.
45. Sun Y, Zigmund RE. Leukaemia inhibitory factor induced in the sciatic nerve after axotomy is involved in the induction of galanin in sensory neurons, *Eur. J. Neurosci.*, 8, 2213-20, 1996.
46. Reimer M, Kanje M. Peripheral but not central axotomy promotes axonal outgrowth and induces alterations in neuropeptide synthesis in the nodose ganglion of the rat, *Eur. J. Neurosci.*, 11, 3415-23, 1999.

47. Verge VM, Xu Z, Xu XJ, Wiesenfeld-Hallin Z, Hokfelt T. Marked increase in nitric oxide synthase mRNA in rat dorsal root ganglia after peripheral axotomy: in situ hybridization and functional studies, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 89, 11617-21, 1992.
48. Zhang X, Verge V, Wiesenfeld-Hallin Z, Ju G, Bredt D, Synder SH, Hokfelt T. Nitric oxide synthase-like immunoreactivity in lumbar dorsal root ganglia and spinal cord of rat and monkey and effect of peripheral axotomy, *J. Comp. Neurol.*, 335, 563-75, 1993.
49. Nakagomi S, Kiryu-Seo S, Kimoto M, Emson PC, Kiyama H. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) as a nerve-injury-associated molecule: mRNA localization in the rat brain and its coincident up-regulation with neuronal NO synthase (nNOS) in axotomized motoneurons, *Eur. J. Neurosci.*, 11, 2160-6, 1999.
50. Gordon T, Fu SY. Long-term response to nerve injury, *Adv. Neurol.*, 72, 185-99, 1997.
51. Leah JD, Herdegen T, Bravo R. Selective expression of Jun proteins following axotomy and axonal transport block in peripheral nerves in the rat: evidence for a role in the regeneration process, *Brain Res.*, 566, 198-207, 1991.
52. Van der Zee CE, Nielander HB, Vos JP, Lopes da Silva S, Verhaagen J, Oestreicher AB, Schrama LH, Schotman P, Gispen WH. Expression of growth-associated protein B-50 (GAP43) in dorsal root ganglia and sciatic nerve during regenerative sprouting, *J. Neurosci.*, 9, 3505-12, 1989.
53. Wong J, Oblinger MM. Differential regulation of peripherin and neurofilament gene expression in regenerating rat DRG neurons, *J. Neurosci. Res.*, 27, 332-41, 1990.
54. Tsujino H, Kondo E, Fukuoka T, Dai Y, Tokunaga A, Miki K, Yonenobu K, Ochi T, Noguchi K. Activating transcription factor 3 (ATF3) induction by axotomy in sensory and motoneurons: A novel neuronal marker of nerve injury, *Mol. Cell. Neurosci.*, 15, 170-82, 2000.
55. Tammariello SP, Quinn MT, Estus S. NADPH oxidase contributes directly to oxidative stress and apoptosis in nerve growth factor-deprived sympathetic neurons, *J. Neurosci.*, 20, RC53, 2000.
56. Castagne V, Gautschi M, Lefevre K, Posada A, Clarke PG. Relationships between neuronal death and the cellular redox status. Focus on the developing nervous system, *Prog. Neurobiol.*, 59, 397-423, 1999.
57. Liu T, Knight KR, Tracey DJ. Hyperalgesia due to nerve injury-role of peroxynitrite, *Neuroscience*, 97, 125-31, 2000.
58. Estevez AG, Spear N, Manuel SM, Radi R, Henderson CE, Barbeito L, Beckman JS. Nitric oxide and superoxide contribute to motor neuron apoptosis induced by trophic factor deprivation, *J. Neurosci.*, 18, 923-31, 1998.
59. Şengün Ş, Babül A. Denervasyon atrofisinde E vitamini rolü, 25. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Elazığ, Bildiri Özetleri, 170, 6-10 Eylül 1999.
60. Troy CM, Shelanski ML. Down-regulation of copper/zinc superoxide dismutase causes apoptotic death in PC12 neuronal cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 91, 6384-7, 1994.
61. Troy CM, Derossi D, Prochiantz A, Greene LA, Shelanski ML. Downregulation of Cu/Zn superoxide dismutase leads to cell death via the nitric oxide-peroxynitrite pathway, *J. Neurosci.*, 16, 253-61, 1996.
62. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 87, 1620-4, 1990.
63. Demiryürek AT, Çakıcı İ, Kızılcık İ. Peroxynitrite: a putative cytotoxin, *Pharmacol. Toxicol.*, 82, 113-7, 1998.
64. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system, *J. Neurochem.*, 59, 1609-23, 1992.
65. Lipton SA, Choi YB, Pan ZH, Lei SZ, Chen HS, Sucher NJ, Loscalzo J, Singel DJ, Stamler JS. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds, *Nature*, 364, 626-32, 1993.
66. Troy CM, Stefanis L, Prochiantz A, Greene LA, Shelanski ML. The contrasting roles of ICE family proteases and interleukin-1beta in apoptosis induced by trophic factor withdrawal and by copper/zinc superoxide dismutase down-regulation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 93, 5635-40, 1996.
67. Hess DT, Patterson SI, Smith DS, Skene JH. Neuronal growth cone collapse and inhibition of protein fatty acylation by nitric oxide, *Nature*, 366, 562-565, 1993.
68. Zochodne DW, Misra M, Cheng C, Sun H. Inhibition of nitric oxide synthase enhances peripheral nerve regeneration in mice, *Neurosci. Lett.*, 228, 71-74, 1997.
69. Levy D, Zochodne DW. Local nitric oxide synthase activity in a model of neuropathic pain, *Eur. J. Neurosci.*, 10, 1846-1855, 1998.
70. Liu Z, Martin LJ. Motor neurons rapidly accumulate DNA single-strand breaks after in vitro exposure to nitric oxide and peroxynitrite and in vivo axotomy, *J. Comp. Neurol.*, 432, 35-60, 2001.