



**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL RAT TRİGEMİNAL NEVRALJİ MODELİNDE
NANOPARTİKÜLE BAĞLANMIŞ KARBAMAZEPİNİN
İNTRANAZAL YOLLA UYGULANMASININ DAVRANIŞSAL
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Can EKER

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

ANKARA

2024



**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL RAT TRİGEMİNAL NEVRALJİ MODELİNDE
NANOPARTİKÜLE BAĞLANMIŞ KARBAMAZEPİNİN
İNTRANAZAL YOLLA UYGULANMASININ DAVRANIŞSAL
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Can EKER

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Halil Kamil ÖGE

ANKARA 2024

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince benden sabrını, tecrübelerini ve cerrahi becerilerini esirgemeyen, kendisinden hem hekimlik hem cerrahlık hem de insan olabilmek konusunda aklımın yettiği kadar faydalanmama anlayış gösteren, bu tezin her aşamasında büyük emeği geçen ve bana her zaman destek olan alicenap ve değerli hocam Prof. Dr. Halil Kâmil ÖGE'ye hürmet, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca bilimsel ve mesleki deneyimlerini benimle paylaşan, cerrahi prensip ve mesleki özgüvenimin oluşmasında büyük emeği olan Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mustafa BERKER ve başta saygıdeğer büyüğüm ve akıl hocam Prof. Dr. Mustafa Servet İNCİ olmak üzere öğretim üyeleri, Sayın Prof. Dr. Burçak BİLGİNER, Prof. Dr. Melike MUT AŞKUN ve Doç. Dr. Ahmet İlkey IŞIKAY'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, eğitimim boyunca beraber çalıştığım bütün araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hem asistanlık dönemim boyunca bana sunduğu katkılar, hem Türk aydınınının omurgalı ve tavizsiz duruşunun sarsılmaz bir timsali olarak bana örnek olması, hem de bu deneyin tüm aşamalarındaki eşsiz katkısı nedeniyle saygıdeğer büyüğüm ve manevi ablam Dr. Öğr. Üyesi Dicle KARAKAYA'ya hayatımın sonuna kadar minnettar olacağımı ifade eder, kendisine sevgi ve saygılarımı sunarım.

Tezimde kullandığım nanopartikülü sentezlememe büyük oranda yardım etmekle kalmayıp, merakımın peşinden gitme imkanı da sağlayan Hacı Bayram Veli Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Murat DEMİRBİLEK'e ve ön çalışma aşamasından itibaren desteğe her ihtiyaç duyduğumda elini uzatmaktan bir an bile çekinmeyen, Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Mehmet Ali ONUR'a ve Sayın Doç. Dr. Esin AKBAY ÇETİN'e sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmanın gerçekleştirilmesindeki destek ve katkılarından dolayı değerli dostlarım Uzm. Dr. İzzet Türkalp AKBAŞLI, Uzm. Dr. Ceylan KILIÇTÜRK ve Uzm. Dr. Adem Safa KORGUN ile araştırma görevlileri Dr. Ayşe Gül ÖZER, Dr. Tolga HANCI, Dr. Hacer SERDAR, Dr. Bahadır KAYA, Dr. Fatih Bera GÜRTAŞ, Dr. Erdem EMİNOĞLU ve Dr. Mustafa BAŞIBÜYÜK'e teşekkür ederim. Onların yardımı olmasaydı, bu tez olmazdı.

Son olarak; hayatıma anlam katan, bana mücadele etmeyi ve dik durmayı öğreten, annem Füsün ÖZARI'ya, bana doğayı, insanı, güzelliği görmeyi öğreten, babam Vedat EKER'e, dünyanın yarısı, canım kardeşim Barış EKER'e destekleri ve böylesine güzel insanlar oldukları için teşekkür ediyorum.

Tezimi, ismini taşımaktan her zaman büyük gurur duyduğum Fenerbahçe efsanesi rahmetli "Sinyor" Can BARTU'ya ve çocukluğumun kahramanı Spike Spiegel'in başrolünde olduğu kült anime dizisi Cowboy Bebop'un yaratıcısı Shinichirō WATANABE'ye ithaf ediyorum.

ÖZET

Eker, C. Deneysel rat trigeminal nevralji modelinde nanopartiküle bağlanmış karbamazepinin intranazal yolla uygulanmasının davranışsal etkilerinin incelenmesi, **Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, Ankara 2024**

Giriş ve Amaç: Trigeminal nevralji (TN), ani başlayan, tekrarlayan ve tek taraflı elektrik şoku benzeri ağrılarla karakterize bir nörolojik rahatsızlıktır. Ağrı, trigeminal sinirin bir veya daha fazla dalıyla sınırlıdır ve genellikle zararsız uyaranlarla tetiklenir. Yıllık insidansı 4.3/100.000 olup, 80 yaş üstünde bu oran 45/100.000'e yükselir.

TN tedavisinde birinci basamak, altın standart olarak kabul edilen oral karbamazepindir (KBZ). Başlangıçta %90'ın üzerinde tedavi yanıtı sağlasa da, uzun süreli kullanımda somnolans, hiponatremi ve nadiren Stevens-Johnson Sendromu gibi ciddi yan etkilere yol açabilir. Ayrıca KBZ, otoindüksiyonla kendi metabolizmasını hızlandırarak etkinliğini kaybeder ve tedaviye yanıt azalır.

Bu dezavantajları aşmak için biyoyararlanımı artıran alternatif ilaç taşıma sistemleri geliştirilmiştir. Bu bağlamda, KBZ'nin kitosan bazlı nanopartiküller (NP) içinde formüle edilerek intranazal yolla uygulanması, kan-beyin bariyerini daha etkin geçebilmesi ve kontrollü salınım sağlaması nedeniyle yeni bir tedavi yaklaşımı olarak incelenmiştir. Kitosan, biyouyumluluğu ve mukozal bariyerlerden ilaç taşınmasını kolaylaştırma özellikleriyle tercih edilmiştir.

Bu çalışmada, KBZ yüklü kitosan nanopartiküllerin in vivo etkinliği, trigeminal nevralji modeli oluşturulmuş sıçanlarda mekanik allodiniye yanıtların Von Frey filamanları kullanılarak davranışsal olarak değerlendirilmesiyle test edilmiştir.

Gereç ve Yöntem: İn vitro aşamada, KBZ yüklü nanopartiküller sentezlendi, termogravimetrik analizleri yapıldı, yükleme verimleri ve salım profilleri belirlendi. Nanopartiküllerin boyut dağılımları ve morfolojik özellikleri incelendi.

İn vivo çalışmada, 30 erkek Sprague-Dawley sıçan kullanılarak trigeminal nevralji modeli oluşturuldu ve 5 gruba ayrıldı: sham grubu, kontrol grubu ve deney grupları. Deney gruplarına intranazal yolla tek doz olarak boş kitosan nanopartikülü, 2 mg/kg KBZ ve 2 mg/kg'a eşdeğer KBZ yüklü kitosan nanopartikülü verildi. Mekanik allodiniye yanıtlar Von Frey filamanlarıyla preop, postop ve belirli saatlerde ölçüldü. Denekler 28. günde sakrifiye edildi; doku örneği alınmadı.

Bulgular: İn vitro çalışmalarda, KBZ içeren 75.2 ± 12.9 nm çapında kitosan nanopartikülleri başarıyla sentezlendi. İn vivo çalışmalarda, trigeminal nevralji modeli başarıyla oluşturuldu. Boş kitosan nanopartikülü verilen grupta

mekanik allodiniye yanıt eşik değerinde anlamlı değişiklik olmadı. KBZ verilen grupta, ağrı eşik değeri 1. ve 2. saatlerde yükseldi, 4. saatte eski seviyesine döndü. KBZ yüklü kitosan nanopartikülü verilen grupta ise ağrı eşik değeri 1. saatten itibaren artmaya başladı, 4. saatte ilk pikini yaptı, 24. saatte ikinci pikini yaparak 36. saate kadar yüksek kaldı ve 48. saatte eski seviyesine döndü. Nanopartikül içeren KBZ'nin etkisinin süresi ve şiddetinin daha yüksek olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Sonuç: Sıçan trigeminal nevralsi modelinde, intranazal yolla uygulanan KBZ yüklü kitosan nanopartikülleri, etki süresi ve kuvveti açısından medikal tedavi için alternatif bir yol olabilir. Bu ön çalışmanın ardından, santral sinir sistemi dokularının incelenmesini de içeren devam çalışmaları planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: trigeminal nevralsi, dION-CCI, karbamazepin, kitosan, nanopartikül

Bu çalışma Hacettepe BAP tarafından desteklenmiştir.

ABSTRACT

Eker, C. Investigation of the behavioral effects of intranasally administered carbamazepine conjugated with nanoparticles in an experimental rat model of trigeminal neuralgia, **Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Neurosurgery, Ankara, 2024**

Introduction and Aim: Trigeminal neuralgia (TN) is a neurological disorder characterized by sudden onset, recurrent, unilateral electric shock-like pains. The pain is confined to one or more branches of the trigeminal nerve and is typically triggered by innocuous stimuli. The annual incidence is 4.3 per 100,000, increasing to 45 per 100,000 in individuals over 80 years of age.

The first-line treatment for TN is oral carbamazepine (CBZ), considered the gold standard. While CBZ initially provides a treatment response in over 90% of patients, long-term use often leads to side effects such as somnolence and hyponatremia, and rarely to serious adverse effects like Stevens-Johnson Syndrome. Additionally, CBZ loses its efficacy due to autoinduction that accelerates its own metabolism, resulting in decreased treatment response.

To overcome these disadvantages, alternative drug delivery systems enhancing bioavailability have been developed. In this context, formulating CBZ within chitosan-based nanoparticles and administering it intranasally has been investigated as a new therapeutic approach, as it can more effectively cross the blood-brain barrier and provide controlled release. Chitosan was chosen for its biocompatibility and its ability to facilitate drug transport across mucosal barriers.

In this study, we aimed to test the *in vivo* efficacy of CBZ-loaded chitosan nanoparticles by behaviorally evaluating the responses to mechanical allodynia in rats with a trigeminal neuralgia model using Von Frey filaments.

Materials and Methods: In the *in vitro* phase, CBZ-loaded nanoparticles were synthesized, thermogravimetric analyses were performed, and loading efficiencies and release profiles were determined using UV-Vis spectroscopy. The size distributions of the nanoparticles were analyzed with a Zeta Sizer, and their morphological properties were examined via electron microscopy.

In the *in vivo* study, trigeminal neuralgia was induced in 30 male Sprague-Dawley rats, which were divided into five groups: a sham group, a control group, and three experimental groups. The experimental groups received a single intranasal dose of either empty chitosan nanoparticles, 2 mg/kg CBZ, or CBZ-loaded chitosan nanoparticles equivalent to 2 mg/kg CBZ, administered 24 hours after infraorbital nerve ligation. Responses to mechanical allodynia were measured using Von Frey filaments preoperatively, postoperatively, and at specified time points (1, 2, 4, 6, 12, 24, 36, and 48 hours after drug administration). All subjects were sacrificed on the 28th day; no tissue samples

were collected as the experiment focused solely on behavioral response assessment.

Results: In vitro studies demonstrated that chitosan nanoparticles containing CBZ with a diameter of 75.2 ± 12.9 nm were successfully synthesized. In vivo studies confirmed that the trigeminal neuralgia model was successfully established in all groups except the sham group. In the group administered empty chitosan nanoparticles, there was no significant change in the mechanical allodynia response threshold starting from postoperative 24 hours. In the group given CBZ alone, the pain threshold increased at the 1st and 2nd hours but returned to baseline by the 4th hour. In the group receiving CBZ-loaded chitosan nanoparticles, the pain threshold began to increase from the 1st hour, reached the first peak at the 4th hour, made a second peak at the 24th hour, remained elevated until the 36th hour, and returned to baseline at the 48th hour. Statistical analyses showed that the duration and intensity of the effect were significantly higher for CBZ loaded in nanoparticles compared to CBZ alone.

Conclusion: In the rat trigeminal neuralgia model, intranasally administered CBZ-loaded chitosan nanoparticles may represent a potential alternative route for medical treatment due to their extended duration and increased strength of effect. Following this preliminary study, which involved only behavioral measurements and evaluations, we plan to conduct follow-up studies with different protocols that include examination of central nervous system tissues.

Key Words: trigeminal neuralgia, dION-CCI, carbamazepine, chitosan, nanoparticle

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
RESİM VE ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 TRİGEMİNAL SİNİR.....	3
2.1.1. Trigeminal Sinir Embriyolojisi	
2.1.2 Trigeminal Sinir Anatomisi	
2.1.2.1 Oftalmik sinir anatomisi	
2.1.2.2 Maksiller sinir anatomisi	
2.1.2.3 Mandibular sinir anatomisi	
2.1.2.4 Trigeminal sinirin sempatik ve parasempatik lifleri	
2.2 TRİGEMİNAL NEVRALJİ.....	14
2.2.1 Trigeminal Nevralji Tarihçesi	
2.2.2 Trigeminal Nevralji Tanımı ve Sınıflandırmaları	
2.2.3 Trigeminal Nevralji Epidemiyolojisi	
2.2.4 Semptomatoloji	
2.2.5 Patofizyoloji	
2.2.6 Trigeminal Nevraljinin Yönetimi ve Tedavisi	
2.2.6.1 Farmakolojik tedavi yöntemleri	
2.2.6.2 Perkütan tedavi yöntemleri	
2.2.6.3 Mikrovasküler dekompresyon	
2.2.6.4 Stereotaktik radyocerrahi	
2.3 KARBAMAZEPİN.....	28
2.3.1 Karbamazepinin Metabolizması ve Etki Mekanizması	
2.3.2 Karbamazepinin Trigeminal Nevralji Tedavisinde Kullanımı ve Yan Etkileri	

2.4 İLAÇ UYGULAMA YOLU OLARAK İNTRANAZAL YOL.....	32
2.4.1. Burun-beyin yolu ve aşılması gereken zorluklar	
2.4.1.1. Mukus tabakası	
2.4.1.2. Nazal epitel	
2.4.1.3 Lamina propria	
2.5 KİTOSAN.....	38
2.5.1. Kitosanın Tarihçesi ve Kaynakları	
2.5.2 Kitosanın Yapısı	
2.5.3 Kitosanın Antimikrobiyal Etkisi	
2.5.3.1 Kitosanın antibakteriyel etkisi	
2.5.3.2 Kitosanın antifungal etkisi	
2.5.4 İlaç Dağıtıcı Sistem Olarak Kitosan Nanopartikülü	
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	49
3.1 KNP VE CBZ-KNP'LERİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU.....	49
3.2 SIÇAN TRİGEMİNAL NEVRALJİ MODELİNİN OLUŞTURULMASI.....	51
3.2.1. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları	
3.2.2. Deney Grupları	
3.2.3. Cerrahi Prosedür	
3.2.4. İlaç Uygulanması	
3.2.5. Davranışsal Değerlendirme	
3.2.6. Sakrifikasyon	
3.3 VERİLERİN ANALİZİNDE KULLANILAN İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER.....	59
4. BULGULAR.....	62
4.1 IN VITRO SONUÇLAR.....	62
4.2 IN VIVO SONUÇLARIN İSTATİSTİKSEL ANALİZİ.....	69
5. TARTIŞMA.....	98
6. SONUÇ.....	106
7. KAYNAKLAR.....	111

SİMGELER VE KISALTMALAR

AD: Asetilasyon Derecesi

AEİ: Antiepileptik İlaç

AİR: Advers İlaç Reaksiyonu

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

CBZ: Karbamazepin

CYP3A4: Sitokrom P₄₅₀ A4

CYP3A5: Sitokrom P₄₅₀ A5

CYP2B6: Sitokrom P₄₅₀ B6

CYP2C8: Sitokrom P₄₅₀ C8

DD: Deasetilasyon derecesi

dION-CCI: Distal İnfraorbital Sinir Kronik Daraltma Hasarı

EDTA: Etilen Diamin Tetraasetik Asit

EE: Enkapsülasyon Etkinliği

EPHX1: Mikrozomal Epoksit Hidrolaz 1

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

GABA: Gama Aminobütirik Asit

GKRS: Gamma Knife Radyocerrahisi

IHS: Uluslararası Baş Ağrısı Topluluğu (*International Headache Society*)

İDS: İlaç Dağıtım Sistemi

İTN: İdiyopatik Trigeminal Nevralji

KNP: Kitosan Nanopartikülü

KBZ: Karbamazepin

LSI: Logaritmik Uyaran Yoğunluğu

MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme

MS: Multipl Skleroz

MUC5AC: Müsin 5AC

MUC5B: Müsin 5B

NP: Nanopartikül

NVÇ: Nörovasküler Çartışma

PBS: Fosfat tamponlu salin

PWT: Pati Çekme Eşiği (*paw withdrawal threshold*)

QST: Kantitatif Duyusal Testler

REZ: Kök giriş bölgesi (*root entry zone*)

SEM: Taramalı Elektron Mikroskopu

siRNA: küçük interferan RNA

SJS: Stevens-Johnson Sendromu

STN: Sekonder Trigeminal Nevralji

SUNHA: Kısa Süreli Tek Taraflı Nevraljiform Baş Ağrısı Atağı

TGA: Termogravimetrik Analiz

TN: Trigeminal Nevralji

TPP: Tripolifosfat

TS: Trigeminal Sinir

UGT: UDP-glukuronosiltransferaz

YV: Yükleme Verimi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. 6-7 haftalık bir embriyonun lateralden görünümü

Şekil 2.2. 8 haftalık insan embriyosunun görünümü

Şekil 1.3: Trigeminal sinirin çekirdekleri ve ponstan çıkışı

Şekil 2.4: Trigeminal sinirin ponstan çıkışını, sisternal segmentini ve Meckel cave'e girişini gösteren anatomik kesit.

Şekil 2.5: Çatısı kaldırılmış halde gözüken Meckel cave'de trigeminal sinirin seyri.

Şekil 2.6: Trigeminal sinirin 3 ana dalı.

Şekil 2.7: Oftalmik sinirin orbitadaki seyri ve dalları.

Şekil 2.8: Maksiller sinirin seyri ve dalları.

Şekil 2.9: Mandibular sinirin seyri ve dalları.

Şekil 2.20. Karbamazepinin moleküler yapısı

Şekil 2.31. Burun epitelinin anatomisi ve bu bariyeri aşan ana yol

Şekil 4.12. Nanopartiküller ile burun-beyin yolu arasındaki etkileşim

Şekil 2.13. Selüloz, kitin ve kitosanın kimyasal yapıları.

Şekil 3.1. Operasyonda kullanılan ekipmanlar ve operasyon masası

Şekil 3.2. Ameliyat pozisyonu.

Şekil 3.3. İlaç uygulamasında kullanılan mikropipet ve ilaç uygulanması

Şekil 3.4. Ölçümlerde kullanılan Von Frey filaman seti

Şekil 3.5. Negatif ve pozitif ölçüm demonstrasyonları.

Şekil 4.1. KNP ve KBZ yüklü KNP'lerin SEM fotoğrafları

Şekil 4.2. KNP (A) ve KBZ-KNP'lerin (B) Zeta Sizer sonuçları.

Şekil 4.3. KNP ve KBZ-KNP'lerin TGA sonuçları

Şekil 4.4. KBZ kalibrasyon eğrisi

Şekil 4.5. Zamana bağlı KBZ-KNP'lerden kümülatif KBZ salımı.

Şekil 4.6. KBZ salım kinetik modelleri

Şekil 4.7. KNP ve KBZ-KNP'lerin 72 saat degradasyonları.

Şekil 4.8: Preoperatif dönem LSI ölçülerinin postoperatif dönemle karşılaştırılması

Şekil 4.9. Sham grubunun LSI seviyelerinin zamansal değişim grafiği

Şekil 4.10. Kontrol grubunun LSI seviyelerinin zamansal değişim grafiği.

Şekil 4.11. KNP grubunun LSI seviyelerinin zamansal değişim grafiği.

Şekil 4.12. KBZ grubunun LSI seviyelerinin zamansal değişim grafiği.

Şekil 4.13. KBZ-KNP grubunun LSI seviyelerinin zamansal değişim grafiği

Şekil 4.14. KBZ ve KBZ-KNP gruplarının ilk 3 gün karşılaştırılması.

Şekil 4.15. 5 denek grubunun tüm deney süresince mekanik allodiniye yanıt eşiklerinin zamana bağlı değişimi



TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1: Burchiel yüz ağrısı sınıflaması.

Tablo 2.2: IASP trigeminal nevralji sınıflaması.

Tablo 2.3: ICHD-3 trigeminal nevralji sınıflaması.

Tablo 2.4: Farklı tiplere göre sınıflandırılmış KBZ advers reaksiyonları

Tablo 2.5: Kitin ve kitosan kaynakları

Tablo 2.6: Kitosan ve türevlerinin bazı biyolojik uygulamaları

Tablo 2.7: Kitosan nanopartiküllerinin (KNP) en yaygın kullanılan şekillerinin özellikleri.

Tablo 3.1 Von Frey filamanları hedef kuvvet-LSI dönüşüm tablosu

Tablo 4.1: Preoperatif dönemde deneklerin LSI türünde ölçüm sonuçları

Tablo 4.2: Postoperatif 24. saat deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

Tablo 4.3: İlaç uygulaması 24. saat deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

Tablo 4.4: İlaç uygulaması 7. gün deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

Tablo 4.5: İlaç uygulaması 14. gün deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

Tablo 4.6: İlaç uygulaması 28. gün deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

Tablo 4.7: Preoperatif dönemde yapılan ölçümlerinin tek yönlü ANOVA istatistik sonuçları.

Tablo 4.8: Preoperatif dönem Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları

Tablo 4.9: Postop 24. saatte yapılan ölçümlerinin tek yönlü ANOVA testi sonuçları.

Tablo 4.10: Postoperatif dönem Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları.

Tablo 4.11: Postoperatif dönemde SHAM grubu çıkarıldıktan sonra yapılan tek yönlü ANOVA testi sonuçları.

Tablo 4.12: Postoperatif dönemde SHAM grubu çıkarıldıktan sonra yapılan Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları

Tablo 4.13: Preoperatif dönem LSI ölçülerinin postoperatif dönemde Pearson korelasyonu ve t-testi ile düşüşlerinin istatistiksel değerlendirmeleri.

Tablo 4.14: İlaç uygulamasının 24. saatinde LSI ölçümlerinin tek yönlü ANOVA testi sonuçları.

Tablo 4.15: İlaç uygulamasının 24. saatinde LSI ölçümlerinin Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları

Tablo 4.16: İlaç uygulamasının 7. gününde LSI ölçümlerinin tek yönlü ANOVA testi sonuçları.

Tablo 4.17: İlaç uygulamasının 7. gününde LSI ölçümlerinin Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları

Tablo 4.18: İlaç uygulamasının 14. gününde LSI ölçümlerinin tek yönlü ANOVA testi sonuçları.

Tablo 4.19: İlaç uygulamasının 14. gününde LSI ölçümlerinin Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları

Tablo 4.20: İlaç uygulamasının 28. gününde LSI ölçümlerinin tek yönlü ANOVA testi sonuçları.

Tablo 4.21: İlaç uygulamasının 28. gününde LSI ölçümlerinin Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları

1.GİRİŞ

TN, tekrarlayan, tek taraflı, kısa süreli elektrik şoku benzeri ağrılarla karakterize edilen ve zararsız uyaranlar, örneğin rüzgar veya diş fırçalama ile tetiklenebilen, ani başlayan ve sonlanan bir nörolojik rahatsızlıktır. Ağrı, genellikle trigeminal sinirin bir veya daha fazla dalıyla sınırlıdır. Bu keskin, ataklar halinde gelen ağrılara ek olarak, etkilenen sinirlerin innervasyon sahasında devamlı özellik gösteren orta şiddette bir ağrı da görülebilir. TN, primer bir durum olarak ortaya çıkabileceği gibi, multipl skleroz (MS) gibi başka bir tanı konmuş hastalığa sekonder olarak da gelişebilir.

Günümüzde TN tedavisinde birinci basamak, altın standart tedavi olan oral KBZ ile medikal tedavidir. Başlangıçtaki tedavi yanıtı %90'ın üzerinde olmasına rağmen, tedavinin ilk 9-13 ayında hastaların %25'inde somnolans, hiponatremi^[1], taşikardi, hipertansiyon ve Stevens-Johnson Sendromu^[2] gibi ciddi yan etkiler görülmektedir. Ayrıca, KBZ hem sistemik eliminasyona uğrar hem de kendisini yıkan sitokrom enzimlerini indükleyerek (otoindüksiyon) hızlı bir şekilde etkisini kaybeder ve maksimum doza rağmen yetersiz ağrı sağaltımına neden olur. Bu durum, hastaları RF rizotomi, Gamma Knife ya da cerrahi gibi tedavi yöntemlerine yönlendirmektedir. Bu yöntemlerin hiçbirinin ağrı sağaltımında kalıcı bir başarısı olmadığı gibi, hiçbirinde başarı oranı da %100 değildir. Ayrıca mikrovasküler dekompresyon cerrahisi sadece nörovasküler çatışma (NVÇ) olduğu gösterilebilen hastalara uygulanabilmektedir.

KBZ'nin oral alınmasının neden olduğu bu dezavantajları aşmak amacıyla, sistemik ilk geçiş etkisini atlayarak biyoyararlanımı artıran alternatif ilaç taşıma sistemleri üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Bu kapsamda, KBZ'nin kan-beyin bariyerini (KBB) daha etkin bir şekilde geçebilen ve kontrollü salınım sağlayan nanopartiküller içinde formüle edilerek intranazal yolla uygulanması, TN tedavisinde yeni bir yaklaşım olarak incelenmiştir. Bu uygulama, KBZ'nin etkinliğini artırırken, sistemik yan etkileri en aza indirme potansiyeline sahiptir.

Bu çalışmada, KBZ'nin kitosan bazlı nanopartiküller içinde kapsüllendiği ve intranazal yolla uygulanarak ilk geçiş metabolizmasını atlayarak santral sinir sistemine (SSS) ilaç girişinin artırıldığı bir formülasyon geliştirilmiştir. Kitosan, biyoyumluluğu ve mukozal bariyerlerden ilaç taşınmasını kolaylaştırma yeteneği yanında mukoadesiv özelliği ile mukosiliyer klirens karşı direnç gösterebilmesi nedeniyle tercih edilmiştir. Nanopartiküllerin boyut dağılımları Zeta Sizer ile, morfolojik özellikleri ise taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile analiz edilmiştir. Ayrıca, KBZ'nin yükleme verimi ve enkapsülasyon etkinliği belirlenmiştir.

KBZ yüklü nanopartiküllerin in vivo etkinliği, trigeminal nevralji modeli oluşturulmuş 30 adet 8 haftalık erkek Sprague-Dawley sıçanda test edilmiştir. Model, Von Frey filamanları kullanılarak mekanik allodiniye karşı davranışsal yanıtlardaki değişiklikler ölçülerek doğrulanmıştır. Sonrasında sıçanlara, ameliyatın yapıldığı taraftan, 2 mg/kg dozunda KBZ içeren nanopartiküller tek doz intranazal uygulanmış ve 28 günlük bir süre boyunca belirli zaman aralıklarında mekanik uyarılara verdikleri yanıtlar değerlendirilerek davranışsal gözlemler yapılmıştır.

Bu çalışma, Liu ve meslektaşlarının epilepsi tedavisinde kullanılmak üzere karbamazepin yüklü karboksimetil kitosan nanopartikülleri geliştirdikleri ve bu nanopartiküllerin farmakokinetik özelliklerini belirledikleri önceki çalışmalar^[3], ve Grcic ve meslektaşlarının spray dryer yöntemi ile karbamazepin yüklü kitosan ve selüloz nanopartiküller hazırlayıp in vitro karakterize ettikleri çalışmalardan^[4] temel almıştır. Bu araştırma, nanopartikül tabanlı ilaç taşıma sistemlerinin anlaşılmasını ve uygulanmasını ilerleterek trigeminal nevralji hastaları için daha etkili ve sürdürülebilir bir tedavi seçeneği sunulmasının mümkün olup olmadığı hakkında bir temel oluşturmayı amaçlamaktadır.

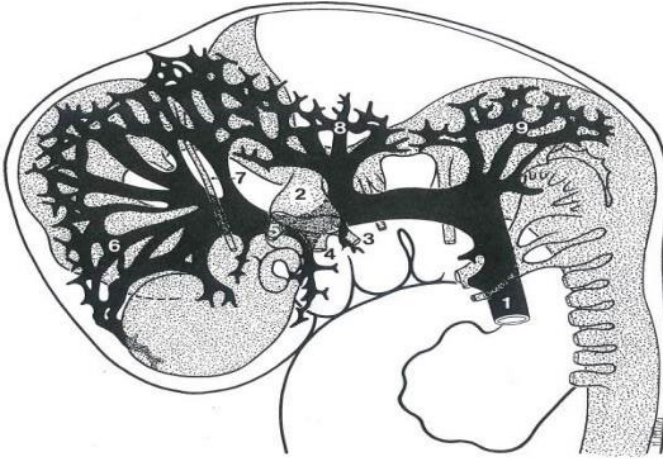
2.GENEL BİLGİLER

2.1. TRİGEMİNAL SİNİR

2.1.1. Trigeminal Sinir Embriyolojisi

Ektodermden köken alan trigeminal sinir, nöral plağın kalınlaşması yoluyla oluşan nöral oluğun gelişmesiyle ortaya çıkar. Nöral oluğun kenarları medial yönde ilerleyerek birleşir ve tüm nöral yapılara kaynaklık eden nöral tüpü oluşturur. Nöral plağın dış sınırı boyunca yer alan şerit şeklindeki yapılar, nöral krista hücreleri olarak adlandırılır. Bu hücreler, spinal ganglionların pseudounipolar hücrelerine farklılaşan sürekli bir bant halinde birleşirler. Tüm periferik duysal nöronlar ve sinirler nöral kristadan köken almaktadır [5][6][7].

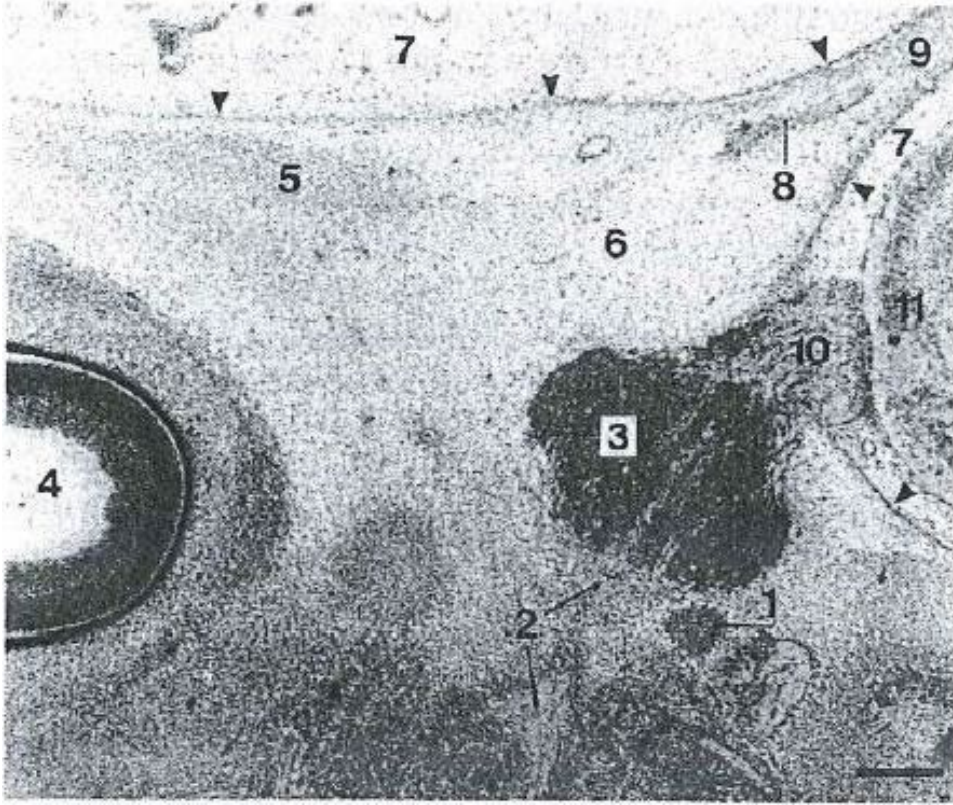
Embriyogenezin 6. haftasında trigeminal sinir ve dalları, iyi gelişmiş olup zengin bir pial vasküler ağ ile çevrelenmiştir (Şekil 2.1). Trigeminal ganglion, mezenşim ile çevrili olarak gözün dorsalinde konumlanmıştır [6][8].



1. **Şekil 2.1.** 6-7 haftalık bir embriyonun lateralden görünümü [4]

1: Primer kafa veni, 2: trigeminal sinir, 3: mandibular sinir, 4: maksiller sinir, 5: oftalmik sinir, 6: ön dural pleksus, 7: troklear sinir, 8: orta dural pleksus, 9: arka dural pleksus

Embriyogenezin 8. haftasında trigeminal sinir, mezenşim ile çevrelenmiş olup meninksler daha ileri düzeyde gelişim göstermiştir. Pial vasküler ağ belirgin hale gelmiştir ve subaraknoid boşluk farklılaşmıştır. Hücreler, "dural sınır tabakası" olarak adlandırılan çok hücreli periferik bir tabaka ile sınırlanmış geniş boşluklara yayılmıştır (Şekil 2.2) [8].



Şekil 2.2 8 haftalık insan embriyosunun görünümü [8, 25]

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

12. haftada, Meckel boşluğunu oluşturan dural kese, arka kısmında iç kulak kıkırdaklarının yükselmesiyle yetişkin formunu alır. Petröz kemiği oluşturacak kıkırdakların büyümesi sonucunda, trigeminal sinirin oryantasyonu değişir, posterior fossada yükselir ve sonrasında kavum trigeminaleye iner. Dural sınır tabakasının altında, mezenşimal hücreler farklılaşarak bu tabakaya paralel lifli demetler oluşturur ve mezenşimal boşluğun derinliklerine doğru devam eder. Bu

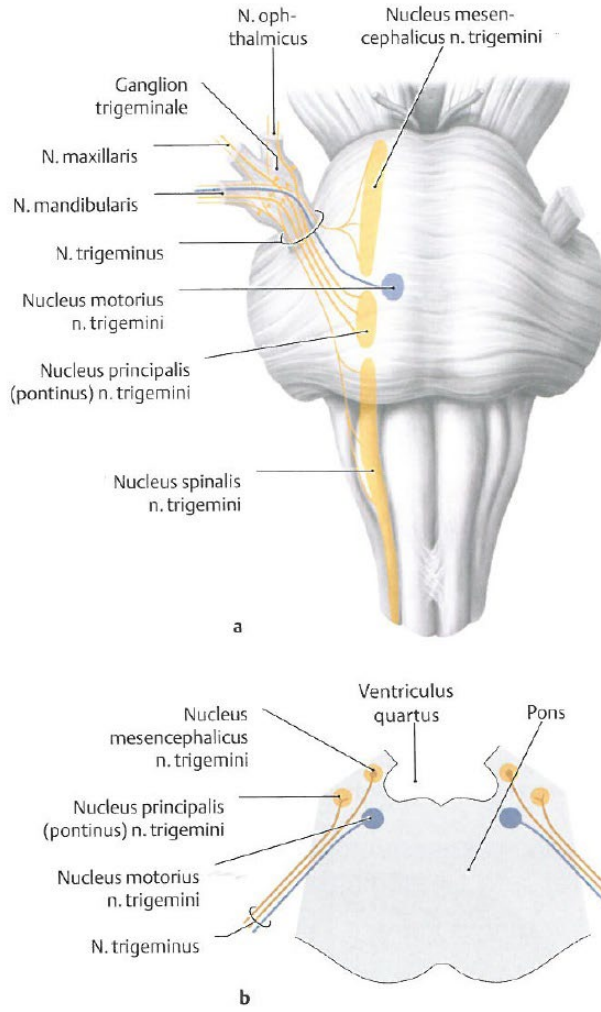
yoğunlaşma, trigeminal ganglionun lateral kısmına yapışırken, gevşek mezenşimal doku bu iki yapıyı birbirinden ayırır. Subaraknoid boşluk, trigeminal ganglionun arka kısmında görülürken, trigeminal sinirin dallarının mezenşim içine gömülü olduğu ön bölgede boşluk bulunmamaktadır. Bu aşamada mezenşimal yoğunlaşma kritik öneme sahiptir. 30 haftalık gelişimde de trigeminal sinir ve dallarını çevreleyen lifli doku ile olan ilişkiler benzer şekilde gözlemlenir. Maksiller ve mandibular sinirlerle karşılaştırıldığında, oftalmik sinirin fasiküllerinin gangliona girmeden önce ayrıldığı görülmektedir [7-9].

Trigeminal sinirin embriyolojik gelişimini anlamak oldukça değerlidir çünkü, birinci faringeal arkın mezoderminden köken alan tensor tympani'nin innervasyonu mandibular sinir aracılığıyla sağlanır ancak, örneğin ikinci faringeal ark mezoderminden köken alan stapedius kasının innervasyonunu fasiyal sinir sağlar. Ayrıca, yine birinci brankial arkustan gelişen temporal, masseter, pterygoideus lateralis, pterygoideus medialis, tensor tympani, tensor veli palatini, mylohyoideus ve digastricus venter anterior kaslarının innervasyonunu da yine trigeminal sinir sağlar [5, 7, 9].

2.1.2. Trigeminal Sinir Anatomisi

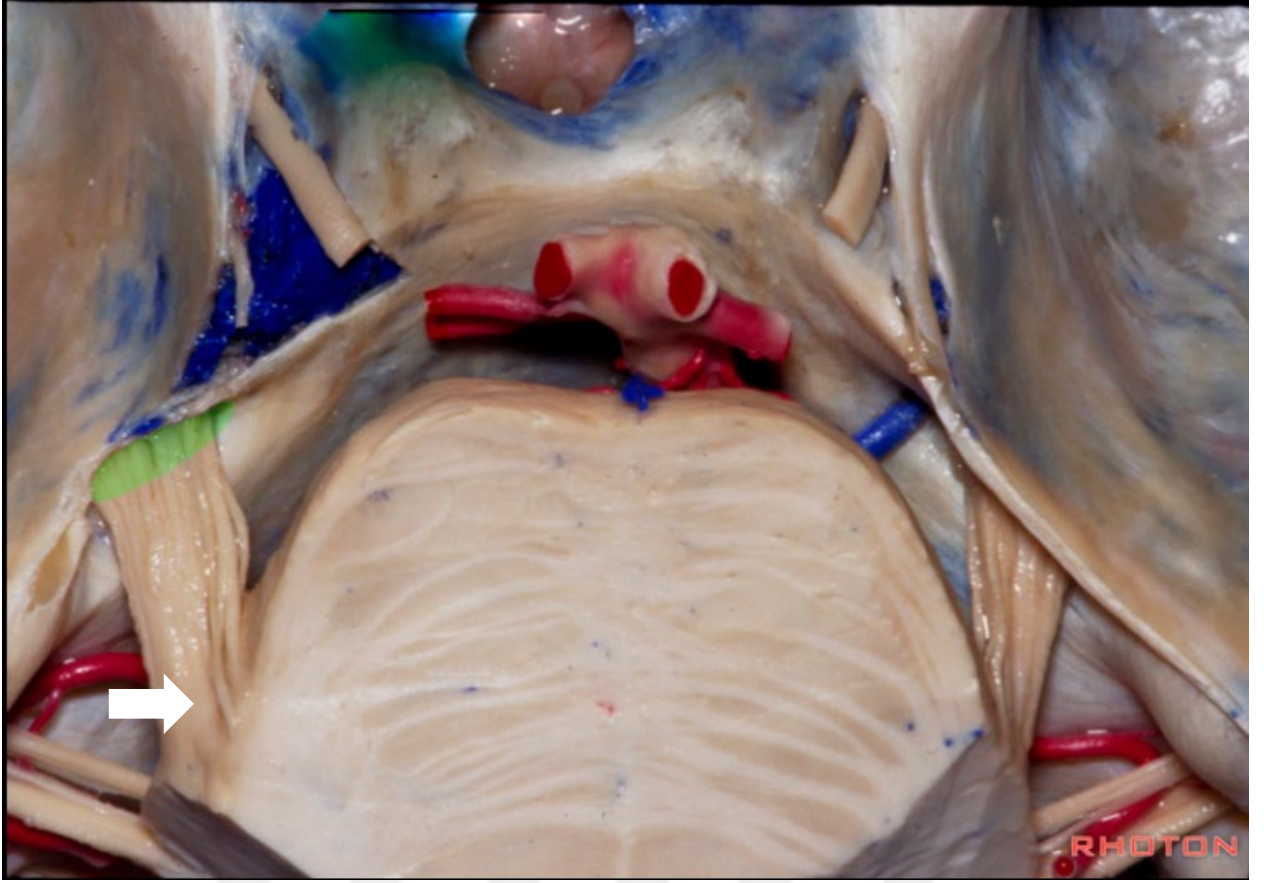
Beşinci kranial sinir olarak bilinen TS, kafa çiftleri arasında en büyük sinirdir [10, 11]. Ponstan köken alan TS, ismini aldığı 'trigeminus' terimine uygun olarak üç ana dala ayrılarak baş ve yüz bölgesindeki birçok yapının innervasyonunu sağlar.

TS, hem motor hem de duysal bileşenleri olan miks bir sinirdir ve beyin sapında üç duysal ve bir motor olma üzere toplam dört çekirdeğe sahiptir. Ponsta bulunan ana duysal çekirdek, yüzün aynı tarafındaki yüzeyel duyuları algılarken, medulla ve üst servikal kordda yer alan spinal çekirdek, ipsilateral ağrı ve ısı duyusunu alır. Mezensefalonda bulunan mezensefalik çekirdek ise, ipsilateral proprioseptif duyuların alımından sorumludur (Şekil 2.3). Ponsun superior ve dorsal kısmındaki motor çekirdekten çıkan sinir lifleri ise, birinci faringeal arkustan türeyen çiğneme kasları, mylohyoid, digastrik kasın ön bölümü, tensor veli palatini ve tensor tympani kaslarını innerve eder.



Şekil 5.3. Trigeminal sinirin çekirdekleri ve ponstan çıkışı. a. Ventral yüzden görünüş, b. Ponsun trigeminal sinirin beyin sapını terk ettiği düzeyden geçen transvers kesitinin kraniyal taraftan görünüşü. (Prometheus Anatomi Atlası.) ^[21]

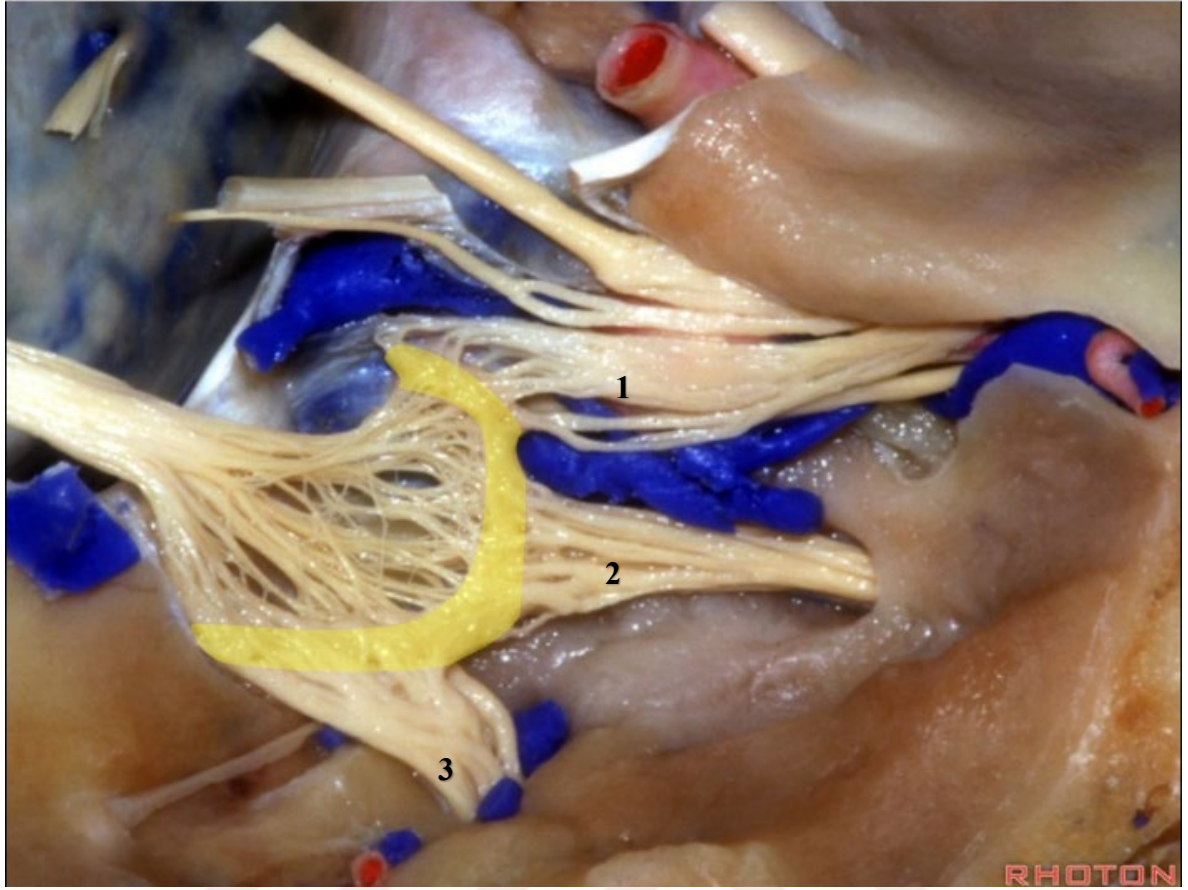
TS, ponstan ayrıldıktan sonra, medialde bulunan daha küçük motor kök ve lateralde yer alan daha büyük duysal kök olmak üzere iki ana bileşene sahiptir. TS'nin bu duysal ve motor kökleri, spinal sinirlerdeki dorsal ve ventral köklere karşılık gelecek şekilde konumlanmıştır ve ponstan çıktıkları bölgeye kök giriş bölgesi (REZ) adı verilir (Şekil 2.4). Ponstan ayrılan bu kökler daha sonra birleşerek trigeminal siniri oluşturur.



Şekil 2.4. Trigeminal sinirin ponstan çıkışını, sisternal segmentini ve Meckel cave'e girişini gösteren anatomik kesit. (Beyaz okun ucu REZ'i, sol tarafta yeşil elips ile işaretlenen bölge de Meckel cave'e giriş noktasını göstermektedir.) (Rhoton koleksiyonu) ^[22]

Trigeminal sinirin intrakraniyal bölümü üç ana segmentte incelenir:

- 1) Sisternal bölümü:** Ponstan semilunar gangliona kadar uzanan kısımdır (Şekil 2.4). Bu bölümde trigeminal sinir, superior serebellar arter ve superior petröz ven gibi vasküler yapılarla yakın ilişki içerisindedir.
- 2) Gasserian bölümü:** Trigeminal sinirin semilunar ganglionun bulunduğu kısmını temsil eder (Şekil 2.5).
- 3) Preforaminal bölümü:** Semilunar ganglion ile trigeminal sinirin dallarının kranyal boşluğu terk ettiği foramen veya fissürlere girmeden önceki segmenti içerir (Şekil 2.5).

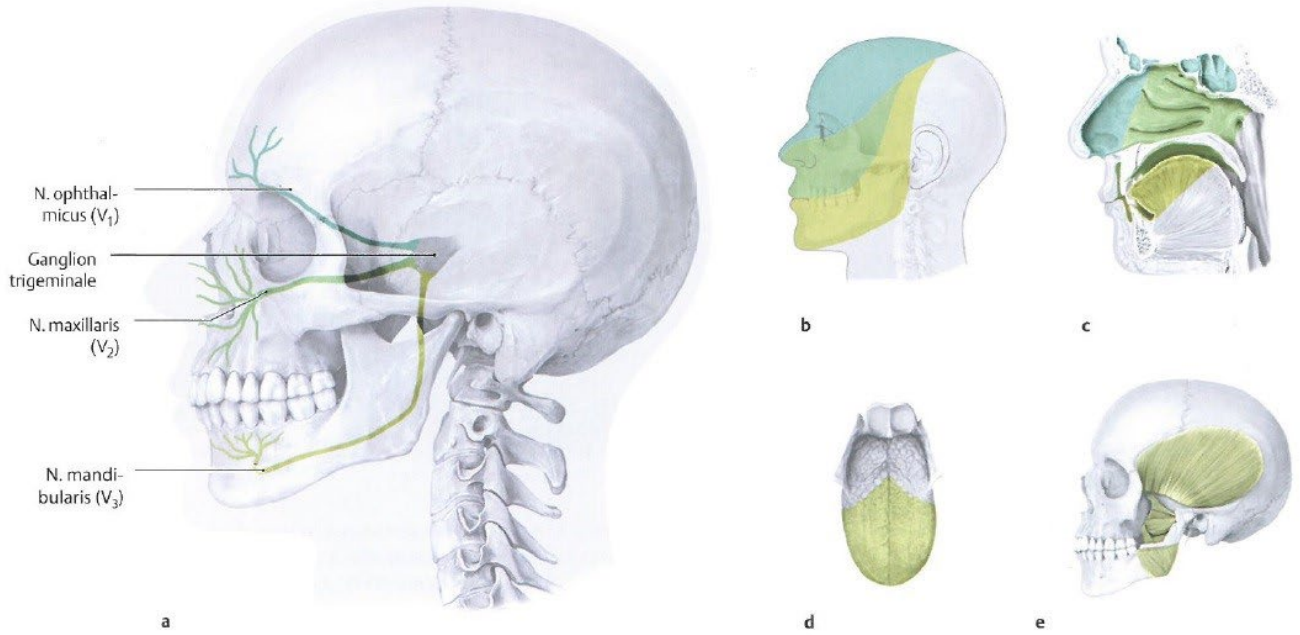


Şekil 2.5. Çatısı kaldırılmış halde gözükten Meckel cave’de trigeminal sinirin seyri. Sarı yay şeklinde işaretlenen anatomik yapı: semilunar ganglion, 1: superior orbital fissüre doğru seyreden oftalmik dal (V_1), 2: foramen rotundumdan çıkacak olan maksiller dal (V_2), 3: foramen ovale’ye giden mandibular dal (V_3). 1,2 ve 3’ün toplamı preforaminal bölümü oluşturur. (Rhoton koleksiyonu.)^[22]

TS, sisternal segmentten sonra orta kraniyal fossaya geçerek, temporal kemiğin apeksinde bulunan ve yarım ay şeklindeki semilunar gangliona (Gasser) doğru ilerler. Temporal kemik apeksinde, duranın meningeal tabakasının kıvrılmasıyla oluşan Meckel cave’de yer alan semilunar ganglion^[12, 13], kraniyal kavite içerisinde bulunan tek duysal ganglion olması nedeniyle de özel bir öneme sahiptir. Duysal lifler, vücuttaki en büyük duysal ganglion olan semilunar gangliona girerken, motor lifler bu gangliona girmeksizin, hemen inferiorundan anteriora doğru yol alır.

Semilunar gangliondan çıkan duysal lifler, oftalmik (V_1), maksiller (V_2) ve mandibular (V_3) sinirler olarak ayrılırken, gangliona girmeyen motor lifler, semilunar gangliondan hemen sonra mandibular sinire katılır. Oftalmik,

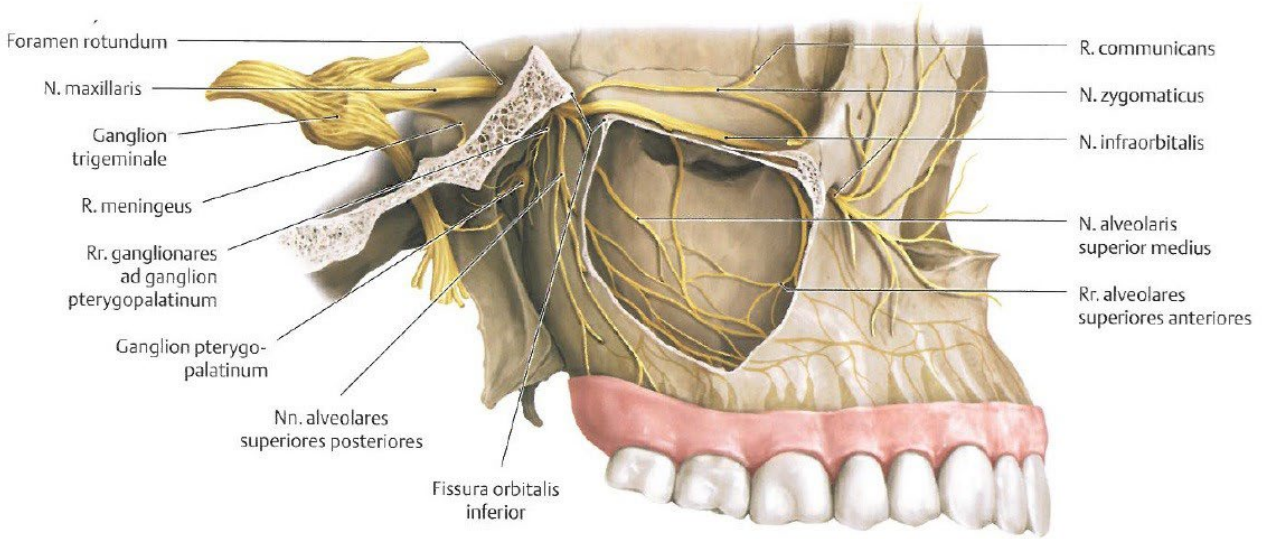
maksiller ve mandibular sinirler, yüz ve saçlı derinin belirli bölgelerine dermatomal olarak duysal innervasyon sağlar ve bu dermatomal dağılım, spinal dermatomlarda olduğu gibi, örtüşme göstermez (Şekil 2.6)



Şekil 2.6. a. Soldan görünüş. Trigeminal sinirin 3 ana dalı gösterilmiştir. Hem yüz cildi (b) hem de burun ve orofarinks mukozası (c) bu üç ana dal tarafından innerve edilir. Dilin 2/3 ön bölümünün dokunma, ağrı ve ısı duyusu (d) mandibular sinirin dalı olan lingual sinir tarafından alınır. Çiğneme kaslarının motor innervasyonu da (e) yine trigeminal sinir tarafından sağlanır. (Prometheus Anatomi Atlası.)^[21]

2.1.2.1. Oftalmik sinir anatomisi

Trigeminal sinirin en küçük dalı olan oftalmik sinir, yalnızca duysal işleve sahiptir. Kavernöz sinüsün lateral duvarı boyunca seyrederken durayı innerve eden meningeal bir dal verir^[14]. Aynı zamanda, kavernöz sinüs içinde troklear, abducens ve okülomotor sinirlerle yakın ilişki içerisinde olup, bu sinirlerin innerve ettiği ekstraoküler kaslardan proprioseptif duyu taşıyan lifler gönderir^[11]. Kavernöz sinüsten çıktıktan sonra, oftalmik sinir frontal, lakrimal ve nazosilier dallarına ayrılır. Bu üç dal, superior orbital fissürden geçerek göz küresi,



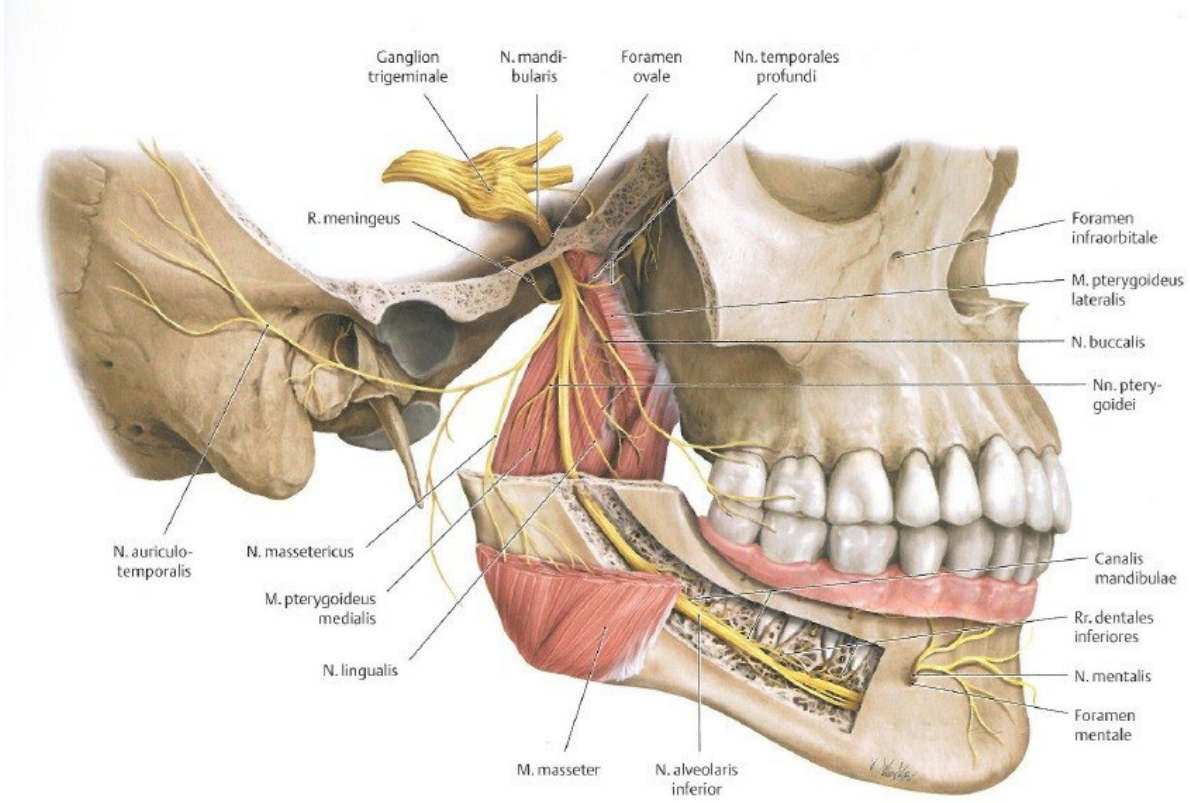
Şekil 2.8. Maksiller sinirin seyri ve dalları. Zigomatik kemik uzaklaştırılıp sağ maksiller sinus kısmen açıldıktan sonra bölgenin lateralinden görünüş. (Prometheus Anatomi Atlası.) ^[21]

2.1.2.3. Mandibular sinir anatomisi

Semilunar gangliondan çıkan en büyük dal olan mandibular sinir, gangliondan ayrıldıktan hemen sonra, trigeminal sinirin motor lifleriyle birlikte foramen ovaleden geçerek infratemporal fossaya ulaşır. İnfratemporal fossaya vardığında motor lifler mandibular sinire katılır ve böylece mandibular sinir, hem duysal hem de motor işlevleri olan miks bir sinir haline gelir. İnfratemporal fossaya girdikten hemen sonra, foramen spinozumdan geçerek kafa tabanına dönen meningeal bir dal verir. Aynı seviyede, tensor veli palatini ve tensor tympani kaslarının motor innervasyonunu sağlayan medial pterigoid siniri dallanır. Bu iki dalın çıkışından sonra mandibular sinir, ön ve arka dallarına ayrılır. Ön dal ağırlıklı olarak motor lifler içerir ve masseterik sinir, derin temporal sinir, uzun bukkal sinir ve lateral pterigoid siniri verir. Arka dal ise çoğunlukla duysal liflerden oluşur ve aurikulotemporal sinir, lingual sinir ve inferior alveolar siniri içerir (Şekil 2.9) ^[17].

Sonuç olarak, mandibular sinir; dilin ön 2/3'ü, alt çene ve diş eti, kulak kepçesi, dış kulak kanalı, kulak zarı, yanak ve temporal bölgenin duysal

innervasyonunu sağlarken, aynı zamanda pterigoid kaslar, masseter, temporal kaslar, mylohyoid, tensor veli palatini, tensor tympani ve digastrik kasın ön kısmının motor innervasyonunu gerçekleştirir.



Şekil 2.9. Mandibular sinirin seyri ve dalları. Zigomatik kemik uzaklaştırılıp mandibula kısmen açıldıktan sonra lateralden görünüş. (Prometheus Anatomi Atlası)^[21]

2.1.2.4. Trigeminal sinirin sempatik ve parasempatik lifleri

Trigeminal sinirin bazı dalları, post-ganglionik parasempatik ve sempatik liflerin hedef organlara ulaşmasında aracılık eder:

1) **Siliyer ganglion:** Edinger-Westphal çekirdeğinden çıkan preganglionik parasempatik lifler, okülomotor sinir yoluyla siliyer gangliona ulaşır. Post-ganglionik parasempatik lifler ise kısa siliyer sinirler aracılığıyla hedef organlara yönelir. Aynı zamanda, siliyer gangliondan çıkan post-ganglionik sempatik liflerin bir kısmı, oftalmik sinirin nazosiliyer dalından köken alan uzun siliyer sinirlerle birleşerek pupil çevresine dağılır^[18].

2) Otitik ganglion: Foramen ovalenin hemen altında yer alan, küçük ve oval şekilli bir parasempatik ganglionudur. Ana görevi parotis bezine duysal ve sekretuar lifler iletmektir. Mandibular sinirin bazı motor lifleri de bu ganglionsdan geçerek tensor tympani, tensor veli palatini ve medial pterigoid kasların innervasyonunu sağlar ^[19].

3) Submandibular ganglion: Diğer parasempatik ganglionlar gibi, parasempatik liflerin sinaps yaptığı bir merkez olup, ek olarak farklı fonksiyonları taşıyan liflere de aracılık eder. Oral mukoza, submandibular ve sublingual bezlere giden post-ganglionik parasempatik liflerin bir kısmı, mandibular sinirin bir dalı olan lingual sinir üzerinden taşınır ^[23].

4) Pterigopalatin (sfenopalatin) ganglion: Pterigopalatin fossa içinde yer alan bu parasempatik ganglion, fasyal sinir, trigeminal sinir ve sempatik sistemle çok sayıda bağlantıya sahip kompleks bir nöral merkezdir. Duysal girişi, maksiller sinirin iki pterigopalatin dalı oluşturur. Aynı zamanda, bu gangliona gelen post-ganglionik sempatik lifler, sinaps yapmadan maksiller sinire katılarak nazal kavite, damak ve nazofarinks bölgesine dağılır ^[20].

2.2. TRİGEMİNAL NEVRALJİ

2.2.1. Trigeminal Nevralji Tarihçesi

TN, uzun yıllardır bilinen ancak patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamış ve tedavisinde henüz bir konsensusa varılamamış bir hastalıktır. Uluslararası Baş Ağrısı Topluluğu (IHS), 2018’de yayınladığı Uluslararası Baş Ağrısı Bozuklukları Sınıflandırması’nın üçüncü edisyonunda TN’yi: “Tekrarlayan, ani başlangıç ve sonlanma gösteren, elektrik şoku benzeri kısa süreli tek taraflı ağrılar ile karakterize bir bozukluktur. Bu ağrılar, trigeminal sinirin bir veya daha fazla dalının dağılım bölgesiyle sınırlıdır ve zararsız uyaranlarla tetiklenir. Alta yatan belirgin bir neden olmaksızın gelişebileceği gibi, başka bir teşhis edilmiş bozukluğun sonucu olarak da ortaya çıkabilir. Ayrıca, etkilenen sinir dalının dağılım bölgesinde orta şiddette sürekli ağrı da eşlik edebilir.” [26] şeklinde tanımlamaktadır. Bu şiddetli ağrıların nedenlerini anlamak ve tedavi geliştirmek amacıyla yüzyıllardır çalışmalar sürdürülmektedir.

Ransahah ve Stookey'e göre, TN'ye benzer klinik bulgulara dair ilk kayıtlar MS 2. yüzyılda Aretaeus tarafından yapılmıştır [27]. Aretaeus, "Akut ve Kronik Hastalıkların Sebepleri" ve "Akut ve Kronik Hastalıkların Tedavisi" adlı eserlerinde, TN’nin modern tanımına oldukça yakın bir tanım yapmıştır [28].

Aretaeus'tan yaklaşık 800 yıl sonra, İbni Sina "el-Kanun fi't-Tib" adlı eserinde benzer klinik durumlardan söz etmiş ve bu duruma "Lekvet" adını vermiştir [29].

Trigeminal nevralsi tarihinin bir diğer önemli ismi de Cürcani'dir. Selçuklu döneminde okutulan "Zahire-i Harzemşahi" adlı eserinde, TN'ye benzer bir durumu tarif etmiş ve bir atardamarın sinire olan yakınlığını bu ağrının sebebi

olarak göstermiştir. Bu bilgi, o dönem için ilginç bir öngörü niteliğindedir, ancak hangi atardamar ve sinirden bahsedildiği bilinmemektedir [30].

Rönesans dönemi sonrası TS ve TN üzerine yapılan çalışmalar büyük ölçüde Avrupa’da yoğunlaşmıştır. 16. yüzyılda Gabriel Fallopius trigeminal siniri tanımlamış, ancak bu sinirin dallarını ayrı kraniyal sinirler olarak kabul etmiştir [27]. Yaklaşık bir yüzyıl sonra anatomist Vieussens, semilunar ganglionu tarif etmiştir. Hirsch, bu yapıya hocası Johann Ludwig Gasser’in anısına "Gasserian ganglion" adını vermiştir [29]. 1748’de Meckel, bu ganglionun dural kılıfıyla ilgili çalışmalarını yayınlamıştır [29]. Bu dönemde anatomideki gelişmeler, TN’nin yazılı kaynaklarda daha sık yer almasını sağlamıştır.

John Locke, 1677’de bir meslektaşına yazdığı bir mektupta, Northumberland kontesinin yüzündeki ağrıları ayrıntılı bir şekilde tarif etmiştir. Bu mektup, TN’nin erken dönem tanımlarından biri olarak kabul edilebilir [31].

TN hakkında yapılan ilk literatür yayını, 1727’de Johann Jakob Wepfer tarafından gerçekleştirilmiştir [29]. 1756’da Nicolaus Andre, beş vaka bildirmiş ancak bunlardan yalnızca ikisi tipik TN’dir. Andre, bu hastalığı "Tic douloureux" olarak adlandırmış ve bu duruma fasiyal duysal sinirlerin kompresyonunun sebep olduğunu öne sürmüştür. Tedavi amacıyla, ağrı hissedilen bölgeye koterize edici taşlarla açtığı yaraları civalı su ile yıkayıp yaraları sinire bası olmasını engellemek için açık bırakmıştır [32, 33].

TN’yi günümüz tanımına en yakın şekilde ilk kez İngiliz hekim John Fothergill tanımlamıştır. 1773 yılında yayımladığı makalede, hastalığı “paroksizmal, tek taraflı, konuşma, yemek yeme veya dokunma gibi aktivitelerle

tetiklenen ve ani başlangıç ve bitiş gösteren” bir ağrı olarak tarif etmiştir ^[28]. Bu nedenle uzun bir süre hastalık, "Fothergill hastalığı" olarak adlandırılmıştır ^[29].

19.yüzyılın başlarında, anatomideki ilerlemelere paralel olarak Charles Bell, trigeminal ve fasiyal sinirlerin tamamen farklı yapılar olduğunu belirtmiştir ^[27]. Bell'in çalışmaları, "Tic douloureux"nun aslında trigeminal sinir kaynaklı bir durum olduğunu ortaya koymuştur ve bu noktadan itibaren hastalık "Trigeminal nevralji" olarak anılmaya başlamıştır. Bu hastalığın günümüzdeki adını alması, yaklaşık 1600 yıllık bir evrim sonucunda olmuştur.

1874'te Cutter, trigeminal siniri "trifasiyal sinir" olarak tanımlamış ve bu sinirin bir ganglion içerdiğini belirterek, onu "kraniyal spinal sinir" olarak adlandırmıştır ^[34]. 18. ve 19. yüzyılda Tiffany, Pujol ve Chapman, TN'yi diş ağrısı gibi diğer yüz ağrılarından ayırt etmeye yönelik önemli gözlemler yapmışlardır. 20. yüzyılın başlarında Oppenheim, MS ile TN arasındaki ilişkiyi vurgulamış, Patrick ise TN'nin ailevi bir özellik taşıyabileceğini öne sürmüştür ^[35]. TN, tarih boyunca "tic douloureux", "epileptiform nöralji", "hemikrania idiopatika", "trisma dolorificans", "idiopatik nöralji", "la grande neuralgia", "trigeminal neuralgia" ve "trifasiyal neuralgia major" gibi çeşitli isimlerle anılmıştır ^[27, 33].

1929 yılında Walter Dandy, "tic douloureux" tedavisinde bu ağrıların vasküler kompresyon kaynaklı olabileceğini öne süren bir hipotez geliştirmiştir. Dandy'nin 1934 yılında yaptığı ameliyatlara desteklenen bu teori, 215 hastanın yaklaşık yarısında trigeminal sinir köklerine baskı yapan vasküler yapıların tespit edilmesiyle güçlenmiştir. Bu baskının başlıca sebebi olarak anterior inferior serebellar arterin rol oynadığı rapor edilmiştir ^[36].

Türkiye’de nöroşirürji alanında öncü isimlerden biri olan Dr. Hami Dilek, yurt dışında edindiği deneyimler sonucunda ülkemizde TN tedavisine yönelik cerrahi müdahaleler gerçekleştiren önemli bir nöroşirürjiyen olarak öne çıkmıştır. 1932-1949 yılları arasında Bakırköy Ruh Sağlığı Hastanesi’nde birçok nöroşirürjikal operasyona imza atan Dilek, 1935 yılında bir hastasında TN tedavisi uygulayarak, Dandy’nin yöntemlerine benzer başarılı bir cerrahi işlem gerçekleştirmiştir. Bu müdahale, Dandy'nin yöntemlerini tanıttıktan yalnızca on yıl sonra yapılmış olup, başarılı sonuçlar elde edilmiştir ^[37]. Dr. Hami Dilek, bu vakayı şu şekilde tarif etmektedir: *“Hasta sağ taraf kulbetülhanekiyesinden başlayıp sağ göz ve kaşa ve civarına doğru intişar eden ağrılardan muzdaripdir. Bu ağrılar senelerden beri devam ediyor. Muhtelif tedavi ve ameliyatlara maruz kalmıştır. İki sene evvel Rusya’da ceybifekkü ubürde iltihaf görülerek ameliyat yapılmış bir faide hasıl olmayınca sağ asabi tahtelhicaci rezeke edilmiş fakat ondan da bir faide görmemiştir. Birçok ilaç tedavisi de tatbik edildiği halde ondan da hastayı memnun edecek bir netice elde edilememiş. Bir nevraljinin başlaması bilhassa yemek yerken veya bir mayi içerken oluyormuş. Damagının bir noktasına temas eden maddei gidaiye akseyi tevlit ediyor, hasta yemeğini bırakıyor, her zaman su içerken yemek yerken hatta yutkunurken veca duyuyor. Hasta korkudan yemekten kesiliyor, zayıflıyormuş. Çok defada bu akseler hastayı uykusundan uyandırıyormuş.”* ^[37]

22.09.1935 tarihinde gerçekleşen cerrahi girişime ait bilgiler ise şu şekildedir:

“Hastaya neurothomie juxta protuberantielle ameliyatı yapıldı. Anestesi: 1/2 % Novacaine-adrenaline mahlulu ile mevzii iptali his yapıldı. Sağ taraf kafa kemiğinin bir kısım pens ganjlarla kesilerek büyük bir kısım açıldı. Meneng dimağçe keza açıldı. Dimağçenin sag füssu aydınlatıcı ekartörle ünsiye çekilerek yavaş yavaş ponto- cerebelleur mesafeye girildi. Asabi veçhi ve semi menşeleri ve sahraya giren cezir/er himaye edilerek yavaş yavaş ilerlendi. Veine petreuse bulundu ve arkasından şerit tarzında V inci zevcin hadbeden çıktığı yere yakın kısmı görüldü ve hususi şekildeki kroşe ile vahşideki hissi elyaf kesilmek istendi

ve kısmende kesildi ise de o esnada fazlaca emoraji vaki olduğundan aspiratörle saha kurutuldu ve uzunca bir zaman nezfın durdurulması için uğraşıldı ve nezfı durdu. Evvela sahaya ince ipliklerle tutturuldu, dikildi. Sonra cildi adeli lambo dikilerek ince bir lastik dren kondu bu surette ameliyeye nihayet verildi.

Müteakip tedaviler: İlk iki gün zarfında 38-38.5 arası bir tereffüü hararet görüldü. 24 saat sonra tüb alındı ve yara birinci iltisam ile kapandı. Ağrılardan ızdırıp kalmadı ağrılar tamamen kesildi. Uykudan uyandıran ağrılar tamamen bertaraf oldu. Yalnız pek az günde bir iki defa gene aynı yerde ağrı his ediyordu. Fakat %70 selah görülüyordu. 90°lik alkol agzın hassas yerinin gişayi muhatisi altına zerk edildi. Bir iki gün mevzii bir şişlik hasil oldu fakat ağrılar yüzde yüz tamamen geçti. Bugün hasta normal haldedir. Yemesi, içmesi vacasız tabiidir. Bir sekel veya paralizi yoktur. Hasta çok rahat ve müstazihdir.” [24]

2.2.2. Trigeminal Nevralji Tanımı ve Sınıflandırmaları

TN tipik olarak "ani başlayıp ani sonlanan, trigeminal sinirin bir veya daha fazla dalının innervasyon alanıyla sınırlı, zararsız uyaranlarla tetiklenen, tekrarlayan, tek taraflı kısa süreli elektrik şoku benzeri ağrılar" ile karakterizedir. Son dönem bulgulara göre, hastaların %30'a varan bir kısmında aynı sinir dalının dağılım alanında orta şiddette ve sürekli ağrı da görülebilir. Yüz ağrısını sınıflandırmaya yönelik çeşitli sistemler önerilmiştir. IHS, TN'yi üç ana kategoriye ayırmaktadır: klasik, sekonder/semptomatik ve idiyopatik [26].

Klasik TN, trigeminal sinir kökünün bir damar tarafından komprese edilmesi ile ilişkiendirilir ve bu duruma NVÇ adı verilir. Bu durum genellikle Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile saptanan morfolojik değişikliklerle birlikte görülür [26]. Sekonder veya semptomatik trigeminal nevralji (STN), altta yatan bir hastalıkla bağlantılıdır. En yaygın nedenler arasında MS, yer kaplayan lezyonlar, kafa tabanı kemik deformiteleri, bağ dokusu hastalıkları, arteriyovenöz malformasyonlar, dural arteriyovenöz fistüller veya nöropatinin genetik sebepleri yer alır [26]. İdiyopatik TN (İTN), MRG ve elektrofizyolojik testler gibi uygun testler sonucunda ne klasik ne de ikincil TN'nin tespit

edilmediği durumlarda dışlama yoluyla konulan bir tanıdır [26]. Hem klasik TN hem de İTN, eşlik eden ağrının varlığına göre daha da alt sınıflara ayrılabilir.

TABLO 2.1 Burchiel Yüz Ağrısı Sınıflandırması: Nöroşirürjikal Pratikte Sık Karşılaşılan Yüz Ağrısı Sendromları için Sınıflandırma Şeması

Spontan Başlangıç	
Trigeminal nevralji, tip 1	>50% epizodik ağrı
Trigeminal nevralji, tip 2	>50% devamlı ağrı
Trigeminal Hasar	
Trigeminal nöropatik ağrı	Kasıtsız travma
Trigeminal deaferensiasyon ağrısı	Bilinçli deaferensiasyon
Semptomatik trigeminal nevralji	Multipl skleroz, tümör
Postherpetik nevralji	Trigeminal herpes zoster atağı
Somatoform Ağrı Bozukluğu	
Atipik fasiyal ağrı	Sadece anamnezle tanı konmaz

Tablo 2.4: Burchiel yüz ağrısı sınıflaması. (Youman's & Winn Nörolojik Cerrahi 8. Edisyon)

TABLO 2.2 Uluslararası Ağrı Araştırmaları Birliği (IASP) Tarafından Onaylanan Trigeminal Nevraljinin Tanımı ve Sınıflandırılması

TANIM	
	Trigeminal nevralji (TN), trigeminal sinirin bir veya daha fazla dalı ile sınırlı olan orofasiyal ağrıdır. MS'e bağlı TN hariç, ağrı yüzün bir tarafını etkiler. Ani başlangıçlıdır ve genellikle sadece birkaç saniye sürer (maksimum 2 dakika). Hastalar ağrının kendiliğinden ortaya çıktığını bildirebilir, ancak bu ağrı paroksizmleri her zamanı zararsız mekanik uyaranlar veya hareketlerle tetiklenebilir. Hastalar genellikle paroksizmler arasında ağrı yaşamazlar. Ancak, aynı bölgede ve paroksizmal ağrıyla aynı dönemde sürekli bir ağrı da bildirilirse, bu durumda hastaya sürekli ağrılı TN tanısı konulur.
SINIFLANDIRMA	
Klasik TN	Trigeminal sinir kökünün damarlar tarafından sıkışması sonucu kökte morfolojik değişikliklere neden olur
Sekonder TN	Önemli bir nörolojik hastalıktan kaynaklanır (örneğin, serebellopontin açığı tümörü veya MS)
İdiyopatik TN	Bilinen bir etiyoloji yok.

Tablo 5.2: IASP trigeminal nevralji sınıflaması. (Youman's & Winn Nörolojik Cerrahi 8. Edisyon)

TABLO 2.3 Trigeminal Nevralji (TN) Tanısı ve Sınıflandırılması, Uluslararası Baş Ağrısı Bozuklukları Sınıflandırması, 3. Baskı (ICHD-3)	
Kriter A	B ve C kriterlerini karşılayan en az üç tek taraflı yüz ağrısı atağı
Kriter B	Trigeminal sinirin bir veya daha fazla dalında meydana gelen ve trigeminal dağılımın ötesine yayılmayan
Kriter C	Ağrı, aşağıdaki dört özelliğin en az üçüne sahiptir: 1. Bir saniyenin bir kısmından 2 dakikaya kadar süren paroksizmal ataklar şeklinde tekrarlayan 2. Şiddetli yoğunlukta 3. Elektrik şoku benzeri, ani, bıçak saplanır gibi ya da keskin nitelikte 4. Yüzün etkilenen tarafına uygulanan zararsız uyaranlarla tetiklenen
Kriter D	Klinik olarak belirgin bir nörolojik defisit yok
Kriter E	Başka bir ICHD-3 tanısı ile daha iyi açıklanamaz
SINIFLANDIRMA	
Klasik TN	Klasik TN, pür paroksizmal Konkomitan devamlı ağrıyla ilişkili TN
Sekonder TN	MS ile ilişkili TN Yer kaplayıcı lezyonla ilişkili TN Başka bir nedenle ilişkili TN
İdiyopatik TN	İdiyopatik TN, pür paroksizmal İdiyopatik TN, Sürekli ağrı ile birlikte

Tablo 2.6: ICHD-3 trigeminal nevralsi sınıflaması. (Youman's & Winn Nörolojik Cerrahi 8. Edisyon)

2.2.3. Trigeminal Nevralji Epidemiyolojisi

TN nadir görülen bir durum olarak kabul edildiğinden, epidemiyolojik çalışmalar sınırlıdır. TN insidansına ilişkin ilk rapor, ABD'de Penman tarafından yayımlanmış olup, 1 milyon kişi başına yaklaşık olarak 107 erkek ve 200 kadın olarak bildirilmiştir^[38]. O zamandan beri de genel Kabul kadınlarda daha sık görüldüğü şeklindedir. Daha sonra Katusic ve çalışma arkadaşları, 1945 ile 1984 yılları arasında Minnesota, Rochester'da TN insidansını erkekler ve kadınlar için 100.000'de 4.3 olarak tahmin etmişlerdir^[39]. Benzer bulgular başka araştırmacılar tarafından da rapor edilmiş (örneğin, 100.000 kişide 4 yeni vaka/yıl), bu da ABD'de her yıl yaklaşık 15.000 yeni TN vakası demektir^[40, 41]. Birincil sağlık hizmetlerinde, Birleşik Krallık'ta çok daha yüksek insidans oranları (örneğin, 100.000 kişide 27 vaka/yıl) bildirilmiştir^[42]. Genel

popülasyonda yapılan prevalans çalışmalarının analizleri, TN insidansının %0.03 ile %0.3 arasında değiştiğini göstermektedir ^[43].

Erken dönem çalışmalar, TN insidansında kadınlarda hafif bir baskınlık olduğunu ve kadınlarda görülme sıklığının neredeyse iki kat fazla olduğunu ortaya koymuştur ^[39, 41]. Bu bulgu, son dönem çalışmalar tarafından da doğrulanmıştır ^[44-46]. Ayrıca, TN prevalansına ilişkin sistematik bir incelemede kadın ve erkek arasındaki oran 3:1 olarak tespit edilmiştir ^[47].

TN insidansında ırklar arasında veya coğrafyala göre fark olduğunu gösteren raporlar bulunmamakla birlikte, bazı hasta popülasyonlarının TN gelişimi açısından daha yüksek risk altında olduğuna dair bazı işaretler vardır. TN insidansının MS hastalarında genel popülasyona kıyasla daha yüksek olduğu net bir şekilde belgelenmiştir. TN hastalarının %2'sinden fazlasında MS ile ilişki bulunmuştur ^[48, 49]. TN'nin MS'den önce görüldüğü vakalar da bildirilmiş olsa da, vakaların çoğunda MS, TN'nin altta yatan nedeni olarak kabul edilir. İlginç bir şekilde, her iki durumda da klinik tablo klasik TN'den farklıdır ve hastaların çoğu iki taraflı ağrı atakları yaşamaktadır. ^[39, 41, 50]

2.2.4. Semptomatoloji

TN genellikle tek taraflıdır ve ağrının sağ tarafta görülme prevalansı daha yüksektir ^[51-55]. TN'nin iki taraflı olarak görüldüğü nadir vakalar genellikle ikincil TN olup, ağrının bir tarafta diğer taraftan zamanla ayrıldığı görülür ^[55-58]. TN'de ağrının dağılımı, trigeminal sinirin üç dalına göre ayrılır: V₁ (oftalmik), V₂ (maksiller) ve V₃ (mandibular). Hastaların yaklaşık %36 ila %42'sinde ağrı yalnızca bir dağılımda görülür ve en yaygın dağılımlar V₂/V₃'tür. Hastaların %35'inde hem V₂ hem V₃ bölgelerinde ağrı varken, %14'ünde her üç dalın da innervasyon bölgesinde ağrı bulunur ^[52, 54, 55, 59-63]. Bu dağılımlar göz önüne alındığında, hastalar genellikle ilk olarak diş ağrısı şikayetiyle diş hekimlerine başvururlar. TN'nin bir diğer karakteristik özelliği de, ağrının tetiklenebilir

doğasıdır. Etkilenen dağılımda günlük rutin aktiviteler (örn. çiğneme, konuşma, tıraş olma, diş fırçalama ve hafif temas) TN ağrısını tetikleyebilir [51, 53, 54]. Hastalar bazen spontan ağrı duyduklarını belirtse de, bu ağrının gerçekten spontan mı yoksa bilinçdışı çok hafif bir duyuşsal uyaran tarafından tetiklenen bir atak mı olduğu konusu tartışmalıdır.

Ağrıyı genellikle yeni bir atağın başlatılmadığı bir refrakter dönem takip eder. Refrakter dönemin patofizyolojisi tam olarak anlaşılamamış olsa da, bir atağın şiddeti ve süresinin refrakter dönem süresi ile ilişkili olduğu görülmektedir [64]. TN genellikle kaba muayenede duyuşsal defisitlerle ortaya çıkmaz; ancak ileri duyuşsal testlerle (örneğin, kantitatif duyuşsal testler (QST)) hafif bulgular elde edilebilir. Nitekim, yakın tarihli geniş bir seride hastaların %30'unda duyuşsal anormallikler tespit edilmiştir [65, 66].

TN hastalarında ağrısız dönemler günlerden yıllara kadar değişiklik gösterebilir [72]. TN ağrı ataklarının kendiliğinden remisyona girmesi beklenmedik bir şekilde gerçekleşebilir ve bu durum hastalığın doğal seyrinin belirsizliğine katkıda bulunur [41]. Bildirilen ortalama aktif dönem yaklaşık 50 gündür ve bunu aylar (%36), haftalar (%16) veya günler (%16) süren remisyon takip eder. Hastaların sadece %6'sı bir yıldan uzun remisyon dönemleri yaşarken, hastaların yaklaşık %20'si sürekli ataklar ile mücadele edebilir [48]. Önemli bir başka gözlem ise, TN hastalarında hem remisyon döneminde hem de remisyon döneminin dışında anormal QST sonuçlarının tespit edilmesidir [74].

Otonom semptomlar geleneksel olarak TN'nin bir parçası olarak kabul edilmez ancak son çalışmalar, özellikle lakrimasyon ve rinore gibi otonom semptomların TN hastalarının büyük bir kısmında ortaya çıkabileceğini göstermiştir [52, 54, 67-71]. Otonom semptomların varlığı, kısa süreli tek taraflı nevraljiiform baş ağrısı atakları (SUNHA) ile TN arasındaki örtüşme nedeniyle TN tanısını zorlaştırabilir [55, 70, 71]. Hatta, lakrimasyonla birlikte görülen

SUNHA ile TN'yi ayırt etmek o kadar zor olabilir ki, başlangıçta hastaya her iki tanı birden konabilir [51, 55].

2.2.5. Patofizyoloji

TN, farklı nedenlerden kaynaklanmasına rağmen, baskın patofizyolojik teori büyük ölçüde benzerdir. İTN, nedeni bilinmeyen fokal demiyelinizasyon neticesinde ortaya çıkarken; primer demiyelinizasyon veya dış faktörlere bağlı olarak gelişen ikincil demiyelinizasyon, primer afferentlerin hiperekzitabilitesiyle ilişkilendirilmiştir. Bu durum da nöronal seviyede semptomların başlamasına yol açtığı düşünülen aşağı akış [*downstream*] etkisini doğurur [22]. Hayvan modelleri ve hasta biyopsileri, bu durumun voltaj kapılı sodyum kanallarının (Na_v) disregülasyonu ile bağlantılı olabileceğini göstermektedir [22,23]. Özellikle $Na_v1.3$ ve $Na_v1.1$ kanalları yukarı regüle olurken, $Na_v1.7$ kanalı aşağı regüle olmaktadır [47, 49-51].

TN'nin histopatolojik ve elektrofizyolojik anlayışındaki ilerlemeler, Devor ve ark.'nın 2002 yılında TN semptomlarının nedenini açıklamak için geliştirdiği "ateşleme hipotezini" ortaya koymalarını sağlamıştır [80]. Trigeminal sinirin kök giriş bölgesinden elde edilen elektrofizyolojik kayıtlar, ektopik aksiyon potansiyellerinin oluştuğunu göstermiştir [75, 81-84]. Bu durum, farklı demiyelinize nöronlarda işlevsiz efaptik iletimle ilişkilendirilmiştir ve yukarıda bahsedilen sodyum kanallarındaki regülasyon bozukluğunun bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Bu işlevsiz duyuşal iletimin, çoğalan ektopik aksiyon potansiyellerinin yayılmasına ve hastaların yaşadığı elektrik şoku benzeri semptomlara neden olan aşırı uyarılabilirliğe yol açtığı varsayılmaktadır [75, 85-87].

Birçok çalışma, trigeminal sinir kökünün ponstan giriş yaptığı bölgede (dorsal REZ) bulunan birincil trigeminal afferentlerin demiyelinizasyonunun

TN'nin patofizyolojik mekanizmasını oluşturduğunu göstermiştir [69, 88-90]. Özellikle trigeminal sinirin proksimal %25'lik bölümünde oligodendrositlerden Schwann hücrelerine geçişin (Obersteiner-Redlich zonu), hasara açık ve dirençsiz bir bölge olduğu düşünülmektedir [91]. Ayrıca, afferent trigeminal sinirlerin aşırı uyarılabilirliği, spinal trigeminal çekirdek, talamus ve somatosensör korteks gibi merkezi sinir sistemi bölgelerinin duyarlılığını da artırarak ağrının devam etmesine yol açıyor gibi görünmektedir [75, 92, 93].

Klasik TN'de en yaygın neden, serebellopontin sistern içinde yer alan superior serebellar arterin sebep olduğu NVÇ olup, bu durumun, ilgili sinirde fokal demiyelinizasyona ve aşırı uyarılabilirliğe neden olduğu düşünülmektedir [69, 94, 95]. Bazı durumlarda, arterin sinire sadece temas etmesi bile, morfolojik değişiklikler olmasa dahi, semptomların ortaya çıkmasına yol açabilir [96, 97]. Burchiel ve ark. klasik TN ile NVÇ arasındaki ilişkinin zayıf olduğunu, çünkü genel popülasyonda görülen kompresyonların %99,94'ünün asemptomatik olduğunu belirtmiştir. Ayrıca, klasik TN olan 20-40 yaş arasındaki hastalarda NVÇ kanıtı bulunma olasılığı, 50 yaşın üzerindeki hastalara göre çok daha düşüktür [98]. Bu nedenle, TN tanısı koymak için NVÇ'nin varlığı veya yokluğu yeterli değildir; hastanın semptomatik olması gerekir. TN hastaları, ataklar arasında yıllarca remisyonunda olabilir. Bu fenomenin, etkilenen nöronların kısmi remiyelinizasyonu ve bazı hastalarda görülen spontan ağrı remisyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir [85].

Sekonder TN'de demiyelinizasyon, MS veya yer kaplayan lezyonlar gibi diğer nedenlere bağlı olarak gelişir. Özellikle MS hastalarında intrapontin demiyelinizasyon, TN semptomlarının ortaya çıkmasına ek bir neden olabilir [55, 69]. Bazı vakalarda, kök giriş bölgesinde demiyelinizan plak ve NVÇ'nin bir arada bulunduğu "çifte baskı [*double crush*]" mekanizması gözlemlenebilir. Mikrovasküler dekompresyon yapılan hastaların çoğunda ciddi NVÇ olduğu intraoperatif olarak gösterilmiş olmasına rağmen, seconder TN hastalarında

mikrovasküler dekompresyonun ağrı sağaltımına etkisi daha düşük olmaktadır [99].

2.2.6. Trigeminal Nevraljinin Yönetimi ve Tedavisi

Farmakolojik ajanlar, TN tedavisinde nedene bakılmaksızın birinci basamak olarak kabul edilmektedir. Cerrahi veya girişimsel yöntemler ise yalnızca farmakolojik tedavinin kontrendike olduğu durumlarda ya da ağrı ilaç tedavisine dirençli hale geldiğinde düşünülmektedir. Ameliyat sonrası dönemde, hastalar genellikle düşük dozlarda da olsa tıbbi tedaviye devam etmektedir [95].

2.2.6.1. Farmakolojik tedavi yöntemleri

Şu anda TN tedavisi için Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış 10 ilaç bulunmaktadır: karbamazepin, okskarbazepin, baklofen, lamotrijin, pimoziid, gabapentin, ropivakain, fenitoin, tizanidin ve botulinum toksin A. Buna ek olarak, çeşitli vaka serileri ve raporlara göre pregabalın, topiramet, levetirasetam ve viksotrijin bazı tedavi yanıtları göstermiştir, ancak bu ilaçların kullanımı hâlâ endikasyon dışıdır.

2.2.6.2. Perkütan tedavi yöntemleri

Perkütan girişimler, gasserian ganglionun içindeki trigeminal sinir afferentlerinde fokal bir yaralanma oluşturmayı hedefler. Bu girişimler arasında en yaygın olarak uygulanan yöntem radyofrekans ablasyonu ile termokoagülasyon olup, gliserol enjeksiyonu yoluyla kimyasal nöroliz, balon kompresyon sinir blokajı ile mekanik nöroliz ve kriyoterapi de bulunmaktadır. Tarihsel olarak, bu prosedürler en çok 65 yaşın üzerindeki hastalarda, ayrıca multipl sklerozu, pontin enfarktı veya dorsal kök giriş bölgesini etkileyen lokal kitle lezyonları olan hastalarda uygulanmıştır.

Birleştirilmiş analizler, gliserol enjeksiyonundan 4 ila 11 yıl sonra hastaların %19-58'inin, radyofrekans ablasyonundan sonra %26-82'sinin ve balon kompresyonundan sonra %55-80'inin ağrısız olduğunu göstermiştir ^[100]. Ağrısız olma oranları umut verici olsa da, merkezlerin sonuçları arasındaki büyük farklar konuyla ilgili kuvvetli sonuçlara varmayı zorlaştırmaktadır. Birden fazla kez tedavi verilmesi sonuçları iyileştirebilir, ancak bu durum özellikle disestezi ve anestezi dolorosa gibi morbiditelerin risklerini artırabilir ^[112].

2.2.6.3. Mikrovasküler dekompresyon

Mikrovasküler dekompresyon, nörovasküler çatışmaya bağlı klasik TN semptomları yaşayan hastaların birincil cerrahi tedavisinde altın standart olarak kabul edilmektedir. Farmakolojik tedaviye veya altta yatan nedenin tedavisine dirençli kalan ikincil TN'de ve idiyopatik TN'de, daha önce bahsedilen gasserian gangliona yönelik herhangi bir perkütan ablasyon prosedürü uygulanabilir.

Bu prosedür TN tedavisinde en invaziv teknik olmasına rağmen, en düşük ağrı nüks oranını ve en yüksek hasta memnuniyetini sağladığı gösterilmiştir ^[101]. Hastaların %73'ünden fazlası, işleminden 5 yıl sonra ağrısız kalmış, klasik TN hastalarının %62 ila %89'u ise 3 ila 11 yıl arasında ağrısız olmuştur ^[100, 104, 105]. Genel olarak, TN'nin yıllık ortalama nüks oranı yaklaşık %4'tür ^[106].

Mikrovasküler dekompresyona bağlı komplikasyonlar nadir olup, morbidite oranı %0.3-3 arasında, mortalite oranı ise %0.2-0.5 arasında değişmektedir. Komplikasyon oranları, bu işlemin rutin olarak yapıldığı yüksek hacimli hastanelerde en düşük düzeydedir ^[102]. Komplikasyonlar arasında beyin omurilik sıvısı kaçağı, aseptik menenjit, beyin enfarktleri, hematomlar, tek taraflı işitme kaybı, yüz felci ve yüz duyuşal kaybı yer alabilir ^[103-105].

2.2.6.4. Stereotaktik radyocerrahi

Yaygın kullanılan bir yöntem olan Gamma Knife, kobalt-60 gamma radyasyon kaynağından (75–85 Gy) çıkan radyasyonu trigeminal sinir kökünün giriş bölgesini hedeflemek için kullanır ve hem vasküler kompresyonu olan, hem de olmayan hastalarda uygulanabilir. Radyocerrahinin destrüktif doğası nedeniyle, hastaların genellikle işlem sonrasında duyuşsal kayıp yaşadıkları bildirilmiştir. Daha yüksek radyasyon dozları, daha iyi ağrı sağaltımı sağlasa da, duyuşsal kayıp oranında artışa neden olmaktadır ^[104, 105]. Birleştirilmiş analizler, radyocerrahiden 4-11 yıl sonra hastaların %30-66'sının ağrısız kaldığını göstermektedir ^[100]. Radyasyon tedavisinin mekanik etkisi nedeniyle, ağrı sağaltımı genellikle ortalama 1 ay gecikmelidir. Yapılan başka çalışmalar, radyasyon tedavisinden sonra ağrı sağaltımı sağlanan hasta oranının 24 aya kadar artmaya devam edebileceğini göstermektedir ^[55, 107-109]

Mikrovasküler dekompresyonun (10 yıl sonunda %70–74 ağrı sağaltımı; 25 yıl sonunda %18 nüks) ^[113], Gamma Knife Radyocerrahisine (GKRS) (3 yılda %67 ağrı sağaltımı) kıyasla daha uzun süreli ağrı sağaltımı ve daha düşük nüks oranlarına sahip olduğu gösterilmiş olmasına rağmen, GKRS'nin daha az invaziv doğası, mikrovasküler dekompresyona uygun olmayan hastalara uygulanabilmesini ve yine de makul oranda ağrı sağaltımı elde edilmesini sağlar ^[110, 111]

2.3. KARBAMAZEPİN

2.3.1. Karbamazepin Metabolizması ve Etki Mekanizması

KBZ, yapısal olarak imipramin ve desipramin gibi trisiklik antidepresanlara benzerlik gösterir ^[114]. Avrupa'da 1965 yılından bu yana antiepileptik bir ilaç (AEİ) olarak kullanılmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde KBZ, 1974 yılında yetişkinlerde nöbet kontrolü için onaylanmış ve beş yıl sonra bu onay, 6 yaşın üzerindeki çocukları da kapsayacak şekilde genişletilmiştir ^[115].

KBZ, fokal başlangıçlı nöbetlerin (bilinçli ve bilinç bozukluğu olan), jeneralize başlangıçlı tonik–klonik nöbetlerin, trigeminal nevraljinin tedavisinde ve bipolar bozukluğun tedavisinde bir duygudurum dengeleyici olarak kullanılmaktadır ^[115–117].

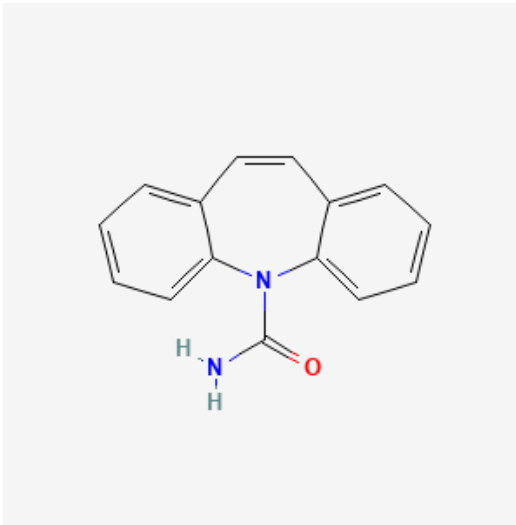
Oral alımın ardından KBZ yavaş emilir ve %75–85 oranında biyoyararlanıma sahiptir. Plazma proteinlerine %70–80 oranında bağlanır ve karaciğerde epoksidasyon ve hidroksilasyon reaksiyonlarıyla neredeyse tamamen metabolize edilir. Eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 35 saattir; ancak çocuklarda bu süre yaklaşık 10 saat, yaşlı hastalarda ise 30–50 saat olarak bildirilmiştir ^[118–121]. KBZ, kendi metabolizmasını indükleyerek klerensin artmasına ve yarı ömrünün kısalmasına neden olur; bu yüzden tedavinin 2 veya 3. haftasından sonra doz ayarlamaları gerekebilir. Kararlı durum plazma konsantrasyonlarına 5–7 gün içinde ulaşılır ve nöbet kontrolü için terapötik aralık 4–12 µg/mL'dir ^[121].

KBZ'nin temel metabolizması, CYP3A4, CYP3A5 ve CYP2C8 enzimleri tarafından KBZ-10,11-epokside dönüştürülmesiyle gerçekleşir. Bu reaktif metabolit, farmakolojik olarak aktif olmasının yanı sıra potansiyel toksisiteye sahiptir ^[122]; çünkü kovalent protein eklentileri oluşturabilir ^[123]. KBZ-10,11-

epoksidin plazma seviyeleri bireyler arasında farklılık gösterir; yetişkinlerde toplam KBZ konsantrasyonunun %15–55'ini, çocuklarda ise %5–81'ini oluşturur [124].

KBZ-10,11-epoksit, mikrozomal epoksid hidrolaz (EPHX1) enzimi tarafından inaktif KBZ-10,11-trans-dihidrodiol metabolize edilir. Diğer metabolik yollar arasında, KBZ'nin CYP3A4 ve CYP2B6 enzimleri aracılığıyla 2-hidroksi-KBZ (2-OH-KBZ) ve 3-hidroksi-KBZ (3-OH-KBZ)'ye dönüşümü bulunur. KBZ'nin yaklaşık %15'i glukuronidasyon yoluyla atılır; bu nedenle UDP-glukuronosiltransferazlar (UGT'ler) de KBZ metabolizmasında rol oynar [125–128].

KBZ'nin etki mekanizması tam olarak anlaşılamamış olsa da, ilacın öncelikle sodyum kanallarına bağlandığı ve ayrıca kalsiyum ile potasyum kanallarıyla etkileşime girdiği düşünülmektedir [120]. Ayrıca, KBZ GABA'nın inhibitör etkisini artırırken glutamatın uyarıcı etkisini azaltır [120, 128].



Şekil 2.60. Karbamazepinin moleküler yapısı [129].

2.3.2. Karbamazepinin Trigeminal Nevralji Tedavisinde Kullanımı ve Yan Etkileri

Yeni teşhis edilmiş TN vakalarında, genellikle başlangıç dozu günde iki kez 100 ila 200 mg'dır. Günlük doz, yeterli ağrı kontrolü sağlanana veya tolere edilemeyen yan etkiler doz artışını engelleyene kadar, her iki günde bir 100 mg artırılmalıdır. Tipik toplam idame dozu, 2-3 bölünmüş dozda verilen 300-800 mg/gün arasındadır. Önerilen maksimum toplam doz 1200 mg/gün'dür. Uygun doz ayarlamalarıyla, hastaların yaklaşık %75'inde ağrı kontrol altına alınabilir [130, 131]. Ağrı kontrol altına alındıktan sonra, remisyon olabileceği için doz azaltılabilir.

Uzatılmış salınlı karbamazepin, uyku sırasında ağrı atakları yaşayan hastalarda gece dozu olarak faydalıdır, çünkü ilaç seviyeleri düşmez. Bu, hastaların uyku sırasında ağrısız kalmasını sağlar ve yüksek serum zirveleri oluşmadığı için yan etkileri azaltılabilir [132, 133]. Yaygın yan etkiler arasında sedasyon, baş dönmesi, bulantı, kusma, çift görme, hafıza sorunları, ataksi, karaciğer enzimlerinde yükselme ve hiponatremi bulunur; bu da ilacın yaşlı hastalarda kontrendike olmasına neden olabilir. Potansiyel olarak ciddi ancak nadir yan etkiler arasında karbamazepin kaynaklı lökopeni, aplastik anemi, alerjik döküntü, sistemik lupus eritematozus, hepatotoksisite ve Stevens-Johnson sendromu (SJS) yer alır [141].

KBZ, en iyi tolere edilen AEİ'lerden biri olarak kabul edilmesine rağmen, uzun süredir bilinen çok sayıda advers ilaç reaksiyonu (AİR) vardır [134, 135]. Dünya Sağlık Örgütü'nün sınıflandırmasına göre, KBZ'nin neden olduğu AİR'ler Tablo 2.1'de belirtildiği gibi altı farklı tipe ayrılır [136, 137-139].

AİR Tipi	Özellikler	KBZ'nin Neden Olduğu AİR'ler
A	• İlacın etki mekanizmasıyla ilgili • Yaygın (%1–10) veya çok yaygın (> %10) • Dozla ilişkili • Tahmin edilebilir ve geri dönüşümlü	Uyuklama, letarji, yorgunluk, halsizlik, baş dönmesi, dengesizlik, diplopi, tremor; bilişsel bozukluk; agresif davranış, depresyon; hiponatremi
B	• İmmünolojik veya genetik duyarlılıkla ilgili • Seyrek (%0.1–1) veya nadir (< %0.1) • Tahmin edilemez ve geri dönüşümlü • Yüksek morbidite ve mortaliteye sahip	Eozinofili ve sistemik semptomlarla birlikte ilaç reaksiyonu, toksik epidermal nekroliz, Stevens-Johnson sendromu, makülopapüler egzantem; aplastik anemi, agranülositoz; hepatotoksisite, pankreatit
C	• İlacın kümülatif dozu ile ilgili • Yaygın (%1–10) • Kronik ve çoğunlukla geri dönüşümlü	Kilo alımı, kemik bozuklukları
D	• İlaça prenatal maruziyetle ilgili (teratojenite) • Seyrek (%0.1–1) • Dozla ilişkili • Gecikmeli ve geri dönüşümsüz	Nöral tüp defektleri, kardiyovasküler ve üriner sistem anomalileri, dudak damak yarığı gibi konjenital malformasyonlar
E	• İlaç etkileşimleri • Yaygın (%1–10) • Tahmin edilebilir ve geri dönüşümlü	KBZ eklendikten sonra varfarinin etkinliğinde azalma, sodyum kanalı bloke eden antiepileptik ilaçların kombinasyonu ile MSS nörotoksitesi riskinde artış
F	• Tedavinin başarısızlığı • Yaygın • Dozla ilişkili • İlaç etkileşimleriyle ilişkili	KBZ'nin etkinliğinde azalma

Tablo 2.4. Farklı tiplere göre sınıflandırılmış KBZ advers reaksiyonları ^[140]

2.4. İLAÇ UYGULAMA YOLU OLARAK İNTRANAZAL YOL

Son yıllarda intranazal ilaç uygulaması, nörolojik bozuklukların terapötik etkisini iyileştirmede umut vadeden bir yöntem olarak büyük ilgi görmektedir. Burun-beyin yolu, kan-beyin bariyerini (KBB) atlayarak beyne benzersiz ve doğrudan bir erişim sağlar ve böylece geleneksel ilaç dağıtım stratejileriyle ilişkili zorluklara potansiyel bir çözüm sunar. İntranazal ilaç uygulamasını inceleyen klinik çalışmalar, bu yaklaşımın uygulanabilir bir terapötik yöntem olarak potansiyelini vurgulayan etkileyici sonuçlar ortaya koymuştur ^[142].

Nazal uygulamanın özellikle hızlı etki başlangıcı, artırılmış ilaç biyoyararlanımı, azaltılmış sistemik yan etkiler ve geliştirilmiş beyin hedeflemesi gibi çeşitli avantajları bulunmaktadır ^[143,144]. Ayrıca, nispeten yüksek biyoyararlanım, uygulama sırasında düşük yaralanma riski ve invaziv olmayan kendi kendine uygulama olanağı, maliyet etkinliğini ve hasta uyumunu artırmaktadır. Dahası, intranazal olarak uygulanan ilaçların, uygulamadan sonraki sadece 5 dakika içinde santral sinir sistemine (SSS) eriştiği ve 30 dakika içinde de beynin daha uzak bölgelerine ulaştığı gözlemlenmiştir ^[145].

Bununla birlikte, tutarlı ve öngörülebilir burun-beyin ilaç dağılımını sağlamak için ele alınması gereken devam eden sınırlamalar ve zorluklar mevcuttur. İlk olarak, intranazal uygulamanın dozu oldukça sınırlıdır; genç yetişkinlerde burun hacmi yaklaşık 6 cm³ olup, bir seferde yalnızca 200 µL'nin altında bir hacim uygulanabilir ^[146]. Ayrıca, ilaçların nazal boşluktan hızlı temizlenmesi ve potansiyel enzimatik bozunma, daha fazla araştırma gerektiren engeller sunmaktadır ^[144]. Nazal mukus, nazal epitel ve lamina propria, burun-beyin ilaç dağılımına karşı doğal anatomik bariyerleri birlikte oluşturmaktadır ^[147]. Son olarak, nazal silya veya farklı nazal hücreler üzerindeki olası toksisite, lokal enflamasyon oluşumu ve potansiyel sistemik etkiler, birincil güvenlik endişeleri olarak öne çıkmaktadır.

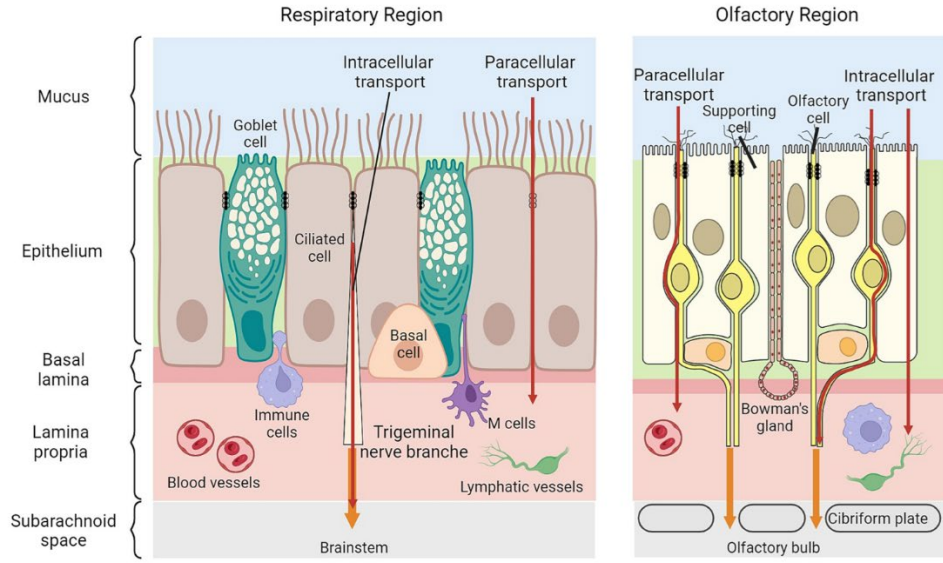
İntranazal ilaç uygulamasının potansiyelinden tam anlamıyla yararlanmak için, bu sınırlamaların üstesinden gelmeye yönelik kapsamlı bir çaba gerekir.

Nanopartikül bazlı formülasyonların entegrasyonu, önemli potansiyel çözümler sunar. Nanopartiküllerin burun-beyin yolu ile etkileşimleri, ayarlanabilir boyutları, yüzey modifikasyon yetenekleri ve kontrollü salım profilleri gibi benzersiz özelliklerinden faydalanarak, ilaçların nazal boşluktaki kalış süresini artırmak, enzimatik bozunmadan korumak ve beyne etkin taşınmayı teşvik etmek amaçlanır.

Nanopartiküllerin burun-beyin yolunu geçerken etkinliğini optimize etmede önemli fırsatlar hâlâ keşfedilmeyi beklemektedir. Nanopartiküller ile burun-beyin yolu arasındaki karmaşık etkileşimin kapsamlı bir incelemesi, bu alandaki kritik bir araştırma hedefi olarak durmaktadır.

2.4.1. Burun-beyin yolu ve aşılması gereken zorluklar

İntranazal uygulamanın ardından, terapötik ajanlar, doğal fizyolojik bariyerleri aşmak için kritik bir adım olan ekstraselüler matriksin bileşenleri ve çeşitli hücre katmanlarıyla sürekli etkileşime girerler. Bu süreç, onların üç farklı katmanla etkileşimini gerektirir: mukus tabakası, epitel ve lamina propria (Şekil 2.11).



Şekil 2.71. Burun epitelinin anatomisi ve bu bariyeri aşan ana yol. Burun epiteli üç farklı bölgeye ayrılır: vestibüler alan, solunum bölgesi ve olfaktör bölge. Partiküller, beyne giriş yapmak için ya hücre içi ya da parasellüler yolları kullanır [167].

2.4.1.1. Mukus tabakası

Nazal mukus, glikoproteinler, proteinler, hücreler, hücre kalıntıları ve lipidler gibi farklı maddelerden oluşan heterojen bir karışımdır. Yapısal olarak iki ayrı tabakadan meydana gelir: üstteki daha kalın ve yapışkan tabaka ile alttaki daha ince ve daha az viskoz tabaka [148]. Alt tabaka, epitel hücrelerinin silyalarıyla doğrudan temas halindedir. Bu tabakayı aşması gereken maddeler; mukosilyer klirens, mukusun enzimatik yıkımı ve mukus glikoproteinleri tarafından oluşan tıkanma gibi çeşitli engellerle karşılaşmaktadır.

- **Mukosilyer klirens:** Mukus ve silya arasındaki sinerjik etkileşim, mukosilyer klirensin sağlanmasında kritik bir rol oynar. Silyaların sürekli ve koordineli titreşimi, mukusu farinkse ve ardından gastrointestinal sisteme doğru ileterek, mukusa yapışmış bakteriler ve toz parçacıkları gibi yabancı maddelerin etkili bir şekilde uzaklaştırılmasını sağlar [149]. Sağlıklı bireylerde mukosilyer klirens yaklaşık olarak dakikada 10 mm hızında gerçekleşir; ancak bu hız, havadaki iritanlara veya nazal rahatsızlıklara bağlı olarak değişiklik gösterebilir [150]. Genellikle, nazal yolla uygulanan

ilaçların formülasyonları, uygulama bölgesinden yaklaşık 30 dakika içinde elimine edilir ^[151].

- **Enzimatik metabolizma:** Burun-beyin yolu, sindirim sisteminde meydana gelen yıkım ve işlemeyi atlatırken, ilaçların bozulmasında nazal enzimlerin önemi göz ardı edilmemelidir. Koku epiteli ve Bowman bezleri olarak bilinen nazal bezler, çeşitli metabolik enzimler salgılar. Bu enzimler arasında sitokrom P450, dehidrogenazlar, oksidazlar, redüktazlar, aminopeptidazlar, glutatyon S-transferaz, uridin difosfat-glukuronil transferaz ve esterazlar yer almaktadır ^[152,153]. Fizyolojik koşullar altında, nazal mukusta bulunan bol miktardaki enzimler, koku moleküllerinin kimyasal yapısını aktif olarak değiştirerek onları inert hale getirir ve böylece koku reseptörlerinin aşırı uyarılmasını önler ^[154]. Bu enzimatik dönüşüm, koku maddelerinin metabolizasyonu yoluyla olfaktör uyarıların algılanmasını da modüle eder. Bu süreç hem hücre içinde hem de mukusta gerçekleşmektedir ^[155,156]. Nazal sitokrom P450'ye bağımlı monooksijenazların, kokain, nikotin, progesteron ve dekonjestanlar gibi bileşikler metabolize ettiği bildirilmiştir. Mukusta bulunan aminopeptidazların varlığı, peptit ve proteinlerin emilimini önemli ölçüde etkiler ^[157]. Safra tuzları ve yağ asitleri gibi bazı yüzey aktif maddeler, proteolitik enzimleri inhibe ederek emilimi artırabilir ^[158].
- **Protein ve glikoprotein ağı tarafından engellenme:** Burun mukusunda bulunan proteinlerin büyük bir kısmı, goblet hücreleri ve nazal bezler tarafından sentezlenen müsinlerdir ^[159]. Bu müsinlerin kapsamlı O-glikozilasyonu, büyük glikanların oluşumu için kritiktir ve bu da müsin bölgelerinin yapısal bütünlüğünü artırır ve güçlendirir ^[160]. Müsin molekülleri arasındaki hidrofobik, elektrostatik ve hidrojen bağı etkileşimlerinin karmaşık düzeni, yabancı partiküllerin hareketini etkili bir şekilde engelleyen sağlam bir yapı oluşturur ^[161,162]. Ayrıca, kapsamlı proteomik çalışmalar, burun mukusunda çok sayıda proteinin varlığını doğrulamıştır; bunlar arasında vasküler bileşenler (albümin, immünoglobulinler gibi), glandüler bileşenler (müsinler, lizozim, laktoferrin

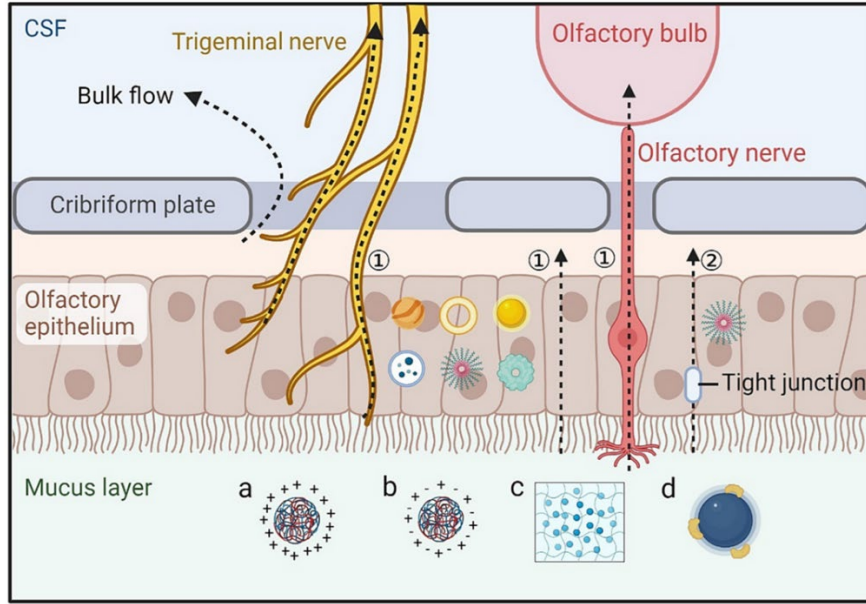
gibi) ve epitel proteinleri (keratinler gibi) yer almaktadır ^[163]. Plazmadan salınan ve epitel tabakası tarafından üretilen proteinler, mukus bariyerini güçlendirerek savunma yeteneklerini artırır ^[164]. Bu karmaşık protein ağı, patojenlerin istilasını önlemek için hayati öneme sahiptir. Bununla birlikte, partiküllerin mukusu etkili bir şekilde geçebilmesi ve hızlı temizlenme ile bozunmadan kaçınabilmesi için, bu bariyeri ustalıkla aşmaları gerekmektedir. Mukusun bileşimi, özellikle MUC5AC ve MUC5B gibi temel hava yolu münlerinin oranı, bariyerin geçirgenliği ve esnekliği üzerinde önemli bir etkiye sahiptir ^[165,166].

2.4.1.2. Nazal epitel

Burun mukus bariyerini aştıktan sonra, nazal epitel yabancı partiküllerin girişini engelleyen kritik bir fiziksel bariyer olarak işlev görür. Bu epitel, sıkı bağlantılarla birbirine bağlanmış çeşitli hücre tiplerinden oluşan karmaşık bir mimariye sahiptir. Bu karmaşık ortamda, kimyasal maddeler daha derin doku katmanlarına ulaşmak için iki ana mekanizma—hücre içi yollar ve hücre dışı yollar—kullanır ^[167].

2.4.1.3. Lamina propria

Olfaktör hücreler ve trigeminal sinirler aracılığıyla beyin dokusuna doğrudan taşınımın yanı sıra, diğer yollar da maddeleri alttaki lamina propriaya taşır. Lamina propria, olfaktör mukozada yer alan ince bir bağ dokusu tabakası olup periosteuma sıkıca bağlıdır. Bu tabaka, çok sayıda bez, sinir, kan damarı ve lenfatik damar içerir.



- ① Intracellular pathway (through olfactory nerves, trigeminal nerves, and epithelial cells)
 ② Extracellular pathway
- Exosome Polymer Protein-based nanoparticle
 Lipoprotein Lipid-based nanoparticle Inorganic nanoparticle

Şekil 8.12. Nanopartiküller ile burun-beyin yolu arasındaki etkileşim. İntranazal uygulamadan sonra, nanopartiküllerin SSS'ye ulaşmak için mukus tabakası ve lokal hücrelerle etkileşime girmesi gerekmektedir. Mukus tabakasında: (a) Pozitif yüklü nanopartiküller mukusa olan yapışmayı artırabilir; (b) Yüzeylerinde hem pozitif hem de negatif yüklü gruplar dağıtılmış olan partiküller penetrasyonu kolaylaştırabilir; (c) Nanosüspansiyonlar gibi yaklaşımlarla artırılmış retansiyon ve penetrasyon sağlanabilir; (d) Protein korona oluşumu, nazal epitel üzerinden penetrasyonu kolaylaştırabilir ^[167].

2.5. KİTOSAN

2.5.1. Kitosanın Tarihçesi ve Kaynakları

Kitin ve kitosan hakkındaki ilk kapsamlı yayın, Muzarelli tarafından 1977’de yapılmış, daha sonra bu konuda yapılan araştırmalar günümüze kadar gelmiştir ^[168].

Kitin Fransız bilim adamı Henri Braconnat tarafından 1811 yılında mantardan izole edilerek keşfedilmiş, Odier aynı bileşiği 1823 yılında böceklerin kabuğunda bulmuştur ^[169]. Adını Yunancada „zırhlı örtü“ anlamına gelen „chiton“ kelimesinden almıştır ^[170], selülozdan sonra doğada en bol bulunan doğal polimerdir ^[171].

Kitin günümüzde Hindistan, Polonya, Avustralya, Norveç ve Japonya’da ticari olarak üretilmektedir. Bu biyopolimerin Yılda 10^{10} ila 10^{12} ton üretildiği tahmin edilmekte ve bu nedenle ucuz ve kolayca bulunabilen bir kaynağı temsil etmektedir ^[172].

Kitosanın tarihi ise ilk olarak 1859 yılında Rouget tarafından kitinin derişik potasyum hidroksit ile kaynatılması sonucunda elde edilmesine dayanır ^[169]. Bazı mantar hücre duvarlarında doğal olarak bulunur ^[173]. Tablo 2.5.’te bazı kitin ve kitosan kaynakları verilmiştir ^[174].

Deniz hayvanları	Haşarat	Mikroorganizmalar
Annelida	Akrepler	Yeşil alg
Mollusca	Örümcekler	Maya (β -tipi)
Coelenterata	Brakiyopodlar	Mantarlar (hücre duvarı)
Kabuklular	Karıncalar	Mycelia penicillium
İstakoz	Hamamböcekleri	Kahverengi algler
Yengeç	Böcekler	Sporlar
Karides		Chytridiaceae
krill		Askomitler
		blastocladiaceae

Tablo 2.5. Kitin ve kitosan kaynakları ^[174].

2.5.2. Kitosanın Yapısı

Kitinden türetilen biyobozunur, antijenik olmayan, toksik olmayan ve biyouyumlu bir doğal polimer olan kitosana olan ilgi, yüksek antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteler de dahil olmak üzere çeşitli sağlık açısından yararlı etkilerinden kaynaklanmaktadır ^[175]. Scopus veritabanında kitosan üzerine 17.000'den fazla atıf bulunmuştur. Bu yüksek atıf sayıları, kitosanın kimyası ve uygulamaları ile ilgili özel bir ilgiyi yansıtmaktadır ^[176]. Kitosanın biyomedikal endüstride çeşitli uygulamaları vardır (Tablo 2.6) Ayrıca, birçok çalışma, kitosanın güçlü antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir; bu nedenle tek başına veya diğer polimerlerle kombinasyon halinde antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilir ^[177].

Kitosan, beta-1,4 bağlı D-glukozamin (deasetillenmiş birim) ve N-asetil-D-glukozamin (asetillenmiş birim) yapılarından oluşur ve bu birimler polimerin içinde rastgele dağılmıştır. Kitosan doğal bir katyonik polimer iken, polisakkaritlerin çoğu ya nötr ya da anyonik yüke sahiptir. Kitosanın bu özelliği, diğer sentetik polimerler veya negatif yüklü doğal polimerlerle çok katmanlı yapılar veya elektrostatik kompleksler oluşturulmasına olanak tanır ^[178]. Kitosan ayrıca antimikrobiyal ^[179-183], antitümör ^[184] ve antioksidan ^[183, 185] özellikler gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir.

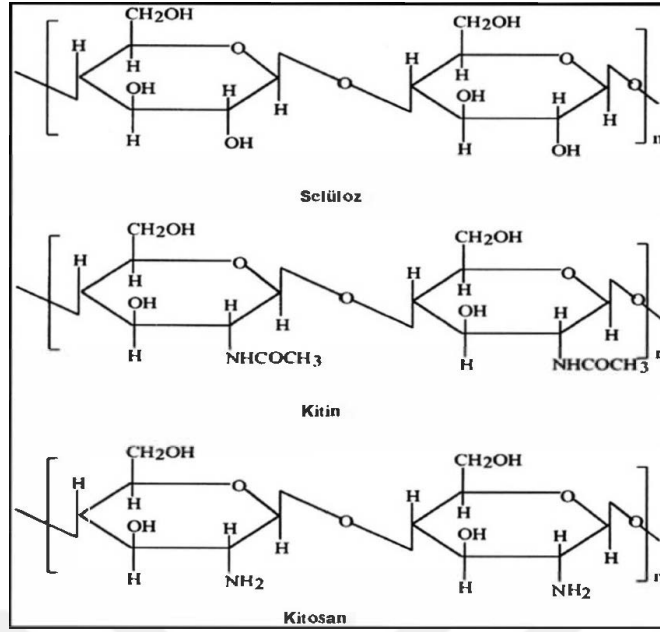
Uygulama	Bileşen/Özellikler	Yararlı Etkiler	Referans
Biyomedikal ve farmasötik amaçlar			
1. İlaç taşıyıcı materyal	Kitosan mikroküreleri	- Hedeflenmiş ve uzun süreli ilaç salınımı için taşıyıcı olarak kullanılır - Protein gibi parçalanabilir maddelerin biyoyararlanımını artırır (↑) - Epitel katmanları boyunca hidrofobik maddelerin alımını artırır (↑)	Sinha et al. [235]
2. Yara bakım materyali	Kitosan ağ membranı	- Yara iyileşme süresini azaltır (↓) - Granüler tabakanın iyileşmesini artırır (↑)	Azad et al. [236]
	Kitosan kollajen karışım membranı	- E. coli ve S. aureus'a karşı antimikrobiyal aktiviteyi artırır (↑) - Yaranın aşırı kurumasını azaltır (↓)	Wu et al. [237]
	Aljinat/karboksimetil kitosan karışım lifleri	- Su tutma kapasitesini artırır (↑) - S. aureus'a karşı antibakteriyel aktiviteyi artırır (↑)	Fan et al. [238]
	Kollajen ve kitosan kompozit nanolifli membranlar (NFM)	- Yara iyileşmesini artırır (↑) - Doku rejenerasyonunu artırır (↑)	Chen et al. [239]
	Polietilen oksit ile elektro-eğirilmiş kitosan lifi	Periodontal hastalıkta yara bölgesinde yüzey tabakası olarak etkili bir şekilde kullanılır.	Qasim et al. [240]
	Tetrasiklin hidroklorür veya gümüş sülfadiazin yüklü kitosan membranları	- Islanabilirliği artırır (↑) - Şişme oranını, su buharı geçirgenliğini ve çekme mukavemetini azaltır (↓) - E. coli ve S. aureus'a karşı antimikrobiyal aktiviteyi artırır (↑)	Ma et al. [241]
	Kitosan titanyum dioksit kompozit membranları	- S. aureus'a karşı antimikrobiyal aktiviteyi artırır (↑) - Fibroblast hücrelerinde oksidatif stresi ve apoptozu azaltır (↓) - L929 fibroblast hücrelerinde proliferasyonu artırır (↑)	Behera et al. [242]
	Kitosan nano-gümüş pansumanı	İnvaziv olmayan pansuman kullanarak yara iyileşmesini artırır (↑)	Ghannam et al. [243]
	Norfloksasin yüklü kitosan süngerleri	- Pansuman, normal cildin rolünü yerine getirebilir. - Antibiyotik salınımı, şişmeye bağlı olarak kontrol edilir.	Denkbaş et al. [244]
	Kitosan-jelatin sünger	- E. coli K88'e karşı antimikrobiyal aktiviteyi penisilinden daha fazla artırır (↑) - S. aureus'a karşı antimikrobiyal aktiviteyi sefadinden daha fazla artırır (↑)	Deng et al. [245]

Tablo 2.6. Kitosan ve türevlerinin bazı biyolojik uygulamaları

Kitosanın moleküler ağırlığı ve deasetilasyon derecesi, biyolojik aktivitelerini önemli ölçüde etkiler ^[186]. Kitosan, ilaç taşıyıcıları ^[187], su arıtma ^[188] ve doku mühendisliği için iskele ^[189] gibi birçok biyomedikal ve biyolojik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır. Benzersiz biyolojik aktiviteleri nedeniyle, kitosan son yıllarda özellikle nanopartikül literatüründe önemli ölçüde ilgi görmüştür.

Kitosan, kitinden türetilen bir polisakkarittir. Kabuklular, böcekler, eklembacaklılar gibi canlıların dış iskeletinde ve mantar hücre duvarında bol miktarda bulunan doğal bir polimerdir ^[190]. Ticari olarak temin edilen kitosan, çoğunlukla karides, ıstakoz ve yengeç kabukları gibi deniz ürünlerinden elde edilen kitinden türetilir. Kitosan, N-asetil glukozamin ve D-glukozamin monomerlerinden oluşan kitinin N-deasetillenmiş formudur. Kitosanın aksine, kitinin düşük suda çözünürlüğü ve düşük reaktivitesi nedeniyle kullanımında bazı sınırlamalar bulunmaktadır. Bununla birlikte, kitosan daha hidrofiliktir ve serbest amino grubu sayesinde daha fazla kimyasal modifikasyon potansiyeline sahiptir. Kitosan, kitinin konsantre NaOH çözeltisi ile muamele edilmesiyle üretilir ve bu işlem N-deasetilasyon ile sonuçlanır ^[191].

Kitosanın fiziko-kimyasal özellikleri, moleküler ağırlık ve N-deasetilasyon yüzdesi ile tanımlanır. Kitosanın N-deasetilasyonu iki şekilde tanımlanabilir: Deasetilasyon derecesi (DD) veya asetilasyon derecesi (AD). Daha yaygın kullanılan terim DD'dir ve bu, polimerin toplam birim sayısına kıyasla N-asetil glukozamin monomerlerinin oranını temsil eder. Bu, kitosanın doğal kitine göre geliştirilmiş özelliklerinin N-deasetilasyonun bir sonucu olması nedeniyle önemli bir faktördür. Polimerin AD'si değişebilir, ancak genellikle %50'nin altındadır ^[192]. Kitosan, sulu asidik ortamda AD'si 0.7'den düşük olduğunda çözünür ve AD'si 0.45–0.55 aralığında olduğunda optimum çözünürlük gösterir ^[193].



Şekil 2.13. Selüloz, kitin ve kitosanın kimyasal yapıları ^[246].

Kitosanın DD'si, N-asetil-D-glukozamin ile D-glukozamin yapısal birimlerinin oranıdır ve işlem süresi arttıkça orantılı olarak artar. Bu, yük dağılımı, nem emilimi, içsel viskozite ve kitosanın sulu çözeltilerde çözünürlüğü üzerinde etkili olur ^[194]. DD'yi tanımlamak için UV spektrofotometri, FTIR spektroskopisi, ¹H NMR, ¹³C katı hal NMR spektroskopisi, çeşitli titrasyon yöntemleri, elementel analiz, denge boya adsorpsiyonu, asit bozunumu sonrası HPLC ve termal analiz gibi birçok analitik araç kullanılabilir ^[195].

2.5.3. Kitosanın antimikrobiyal aktivitesi

Kitosan, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin yanı sıra mantarlara karşı güçlü bir antimikrobiyal aktiviteye sahiptir ^[177, 179-183]. Kitosanın antimikrobiyal özellikleri, patojen türü, ortamın pH'ı, yapısal özellikler (özellikle DA ve moleküler ağırlık), kitosanın kaynağı ve konsantrasyonu gibi temel faktörlere bağlıdır ^[196-198]. Ortamın pH'ı, kitosanın antimikrobiyal aktivitesi için kritik bir unsurdur. Kitosan, pH 6.5'in altında antimikrobiyal

aktivite sergiler. Muhtemelen bu, polimerde bulunan çok sayıda amino grubunun varlığından kaynaklanmaktadır; burada pozitif yüklü $-NH_3^+$ grupları, patojenik bakterilerin negatif yüklü membran bileşenlerine bağlanmayı artırır [197, 199].

2.5.3.1. Kitosanın antibakteriyel etkisi

Kitosanın bakterisidal aktivitesi, mikroorganizma türünden de etkilenir. Kitosan polimeri, Gram-pozitif bakterilere (*Bacillus cereus*, *S. aureus*, *Bacillus megaterium*, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus brevis* ve *Lactobacillus bulgaricus* gibi) ve Gram-negatif bakterilere (*Salmonella typhimurium*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Enterobacter aerogenes* ve *Vibrio cholera* gibi) karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptir [197, 198]. Bu nedenle, kitosanın geniş bir antibakteriyel aktivite yelpazesine sahip olduğu düşünülmektedir; ancak, Gram-negatif veya Gram-pozitif bakterilere karşı daha etkili olup olmadığı konusunda bazı tartışmalar vardır. Bazı yazarlar, kitosanın Gram-negatif bakterilere karşı daha güçlü bakterisidal aktivite gösterdiğini bildirmiştir [200], diğerleri ise tam tersini belirtmiştir [201].

AD değeri, bu etkiye katkıda bulunan serbest amino gruplarının (pozitif yüklü) sayısını belirleyerek kitosanın antimikrobiyal aktivitesini etkiler. Buna bağlı olarak, AD azaldıkça antimikrobiyal aktivitenin artacağı öngörülmektedir [179, 202, 203]. Genel olarak, kitosan, kito-oligosakkaritlere göre daha yüksek aktiviteye sahiptir ve optimum bir moleküler ağırlık değeri vardır, ancak bu, test edilen patojenlere bağlıdır [197, 204]. Kitosan kaynakları deniz veya mantar kaynaklı olabilir. Farklı kaynaklardan elde edilen kitosanın aktivitesi karşılaştırıldığında, deniz kaynaklı kitosanın *Rhizopus oryzae* mantarından elde edilen kitosana göre daha yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur [198]. Bununla birlikte, başka bir çalışmada, shiitake mantarından elde edilen ham

mantar kitosanın, kabuklu deniz ürünlerinden elde edilen kitosandan daha güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir ^[205]. Kitosanın etki mekanizması farklı olası mekanizmalara sahip olabilir. Daha önceki çalışmalar, kitosanın antibakteriyel özelliklere sahip olduğunu göstermektedir, ancak kesin mekanizma tam olarak bilinmemektedir ve yukarıda belirtildiği gibi, birçok faktör aktiviteyi etkiler ^[12]. Kitosanın antibakteriyel özelliklerinin, yenilebilir ambalajlama ile de ilişkilendirildiği belirtilmiştir ^[206]. Kitosandan elde edilen biyofilmler, uzun süreli antimikrobiyal kaplama kapasitesine sahip olup, meyveler, tahıllar, sebzeler ve balık gibi gıda maddelerinde mikrobiyal enfeksiyonu geciktirmekte, kitosan bir koruyucu bariyer görevi görerek besin kalitesini ve dokusunu artırmaktadır ^[207, 208]. Ayrıca, koruyucu bir bariyer olarak, yenilebilir biyopolimer filmler, gıda kalitesini artırmak için biyolojik olarak aktif bileşiklerin taşıyıcıları olarak kullanılabilir.

Polimerik biyolojik aktif filmler, bakteriokinler, organik asitler, proteinler, bitki özleri, antibiyotikler, fungusitler ve şelatlayıcı ajanlar (EDTA) gibi çeşitli antimikrobiyal ajanlarla birleştirilebilir ve patojenleri azaltarak gıda israfını azaltmak ve raf ömrünü uzatmak için kullanılabilir ^[209]. Kitosan bazlı yenilebilir filmler biyolojik olarak parçalanabilir ve ürünlerin paketlenmesinde kullanılabilir. Ayrıca, gıdanın içindeki kaliteyi ve görünümünü koruyan mükemmel mekanik özelliklere sahip biyolojik aktif filmler oluştururlar ^[210].

2.5.3.2. Kitosanın antifungal etkisi

Kitosan, *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Candida lambica*, *Phomopsis asparagi* gibi küfler ve mayalara karşı antifungal aktiviteye sahiptir. Bu özelliklerin, daha çok fungisidal olmaktan ziyade fungistatik olmasına, spor çimlenmesine, büyümenin engellenmesine ve tüp uzamasının baskılanmasına bağlı olduğu düşünülmektedir ^[211]. Etki mekanizması, doğrudan büyümeyi engelleyen hücre duvarı yapısına bağlıdır.

Kitosanın, bakterilere kıyasla mantarlarda daha hızlı etki göstermesi beklenir [179].

Bazı kitosan türevlerinin, kitosandan daha güçlü antifungal aktiviteye ve muhtemelen fungisidal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Bu bağlamda, Li ve ark. [212], 4-(5-kloro-2-hidroksi benziliden amino)-piridin (CHPACS) ve 4-(5-bromo-2-hidroksi benziliden amino)-piridin (BHPACS) olarak bilinen iki kuaterner kitosan türevinin, *Cladosporium cucumerinum* ve *Monilinia fructicola*'ya karşı %100'e kadar inhibisyon oranı gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, Tan ve ark. [213], kuaterner fosfonyum gruplarına sahip kitosan türevlerinin antifungal ajanlar olarak potansiyel kullanımını tanımlamıştır. Özellikle, modifiye kitosan türevlerinin çok duvarlı karbon nanotüp biyokompozitleri, *Cryptococcus neoformans*'a karşı çok güçlü bir antifungal aktivite göstermiştir [214]. Daha yakın zamanda [215], sabit hidrofilik gruplar ve dietilaminoetil içeren fakat farklı moleküler ağırlıklara sahip kitosan türevlerinden oluşan bir zincirin, *Aspergillus flavus*'a karşı üstün antifungal özellikler gösterdiği ortaya konulmuştur [248].

2.5.4. İlaç Dağıtıcı Sistem Olarak Kitosan Nanopartikülü

Kitosanın en önemli özelliği, yapısında reaktif fonksiyonel grupların bulunmasıdır; bu, C2 konumunda amino grupları ve C3 ile C6 konumlarında OH grupları anlamına gelir (Şekil 2.13). Bir yandan, vücutta amino gruplarının miktarını yansıtan DD değerleri, bozunma ile ters orantılıdır; yani, daha yüksek DD (> %85) değeri, daha yavaş bozunma anlamına gelir. Öte yandan, bu gruplar kitosanın çözünürlüğünü kolaylaştırır. Yukarıda bahsedildiği gibi, reaktif gruplar ayrıca elektrostatik etkileşimler yoluyla kitosanın kimyasal modifikasyonunu sağlar ve böylece saf kitosanın kullanımına bağlı sınırlamaların üstesinden gelinmesine olanak tanır. Ek olarak, moleküler ağırlık

ve DD, kitosanın ilaç enkapsülasyonunun verimliliğini etkileyen iki kritik özelliktir ^[216-219].

Kitosanın benzersiz biyolojik ve kimyasal özellikleri, onu özellikle ilaç veya gen iletimi alanlarında, biyomedikal ve farmasötik alanlarda birçok uygulamada iyi bir konuma getirmiştir. Kitosanın polikatyonik yapısı, materyalin daha kolay biyoadeziv ve çözünür olmasını sağlar; müköz membranlar gibi negatif yüklü yüzeylere elektrostatik etkileşimler yoluyla kolayca bağlanır. Böylece, mukozaya olan yapışmayı artırır ve aktif maddelerin mukozaya nüfuz etmesi için temas süresini uzatır. Kitosanın çok yönlü özellikleri, küçük molekülü ilaçlar da dahil olmak üzere anyonik ilaç dağıtım sistemlerinde (İDS) ve DNA veya siRNA'nın nükleik asitleri gibi polyanionik biyomoleküllerde kullanılabilir ^[247]. Taşınabilirliği yükü birlikte artar, bu nedenle pH'a bağlı bir ilaç taşıyıcı olarak uygulanabilir. Kitosanın nüfuz etme mekanizması, aynı zamanda hücre zarı ile pozitif yüklü polimerin etkileşimine dayanır. Yüksek deasetilasyon derecesi ve yüksek moleküler ağırlığa sahip kitosan, epitelin görece geçirgenliğini gösterir ve bu nedenle polar ilaçların epitel yüzeyleri boyunca taşınmasını artırabilir ^[220-224].

Kitosan, aynı zamanda üstün biyouyumluluğu ve doğal glikozaminoglikan yapısal afinitesi nedeniyle düşük toksisite ile karakterizedir. İnsan vücudu tarafından tamamen emilen toksik olmayan metabolitlere kolayca yıkılır. Kitosan ayrıca efflux pompasını da inhibe eder; esas olarak ilaçlar olmak üzere ksenobiyotikleri dışarı pompalayan bağırsak epitel hücrelerinin veya enterositlerin zarında belirli proteinlerin taşınmasını engeller; bu taşıyıcılar ilaç direnci mekanizmalarının önemli unsurlarıdır ^[225-229].

Kitosanın birçok değerli fonksiyonel özelliği olmasına rağmen, ilaç taşınmasında kullanımını etkileyen bazı sınırlamaları da vardır. Düşük termal

stabilite ve yumuşaklık, yüksek hidrofiliklik ve şişme derecesine sahiptir. Ek olarak, zayıf çözünürlük, kullanımındaki önemli bir sınırlayıcı faktördür. Esasında kitosanın çözünürlüğünü artırmak, kitosanın makul kullanımı için temel bir konudur. Kitosanın kimyasal türevleri, bu sınırlamaların üstesinden gelmesine ve iyileşmesine olanak tanır. Kitosan türevleri bilim insanları arasında giderek daha popüler hale gelmektedir, bu da daha iyi ve daha iyi modifikasyonların kullanıldığı anlamına gelir. Farmasötik endüstride en yaygın kullanılan kitosan türevleri, asilasyon, karboksimetilasyon, kuaternerleştirme ve tiolasyon yoluyla elde edilir [225, 226, 230].

Kitosan, esas olarak biyouyumluluğu, biyoadeziv özellikleri ve artırılmış emilim etkisi nedeniyle İDS'de uygulanabilecek potansiyel bir biyopolimer bazlı taşıyıcı olarak düşünülmüştür. Kitosan bazlı İDS, yaygın olarak NP'ler, hidrojel ve polimerik hidrojel membranlar şeklinde kullanılmıştır (Tablo 2.7). Bu kitosan bazlı İDS türleri arasında, NP'ler farmasötik kullanım için en umut verici formülasyonlardır. Kitosan nanopartikülleri (KNP'ler), doğal veya kimyasal olarak modifiye edilmiş polimerlerle aynı özellikleri sergiler. KNP'lerin hazırlanması, kitosanın kimyasal özellikleri nedeniyle hafif koşullar altında gerçekleşir; oda sıcaklığında asidik sulu çözeltilerde çözünür ve toksik organik çözücüler veya ısıya ihtiyaç duyulmaz.

KNP bazlı İDS'ye küçük moleküller, proteinler ve polinükleotitler de dahil olmak üzere geniş bir yelpazede ilaçlar dahil edilebilir. Nanopartiküller, kapsüllenmiş ilacı kontrollü bir şekilde serbest bırakabilir. KNP'ler, dünya genelinde araştırmacıların büyük ilgisini çekmektedir. KNP aktivitesinin mekanizmasını tanımlayan ve inceleyen 1500'den fazla makale yayınlanmıştır. KNP'ler ilaç iletiminin her olası yolunda kullanılabilir—oral, oküler, nazal, pulmoner, bukkal, periodontal, vajinal, kutanöz ve transdermal ilaç iletimi ve yara iyileşmesi başta olmak üzere, aşı ve gen iletiminde de kullanılabilir [231-234].

Yapı Şekilleri	Kimyasal Yapı	Uygulama
Nanosferler	- Matris sistemi, - İlaç yoğunlukla yüzeyde emilir veya molekül içine kapatılır.	- Uzun süreli ve sürdürülebilir ilaç salımı, - Periodontal ve kemik tamiri, - Fototermal dönüşüm verimliliğini artırma, - Kemoterapi ilaçlarında kullanım
Nanokapsüller	- Boş çekirdek yapılar, - İlaç genellikle kitosan kaplaması ile kaplanmış yağlı bir çekirdeğe dahil edilir.	- Ardışık ilaç salımı, - Kanser tedavisinde kullanılır, kanser hücrelerinin canlılığını azaltır, - Yara iyileşmesini teşvik etme
Nanolifler	- Şekli boyunca -NH₂ ve -OH grupları ile belirli yapı, - Polimer çözeltisinden elektro-eğirme ile üretilir, - İlaçlar liflerin üretimi sırasında yüklenir veya bitmiş liflerle karıştırılır.	- Uzun süreli ilaç salımı, ilaçların, peptitlerin ve aşı antijenlerinin iletimi, - Kemik rejenerasyonu, - Düz kas doku mühendisliği, - Deri yara iyileşmesi için iskeleler

Tablo 2.7. Kitosan nanopartiküllerinin en yaygın kullanılan şekillerinin özellikleri.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. KNP VE KBZ KNP'LERİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

NP'lerin hazırlanması için 5ml, %0,5 asetik asit içeren, saf su: etanol (1:1 v/v) karışımında, %0,1 kitosan (w/v) çözeltisi hazırlanmıştır. Kitosan çözeltisi 1000 rpm'de manyetik karıştırıcı ile karıştırılırken üzerine 400µl, %0.25 tirpolifosfat (TPP, w/v) çözeltisi damla damla pipetlenmiştir. Daha sonra süspansiyon 1 saat 1000 rpm'de manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Süspansiyon 12000 rpm'de 30 dakika santrifüj edilerek toplanmıştır ve iki kez saf su ile yıkanmıştır. KBZ yüklü partiküllerin eldesi için kitosan çözeltisine %50 (w/w, kitosan) KBZ eklenmiştir ve TPP ile iyonik çapraz bağlanmıştır ^[249].

Nanopartiküllerin boy-boy dağılımları 25 °C'de, Zeta Sizer (Malvern, NanoZSP) ile belirlenmiştir. Çalışmada dağıtıcı faz olarak saf su kullanılmıştır. Refraktif indeks 1.52ml/g, absorbansı 0.01 alınmıştır ^[250].

Nanopartiküllerin fiziksel özellikleri elektron mikroskopisi incelemeleri ile belirlenmiştir. Bunun için stampların üzeri iki tarafı yapışkan bant ile kaplandıktan sonra etanol ile temizlenmiş lamel yapıştırılmıştır. Lamelin üzerine 5µl nanopartikül süspansiyonu pipetlenmiştir. Oda sıcaklığında kuruması sağlandıktan sonra altın-paladyum ile kaplanmış ve SEM görüntüleri alınmıştır.

Üretilen partiküllerin termal analizleri 25-425°C arası azot ortamında, termogravimetrik analiz cihazı (TGA, TA instruments, Q600 SDT) ile belirlenmiştir ^[251,252].

KBZ yükleme verimi UV-Vis çalışmaları ile belirlenmiştir. Bunun için farklı konsantrasyonda KBZ, etanol-suda (1:1 v/v) çözünmüş ve 280 nm'de absorbansı belirlenerek kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. KBZ yüklü nanopartiküller 12000

prm'de 15 dakika santrifüj edilerek toplanmıştır. Süpernatantta kalan KBZ miktarı UV-Vis ile belirlenmiştir. Çalışmada KBZ içermeyen partiküller kör olarak kullanılmıştır. KB Z yükleme verimi (YV) Formül 1 ile ve enkapsülasyon etkinliği (EE) Formül 2 ile belirlenmiştir ^[253].

KBZ-KNP'lerin salım profili UV-Vis çalışmaları ile belirlenmiştir. Cut-off değeri 12000Da olan dilayiz membranından tüp yapılmıştır. Donör faz olarak 10mg partikül, 5ml PBS içerisinde süspanse edilmiş ve diyaliz membranından oluşturulan tüplere pipetlenmiştir. Tüplerin ve ağzı sıkıca bağlanmıştır. Alıcı faz olarak 20 ml PBS kullanılmıştır. 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36 ve 48 saat sonra alıcı fazdan 400µl örnek alınmış, 400µl etanol eklenerek 280nm'de absorbansı belirlenmiştir. Alıcı faza 400µl PBS eklenmiştir. Kalibrasyon eğrisi vasıtasıyla zamana karşı kümülatif salım grafiği çizilmiştir ^[254].

YV (%)

$$= \frac{\text{Başlangıç CBZ } \left(\frac{\mu g}{ml}\right) - \text{Yüklenmeyen CBZ } \left(\frac{\mu g}{ml}\right)}{\text{Başlangıç CBZ } \left(\frac{\mu g}{ml}\right)} \times 100 \quad \text{Formül 1}$$

EE (%)

$$= \frac{\text{Başlangıç CBZ miktarı } \left(\frac{\mu g}{ml}\right) - \text{Yüklenmeyen CBZ } \left(\frac{\mu g}{ml}\right)}{\text{CBZ yüklü nanopartikül } \left(\frac{\mu g}{ml}\right)} \times 100 \quad \text{Formül 2}$$

KBZ yüklenmiş ve yüklenmemiş nanopartiküllerin 72 saat in-vitro degradasyonları turbidimetrik yöntemle (Lovibond, TB300IR) belirlenmiştir. Nanopartiküller pH 7.4 PBS ile süspanse edilmiş ve turbidimetrik absorbansları kaydedilmiştir. Kaydedilen absorbanslar %100 olarak kabul edilmiştir. Daha sonra süspansiyonlar 37°C'de üç gün bekletilmiş ve her gün turbidimetrik absorbansları ölçülmüştür. Nanopartiküllerin degradasyonları Formül 3'e göre belirlenmiştir.

Degradasyon (%)

$$= \frac{\text{Belirlenen gün absorbansı}}{\text{Başlangıç absorbansı}} \times 100$$

Formül 3

3.2. SIÇAN TRİGEMİNAL NEVRALJİ MODELİ

3.2.1. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları

Bu çalışmada, toplam 30 adet erkek Sprague-Dawley sıçanı (Kobay AŞ, Ankara) kullanılmış olup, deney başlangıcında sıçanların ortalama ağırlığı 250 g (220–280 g aralığında) olarak ölçülmüştür. Hayvanlar, deneyden önce 7 gün boyunca karantinede tutulmuş, bu süreçte herhangi bir mortalite olmaması üzerine tüm sıçanlar deneyde kullanılmaya kalifiye sayılmıştır. Standart kafeslerde muhafaza edilen sıçanlar, 10:14 saat karanlık/aydınlık döngüsüne sahip, ışık kontrollü ve $20 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklık ile $\%50 \pm 5$ bağıl nem oranında kontrol edilen bir ortamda tutulmuştur. Hayvanlara gıda ve su serbest erişimle sunulmuş (*ad libitum*), deneylerden 24 saat önce gıda alımı kesilmiştir. Suya erişim, açlık dönemi ve deney süresince serbest bırakılmıştır. Deneyler sırasında, ilaç uygulaması ve ölçümler boyunca sıçanlar bilinçli tutulmuş ve bu durum, prosedür boyunca fonksiyonel mukosiliyer taşımanın sağlanmasına olanak tanımıştır. Bu yaklaşım, olası mukoadheziv formülasyonların test edilmesi için uygun koşullar sunmuştur.

Deney protokolü ulusal ve uluslararası hayvan deneyleri mevzuatına ve kılavuzlarına uygun olup **Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu** tarafından **30.07.2024** tarih ve **2024/07-08** sayılı kararıyla onaylanmıştır.

3.2.2. Deney Grupları

Çalışmada toplam 30 adet sıçan kullanılmıştır. 5 ayrı grup ve her grupta 6 adet sıçan ($n=6$) olacak şekilde gruplama yapılmıştır. 6 sıçan *sham* grubu, 6 sıçan

kontrol grubu, 6 sıçan karbamazepin grubu, 6 sıçan kitosan grubu, 6 sıçan da kitosan+karbamazepin grubu olarak ayrılmıştır. Deney gruplarına yapılan cerrahi girişim, verilen ilaçlar ve verilme şekilleri ile yapılan ölçümler aşağıda ilgili bölümlerde ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

- **Grup 1: *Sham* grubu (cilt insizyonu ve infraorbital sinir diseksiyonu) (n=6):** Ketamin anestezisi altında cilt insizyonu yapılmış, distal infraorbital sinir diseke edilerek ortaya konulmuş, sinire suture konulmadan insizyon 5/0 prolene suture ile kapatılmıştır.
- **Grup 2: Kontrol grubu (n=6):** Ketamin anestezisi altında cerrahi prosedür uygulanmış, sonrasında herhangi bir molekül verilmeden 28 gün boyunca takip edilmiştir.
- **Grup 3: Karbamazepin (KBZ) grubu (n=6):** Ketamin anestezisi altında cerrahi prosedür uygulanmış, ameliyatın 24. saatinde ameliyatın yapıldığı taraftaki nostrilden tek doz karbamazepin verilmiş olan gruptur.
- **Grup 4: Kitosan (KNP) grubu (n=6):** Ketamin anestezisi altında cerrahi prosedür uygulanmış, ameliyatın 24. saatinde ameliyatın yapıldığı taraftaki nostrilden tek doz karbamazepin verilmiş olan gruptur.
- **Grup 5: Karbamazepin + Kitosan grubu (KBZ-KNP) (n=6):** Ketamin anestezisi altında cerrahi prosedür uygulanmış, ameliyatın 24. saatinde ameliyatın yapıldığı taraftaki nostrilden tek doz kitosana bağlanmış karbamazepin verilmiş olan gruptur.

3.2.3. Cerrahi Prosedür

Ameliyatlar, ketamin (150 mg/kg) ile anestezi uygulanmış sıçanlar üzerinde mikroskop kullanılarak, mikroşirürjikal tekniklerle, aseptik olarak gerçekleştirildi (Şekil 3.1). Ameliyat öncesinde, esnasında ya da sonrasında sıçanlara analjezik verilmedi. Tıraş edilmiş deri yüzeyi Batikon ile temizlendi ve fazla Batikon'un giderilmesi için %70 izopropil alkol kullanıldı. Uygulanan cerrahi prosedür Ding ve ark. tarafından 2017'de tariflenen “distal infraorbital sinir kronik daraltma hasarı (*distal infraorbital nerve chronic constriction injury* - dION-CCI)” prosedürüdür^[255].

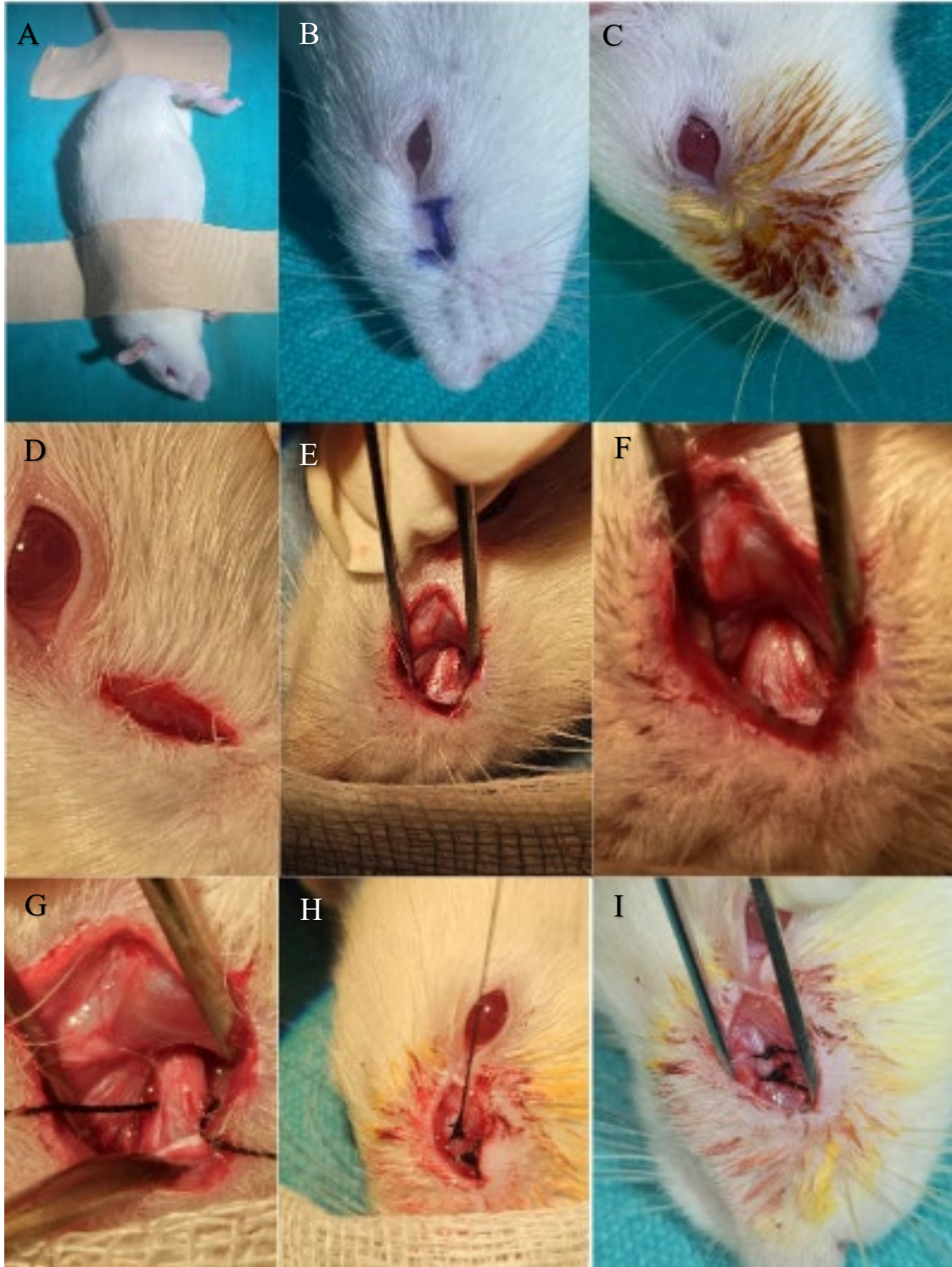


Şekil 3.6. Operasyonda kullanılan ekipmanlar ve operasyon masası

dION-CCI, orbital kavite dışında kalan infraorbital sinirin distal segmentinin fasiyal insizyonla bağlanması: Mikroşirürjikal tekniklerle mikroskop altında sol infraorbital sinirine 2 adet suture konulması planlanan sıçanlara sağ lateral dekübit pozisyon verildi, elleri ve ayakları flaster ile tespit edildi (Şekil 3.2A). Sıçanların orbita ile bıyık pedi arasındaki yüz bölgesi, bıyıklara zarar vermeden dikkatlice tıraş edildi ve boyandı (Şekil 3.2B-C).

Üçüncü büyük sırası hattının kaudal ucundan ipsilateral orbitaya doğru, orta hatta paralel olarak 0.5 cm'lik bir kesi yapıldı (Şekil 3.2D). Yüzeyel fasya, orbitanın distalindeki infraorbital sinirin gövdesinin distal segmentini açığa çıkarmak için nazikçe ayrıldı. İki adet 5/0 ipek suture, infraorbital sinirin distal kısmı etrafına 2 mm aralıkla gevşek bir şekilde yerleştirildi (Şekil 3.2E-F). İnfraorbital sinirin uygun şekilde daralmasını sağlamak için, Bennett ve Xie tarafından önerilen kriterler takip edildi ^[256]: İnfraorbital sinirin çapı hafifçe azaltıldı ve yüzeyel damar dolaşımı yavaşlatıldı ancak tamamen kesilmedi (Şekil 3.2 G-H-I). Cilt insizyonu 5/0 prolene suture ile kapatıldı. Sham gruplarında, sinirin gerçekten bağlanması hariç, aynı cerrahi prosedür, cilt kesisi ve infraorbital sinirin diseksiyonu dahil olmak üzere aynen uygulandı.

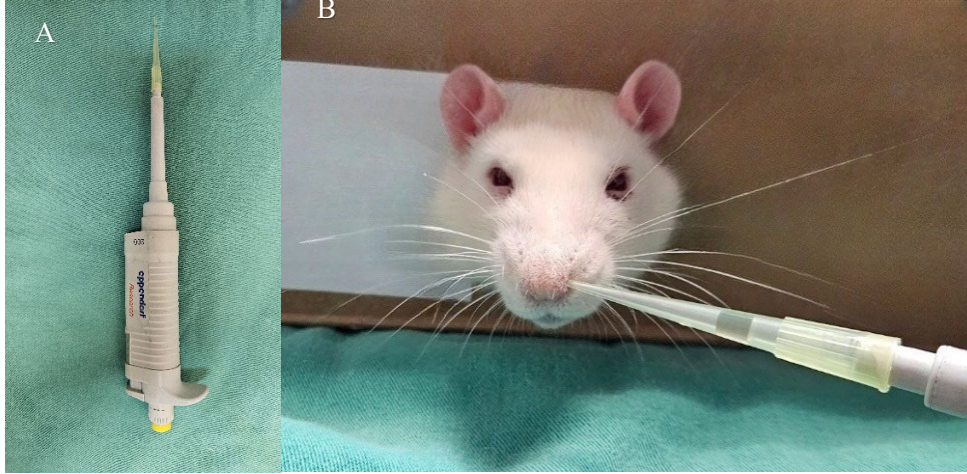




Şekil 3.7. A: Ameliyat pozisyonu. B: Planlanan insizyon. C: Aseptik olarak hazırlanan ameliyat sahası. D: Yapılan insizyon. E: Diseke edilerek ortaya konan distal infraorbital sinir. F: Diseke edilen infraorbital sinirin yakınlştırılmış görüntüsü. G: Çevre dokulardan 360 derece serbestlenen sinirden 5/0 ipek suture geçirilmesi. H: 2 mm aralıkla yerleştirilen ipek sutureların görünümü. I: Distal infraorbital sinirin operasyon sonunda cilt kapatılmadan önceki görünümü.

3.2.4. İlaç Uygulanması

Boş kitosan nanopartikülü, karbamazepin çözeltisi ve kitosan + karbamazepin nanopartikül çözeltisi ilgili deney gruplarına infraorbital sinirlerinin bağlanması 24. saatinde, ameliyatın yapıldığı sol taraftan, tek doz olarak ^[257], hacmi 50 µl'ye ayarlanmış tek kanallı, uçları 7 mm'den tarafımızca asetat kalemiyle işaretlenen mikropipetle, mikropipet ucu sıçanın nostrilinden 7 mm sokulduktan sonra ve nazal kavitenin çatısı hedeflenerek bir seferde uygulandı (Şekil 3.3B). Uygulama bu deney için tarafımızca hazırlanan düzenekte yapıldı, ilaç uygulaması esnasında deneklere anestezi verilmedi. Tüm deneklere 50 µL sıvı vasıfta molekül çözeltisi tek seferde uygulandı. KBZ grubuna 50 µL hacimde 2 mg/kg dozunda KBZ çözeltisi, KBZ-KNP grubuna içinde 2 mg/kg KBZ'ye eşdeğer dozda KBZ bulunan 50 µL KBZ-KNP nanopartikül çözeltisi, KNP grubuna ise KBZ-KNP grubuna verilen moleküldekine eşit miktarda KNP içeren, yine 50 µL hacminde boş KNP çözeltisi verildi. (Eppendorf Research Plus Adjustable Volume, Single Channel Pipette, 20-200 µl) (Şekil 3.3A)



Şekil 3.8. A. İlaç uygulamasında kullanılan, ucu 7 mm'den işaretlenmiş mikropipet. B. İlaç uygulanması

3.2.5. Davranışsal Değerlendirme

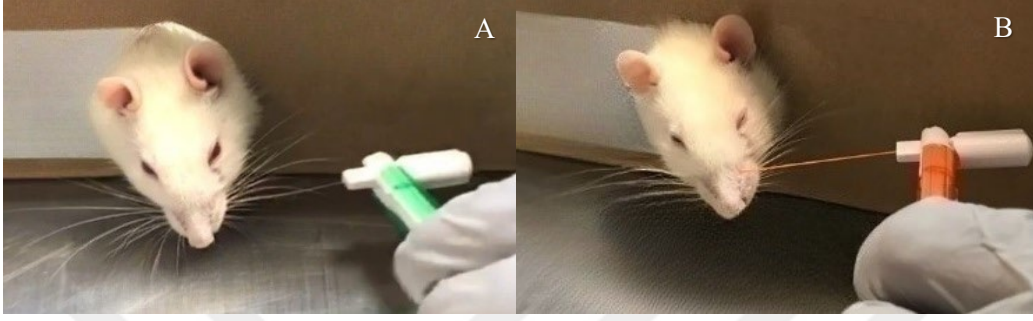
Tüm davranışsal ölçümler, 8 bağımsız araştırmacı tarafından, Semmes-Weinstein monofilaman seti kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Bioseb invivo research instruments, Fransa) (Şekil 3.4). Hiçbir araştırmacı üst üste 2 ölçüm ve bir günde 1 grupta birden fazla ölçüm yapmamıştır. Hiçbir bağımsız araştırmacı ölçüm yaptığı grupların diğer ölçümlerini gözlemlememiş ve önceki ölçüm sonuçları kendileriyle tüm ölçümler bitene kadar paylaşılmamıştır. Ratları opere eden hiçbir araştırmacı ölçüm yapmamıştır. Ölçüm yapan araştırmacılara ölçtükleri deneklerin hangi gruba dahil olduğu söylenmemiştir.



Şekil 3.9. Ölçümlerde kullanılan Von Frey filaman seti

Sıçanların mekanik allodiniye davranışsal yanıtlarının değerlendirilmesinde aslında 1948’de Dixon ve Mood’un patlayıcıların tetiklenme eşiklerini belirlemek için kullandıkları yöntemin ^[258] bir uyarlaması olarak, 1994’te Chapman ve ark.’nın tanımladığı “yukarı aşağı (*up and down*)” yöntemi kullanılmıştır.^[259] Bu yöntemle göre, 20 farklı sertlikte filamandan oluşan Von Frey monofilaman setinden rastgele seçilen filamanlarla ölçüme başlanmış, eğer uygulanan ilk filamana deneğin yanıtı **negatif** olmuşsa, ilk pozitif yanıt bulunana kadar sertlik değeri daha yüksek filamanlar uygulanmış; eğer ilk yanıt **pozitif** olduysa da ilk negatif yanıt bulunana kadar sertlik değeri daha düşük filamanlar uygulanmıştır. Pozitif yanıtla başlanan ölçümlerde tespit edilen ilk negatif yanıttan sonra, bir üst sertlikteki filamanla da ölçüm yapılarak, negatif yanıt alınan filamanın, ilk negatif yanıt noktası olduğu teyit edilmiştir. Bunun teyit edilemediği, yani bir üst

sertlikteki filamana yanıtın negatif olması durumunda, ölçüm bu kez ilk pozitif yanıtın alındığı filamana kadar devam ettirilmiştir. Aynı mantıkla, ilk ölçümü negatif olan deneğe uygulanan ve pozitif yanıt alınan ilk filamanın sağlaması da bir düşük sertlikteki filaman ile ölçüm yapılarak yapılmıştır.



Şekil 3.10. A: Negatif ölçüm demonstrasyonu. B: Pozitif ölçüm demonstrasyonu.

Bu ölçümler, tarafımızca geliştirilen düzende bir araştırmacı tarafından sabit tutulan deneklerin, sol infraorbital sinirlerinin innervasyon sahası olan sol bıyık pedine, gözlemciler tarafından Von Frey filamanları temas ettikleri yüzeye perpendiküler olacak şekilde ve uygulanan kuvvet neticesinde filaman bükülecek kadar temas ettirilmiş, bu temas bu şekilde en az 5 saniye sürdürülmüş ve 5 kez tekrarlanmıştır. Deneğe aynı filamanla 15 saniye aralıklarla art arda verilen beş uyarıdan üç veya daha fazlasında aynı taraftaki göz kapağının %50'den fazla kapanması ve bu postürün 3 saniyeden fazla muhafaza edilmesi pozitif, göz kapağı pozisyonunda herhangi bir değişiklik olmaması, göz kapağında minimal seğirme yanıtının olması, anormal postürün 3 saniyeden kısa sürmesi negatif yanıt olarak değerlendirilmiştir. Vokal yanıt, agresyon, sakınma ve yüz ovalama yanıtları tek başlarına pozitif yanıt kriteri olarak alınmamış, bu yanıtları verdiği halde gözünde kısılma tespit edilmeyen deneklerin ölçümleri tekrarlanmıştır.

3.2.6. Sakrifikasyon

Tüm denekler ilaç verilmesinin 28. gününde son ölçümleri yapıldıktan sonra HÜDDHAM'da veteriner hekim gözetiminde CO₂ kullanılarak sakrifiye edilmiş olup, histopatolojik inceleme için herhangi bir doku örneği alınmamıştır.

3.3. VERİLERİN ANALİZİ

Von Frey filamentleri, Milligan ^[260] ve Harvey ^[261] tarafından tanımlanan yöntemle deneklerin ağrı algılarını değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır. Bu yöntem orijinalinde, pençe çekme eşiklerini belirlemek için kullanılmıştır, kalibre edilmiş filamentlerin teorik basınç değerlerinin (g/mm²) 100 ile çarpılması ve log₁₀ sisteminde “Log stimulus intensity” (LSI (log₁₀ x mg x 100)) olarak ölçeklendirilmesi üzerine kuruludur. Monofilamentlerin aralığı (253-29200 mgx10), uyarıcı yoğunluğunun %50 yanıt eşiklerinin interpolasyonu ile logaritmik olarak derecelendirilmiş bir ölçek sağlamıştır (Tablo 3.1). Böylece, deneklerin karşılaştırılması logaritmik bir ölçekte mümkün hale gelmiş ve daha tutarlı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada da, aynı ölçeklendirme işlemi denekler arasında daha tutarlı bir analiz yapmak için, esas olarak deneklerin Von Frey filamanı uygulandığında göz kısmı yanıtı üzerinde kullanılmıştır. Davranışsal tepkiler, maksimum-olasılık uyum yöntemi kullanılarak Gauss integrali psikometrik fonksiyonuna uyarlanarak %50 pati çekme eşiği (PWT) hesaplamak için kullanılmış ve bu yöntem daha önce ayrıntılı olarak tanımlanmıştır ^[262]. Bu uyum yöntemi, parametrik istatistiksel analize olanak sağlamıştır. Von Frey filamanlarıyla yapılan tüm ölçüm testleri çift kör şekilde gerçekleştirilmiştir.

Hedef Kuvvet* (milliNewton)	Hedef Kuvvet (gram)	Filaman Çapı	Teorik Basınç (g/mm ²)	LSI (log ₁₀ x mg x 100)
0,08	0,008	1,65	2,53	2,40
0,2	0,02	2,36	4,39	2,64
0,4	0,04	2,44	4,93	2,69
0,7	0,07	2,83	5,53	2,74
1,6	0,16	3,22	8,77	2,94
3,9	0,4	3,61	16,1	3,21
5,9	0,6	3,84	18,4	3,26
9,8	1	4,08	24,4	3,39
13,7	1,4	4,17	27,9	3,45
19,6	2	4,31	27,4	3,44
39,2	4	4,56	40,3	3,61
58,8	6	4,74	52,6	3,72
78,4	8	4,93	61,7	3,79
98	10	5,07	68,3	3,83
147	15	5,18	82	3,91
255	26	5,46	106	4,03
588	60	5,88	141	4,15
980	100	6,1	193	4,29
1760	180	6,45	222	4,35

2940	300	6,65	292	4,47
------	-----	------	-----	------

Tablo 3.1 Von Frey filamanları hedef kuvvet-LSI dönüşüm tablosu

Her bir denek için LSI değerleri elde edildikten sonra, beş farklı grup için preoperatif (preop), postoperatif (postop), ilaç uygulamasının 24. saati, 7. günü, 14. günü ve 28. gününe ait zaman noktalarında tanımlayıcı istatistikler hesaplanmıştır. Bu analiz kapsamında, her bir zaman noktası için ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler ile birlikte medyan ve çeyrekler arası aralık (IQR) hesaplanarak sunulmuştur. Elde edilen bu tanımlayıcı istatistikler, gruplar arasındaki değişikliklerin özetlenmesi ve istatistiksel modellemeye yönelik bir temel oluşturmak amacıyla kullanılmıştır.

Tanımlayıcı istatistiklerin hesaplanmasının ardından, veri setlerinin normalliği Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir (anlamlılık kriteri $p>0.05$). Normallik varsayımının sağlanması durumunda, grup varyanslarının homojenliği Levene'in Varyans Homojenliği Testi ile incelenmiştir (anlamlılık kriteri $p<0.05$). Varyanslar arasında anlamlı farklılıkların tespit edilmesi halinde, grup ortalamaları arasındaki farklılıkları belirlemek amacıyla Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır (anlamlılık kriteri $p<0.05$). ANOVA sonucunda anlamlı farklılıklar gözlemlendiğinde, bu farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla post-hoc analiz olarak Tukey'in HSD (Honestly Significant Difference) testi gerçekleştirilmiştir (anlamlılık kriteri $p<0.05$). Bu süreç, gruplar arası farkların kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesini sağlamıştır.

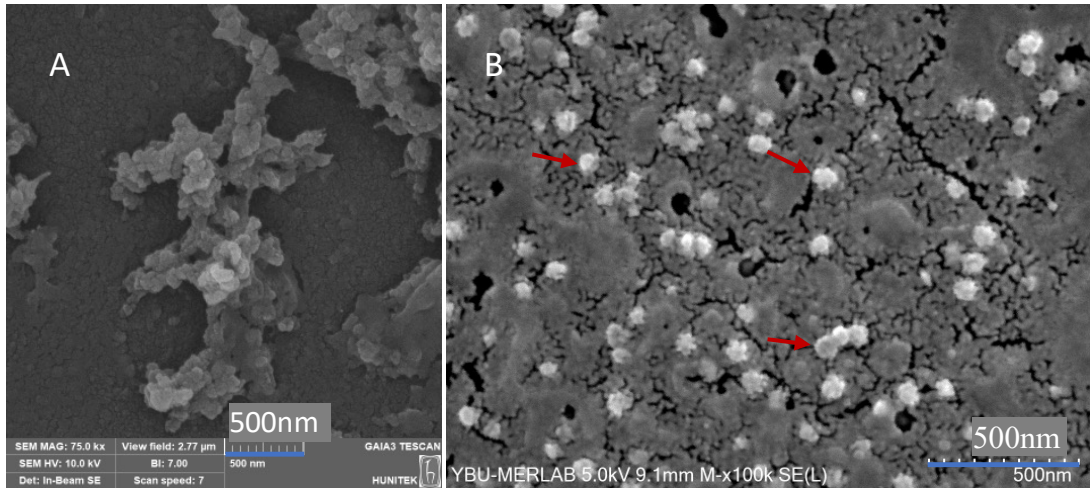
KBZ, KNP ve KBZ-NP gruplarının zaman içindeki (0, 24, 25, 26, 28, 30, 36, 48, 60, 72, 192, 360, 696 saatleri) değişimlerini prospektif bir yaklaşımla değerlendirmek amacıyla, her denegin preoperatif dönemdeki LSI değeri 100 olarak belirlenmiş ve sonraki zaman noktalarında ölçülen LSI değerleri bu başlangıç değeri referans alınarak yüzdelik değişimlerle artırılmış ya da azaltılmıştır. Bu yöntemle, deneklerin deney süresince elde edilen LSI değerlerinin birbirleriyle ilişkisi eşleştirilmiş bir tasarım çerçevesinde değerlendirilmiştir. Zamana bağlı farklılıkların incelenmesinde, hangi zaman dilimlerinde istatistiksel olarak anlamlı farkların ortaya çıktığını belirlemek

amacıyla paired Tukey HSD testi uygulanmıştır. Tüm analizlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler, Python programlama dili (versiyon >3.10) kullanılarak, Pingouin (versiyon 0.5.4) ve SciPy (versiyon 1.8.0) kütüphaneleri aracılığıyla gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. İN VITRO SONUÇLAR

Nanopartiküllerin fiziksel özellikleri SEM incelemeleri ile belirlenmiştir. Şekil 4.1’de KNP (Şekil 4.1A) ve KBZ yüklü partiküllerin (Şekil 4.1B) SEM fotoğrafları verilmiştir. ImageJ programı ile nanopartiküllerin boyları ölçülmüştür. KNP’lerin 80 ± 10 nm, KBZ yüklü kitosan nanopartiküllerin ise $75.2 \pm 12,9$ nm olduğu görülmüştür. Nanopartiküllerin boy-boy dağılımı Zeta Sizer ile belirlenmiştir. Şekil 4.2’de nanopartiküllerin Zeta Sizer sonuçları verilmiştir. KNP’lerin 480 ± 46.25 nm, CBZ yüklü partikülün ise 498.8 ± 36.05 nm olduğu bulunmuştur. Nanopartiküllerin PDI değerlerinin 1’e yakın olduğu görülmüştür. Çalışmada KBZ eklenmesinin nanopartikül çapını artırdığı görülmüştür ^[263]. Zeta Sizer sonuçlarının SEM sonuçlarından yüksek olması ve PDI değerlerinin yüksek olması kitosanın bir mukopolisakkarit olmasından dolayıdır ^[264].

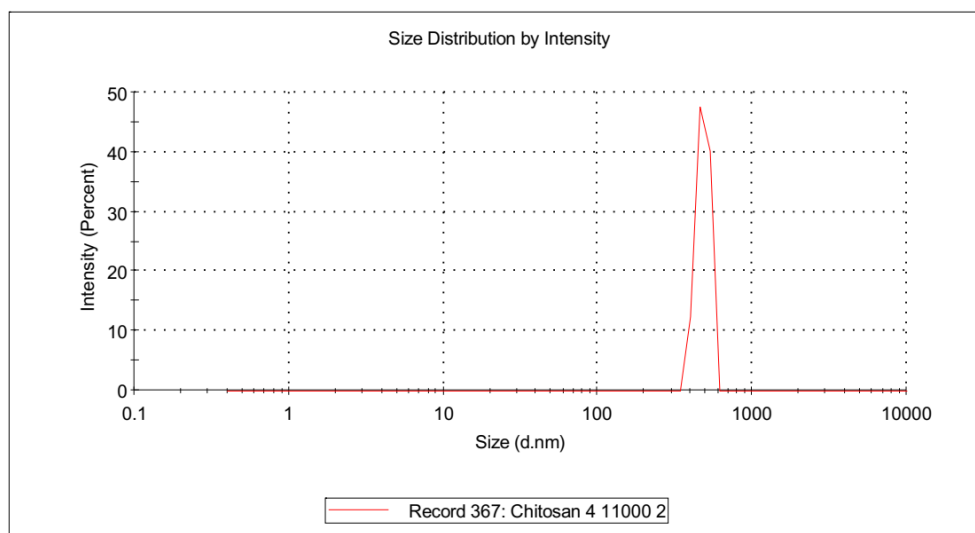


Şekil 4.1. KNP ve KBZ yüklü KNP’lerin SEM fotoğrafları. Kırmızı okların ucundaki beyaz kürecikler, KBZ yüklenmiş KNP’leri göstermektedir.

Results

A

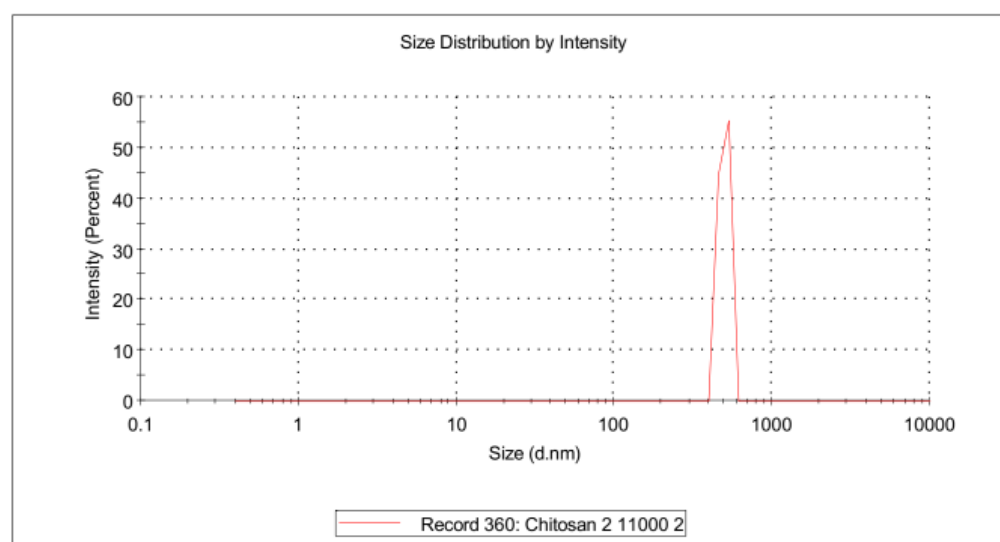
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)
Z-Average (d.nm): 1753	Peak 1: 480,0	100,0	46,25
Pdl: 0,967	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 1,03	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality : Refer to quality report			



Results

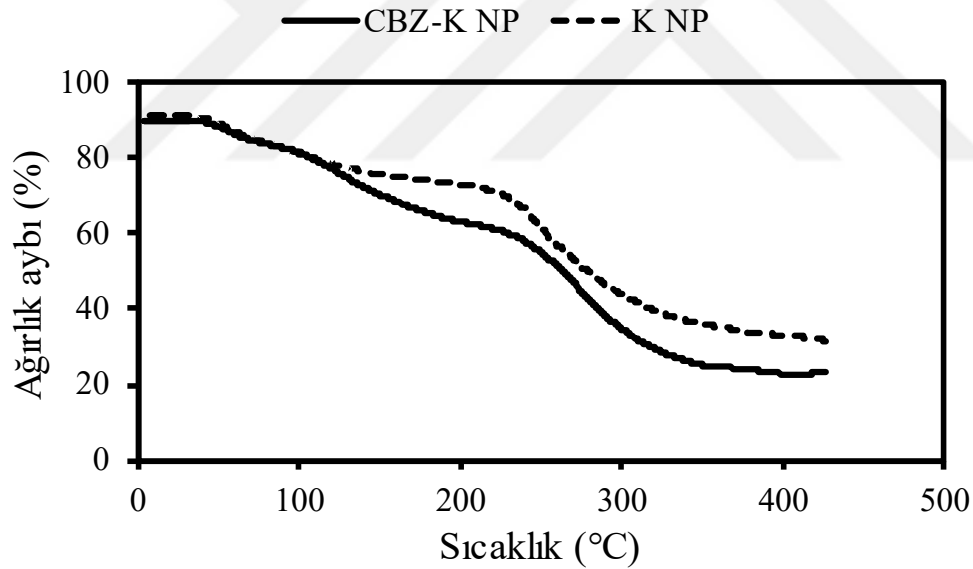
B

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)
Z-Average (d.nm): 3027	Peak 1: 498,8	100,0	36,05
Pdl: 1,000	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 1,07	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality : Refer to quality report			



Şekil 4.2. KNP (A) ve KBZ-KNP'lerin (B) Zeta Sizer sonuçları. Boş KNP'nin çapı 480 (A), KBZ-KNP'nin çapı 498 nm (B) olarak ölçülmüştür. Zeta sizer ölçümü, partikülün yüzey yükü ve stabilitesini belirler.

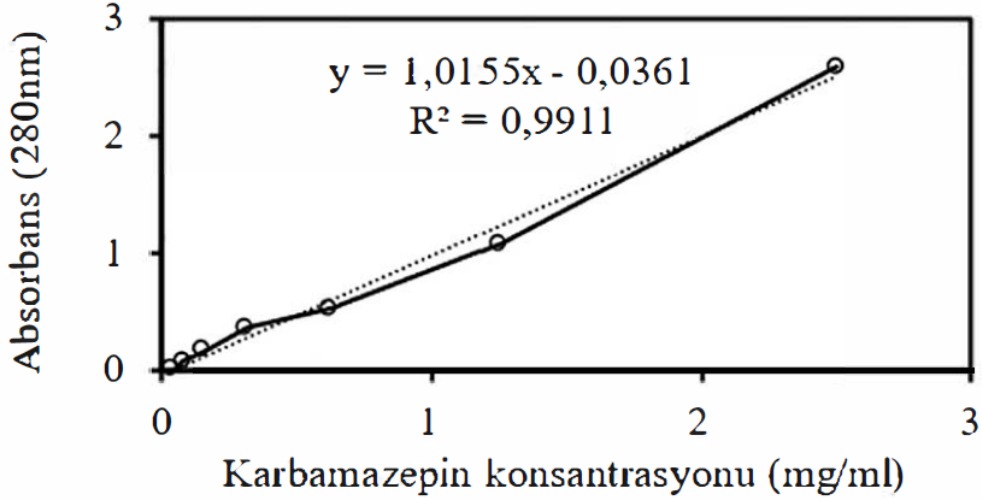
KNP'lerin TGA grafiği incelendiğinde 43-415°C arasında kütle kaybettiği görülmektedir. Şekil 4.3'te nanopartiküllerin TGA sonuçları verilmiştir. 43-133°C arasında partiküllerin içerdiği suyu kaybettiğini görülmüştür (%15). İlk moleküler dekompozisyonun 122°C'de başladığı görülmüştür. 415°C'ye kadar %69 kütle kaybettiği görülmüştür ^[265]. KBZ-KNP'lerin 37-408°C arasında kütle kaybettiği görülmüştür. 37-73°C (%6) arasında hızlı, 73-213°C (%12) arası daha yavaş kütle kaybı görülmüştür. Bu sıcaklıklar arasında nanopartiküllerin içerdiği suyu ve KBZ'nin bir kısmını kaybettiği görülmüştür. 213-408°C (%78) arasında kitosanın dekompozisyonu ile birlikte kütle kaybının hızlandığı görülmüştür ^[266].



Şekil 4.3. KNP ve KBZ-KNP'lerin TGA sonuçları. Bu grafik, KBZ bağlanmış olan KNP'nin ısıtılmaya boş KNP'den farklı tepki verdiğini göstermektedir. Bu da KBZ-KNP'nin başarıyla sentezlendiğinin önemli bir göstergesidir.

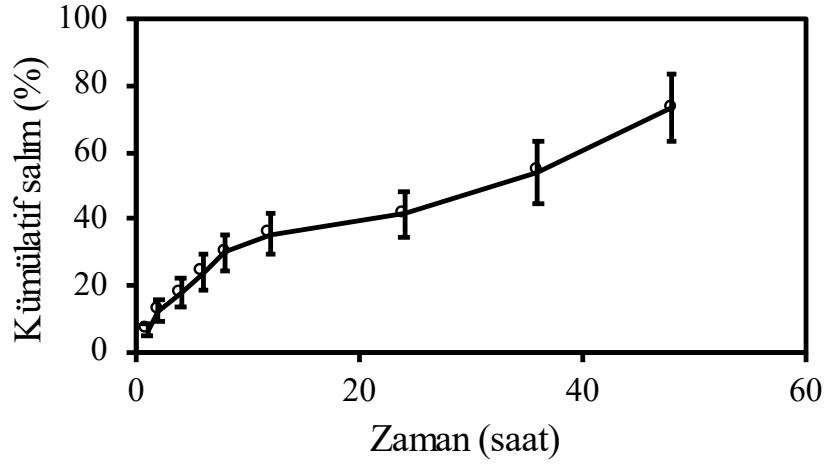
KBZ, salım çalışmaları için 2.5, 1.25, 0.63, 0.31, 0.15, 0.078, 0.038 mg/ml KBZ etanol:su (1:1 v/v) karışımında çözülmüştür ve kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Yapılan salım çalışmaları sonucunda kalibrasyon eğrisinin ölçüm aralığı içerisinde olduğu ve

eğrinin doğrusal olduğu görülmüştür. R^2 değeri 0.9911 ve eğri formülü $y = 1,0155x - 0,0361$ olarak bulunmuştur.



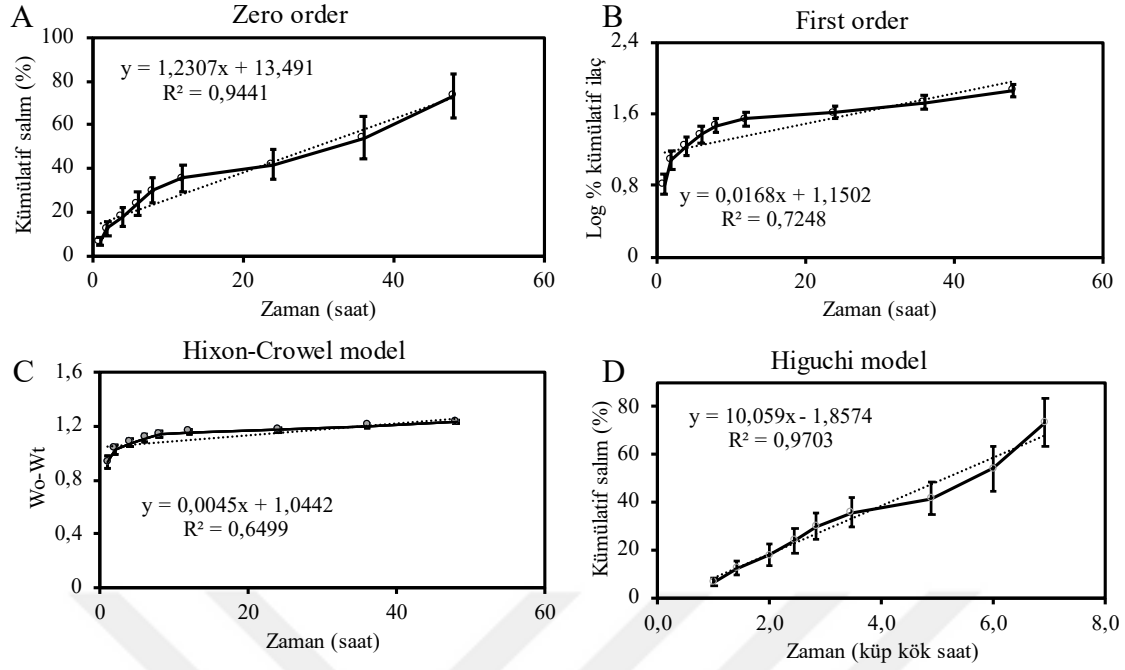
Şekil 4.4. KBZ kalibrasyon eğrisi. Noktalı çizgi endüstri standardı KBZ'yi, devamlı çizgi de deneyde kullanılan KBZ'yi göstermektedir. Bu grafik, deneyde kullanılan ve KNP'ye bağlanan KBZ molekülünün endüstri standardı olan KBZ ile tutarlı olduğunu göstermektedir.

KBZ yükleme verimi üretim sonrası süpernatanttaki KBZ miktarının UV-Vis ile ölçümü sonucu belirlenmiştir. Çalışmada Formül 1 kullanılmıştır. Hesaplamalar sonrası yükleme verimi $51,20 \pm 8,73$ olarak belirlenmiştir. Salım sonuçları Şekil 4.5'te verilmiştir. Salım sonuçları incelendiğinde ikinci saatin sonunda nanopartiküllerden $12,46 \pm 3,12$ ve 24. saatin sonunda $41,51 \pm 6,86$ KBZ'nin salındığı görülmüştür. Salım sonuçları incelendiğinde ikinci gün sonuçlarının birinci gün sonuçlarına göre anlamlı yükseldiği görülmüştür ($p < 0,05$). Aynı zamanda üçüncü gün salım sonuçlarının ilk iki güne göre anlamlı yüksek olduğu ($p < 0,05$) ve 48. saatte yüklenen KBZ'nin $73,29 \pm 10,22$ 'unu saldığı görülmüştür. Sonuç olarak kitosan nanopartikülüne $50 \mu\text{L}$ 'de 2 mg/kg 'a eşdeğer miktarda KBZ başarıyla yüklenmiştir.



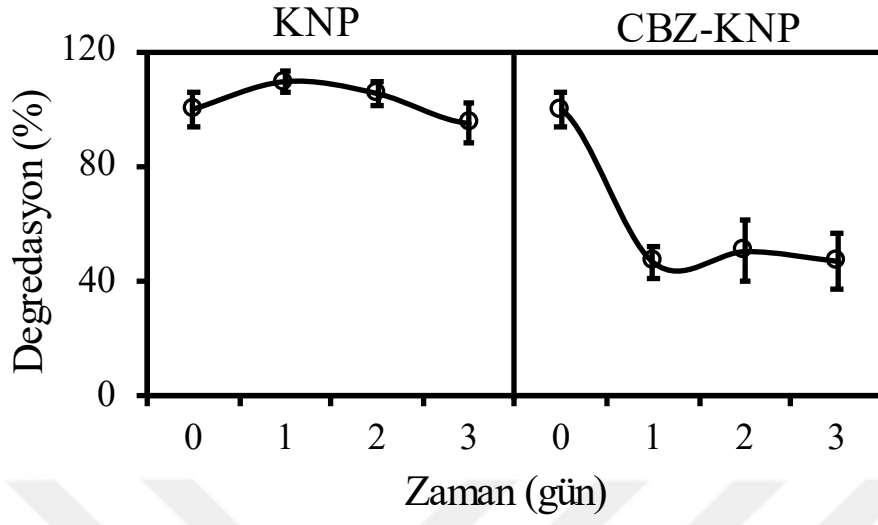
Şekil 4.5. Zamana bağlı KBZ-KNP'lerden kümülatif KBZ salımı. Bu grafik, zamana bağlı olarak nanopartikülden kümülatif salınan KBZ miktarını göstermektedir.

Salınan KBZ'nin salım kinetiği çalışılmıştır. Şekil 6'da salım kinetik modellerinin grafikleri verilmiştir. Zero order modelinde eğimin formülü $y = 1,2307x + 13,491$, R^2 değeri 0,9441 bulunmuştur. First order modelinde eğimin formül $y = 0,0168x + 1,1502$; R^2 değeri 0,7248 bulunmuştur. Higuchi modelinde eğimin formülü $y = 10,059x - 1,8574$; R^2 değeri 0,9703 bulunmuştur. Hixon-Crowel modelinde eğimin formülü $y = 0,0045x + 1,0442$; R^2 değeri 0,6499 bulunmuştur. Bu bağlamda, bu çalışmada KBZ salımının Higuchi modeli ile eşleştiği görülmüştür ^[267].



Şekil 4.6. KBZ salım kinetik modelleri. Bu modeller bir partikülün bir medyuma ne şekilde hareket ettiğine yönelik matematiksel modellerdir. Grafiklerdeki noktali çizgiler modelde tanımlanan dağılımı, devamlı çizgi de KBZ-KNP molekülünün salım sonuçlarını göstermektedir. En yüksek R^2 değerinin Higuchi modelinde bulunmuş olması, sentezlenen nanopartikülün o modele uyduğunu göstermektedir.

Nanopartiküllerin in-vitro degradasyon özellikleri turbidimetrik yöntemle belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.7’de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde üçüncü gün boş nanopartiküllerin yaklaşık %5, KBZ yüklü partiküllerin ise yaklaşık %50 degrade olduğu görülmüştür. Bu durum KBZ’nin kitosan zincirlerinin arasına girerek çapraz bağlanmasını engellediğini göstermektedir. KNP’lerde birinci gün absorbanslarının anlamlı olmayan şekilde arttığı, özellikle üçüncü gün azaldığı görülmüştür. Bu durum boş nanopartiküllerin birinci gün agrege olduğunu, daha sonra da degrade olmaya başladığını göstermektedir. KBZ yüklü partiküllerin birinci gün absorbansının anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür ($p < 0.05$). Bununla birlikte birinci günden sonra nanopartiküllerin absorbansında anlamlı değişiklik olmamıştır ($p > 0.05$). Boş ve KBZ yüklü partiküller karşılaştırıldığında KBZ’nin partikül degradasyonunu hızlandırdığı görülmüştür ($p < 0.05$).



Şekil 4.7. KNP ve KBZ-KNP'lerin 72 saat degradasyonları. Bu grafikte KNP'ye KBZ eklenmesinin KNP'nin daha kolay degrade olmasına neden olduğu gösterilmektedir.

4.2. İN VİVO SONUÇLAR

4.2.1. Tanımlayıcı İstatistiksel Sonuçlar

Bu bölümde SHAM, KONTROL, KBZ, NP ve KBZ-NP gruplarının preoperatif, postoperatif 24. saat, ilaç uygulaması sonrası 24. saat, 7. gün, 14. gün ve 28. gün LSI türünde ölçümlerinin sonuçlarının tanımlayıcı bulguları tablolar ile sunulmuştur.

4.2.1.1. Preoperatif dönemde deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

PREOP	SHAM	KONTROL	KBZ	KNP	KBZ-KNP
Mean	3.85	3.83	3.78	3.82	3.91
Standard Deviation	0.14	0.18	0.50	0.31	0.24
Median	3.87	3.83	3.52	3.83	3.87
Min	3.61	3.61	3.39	3.44	3.61
Max	4.03	4.15	4.47	4.35	4.35
Skewness	-0.94	1.10	0.89	0.96	1.25
Kurtosis	1.96	2.40	-1.77	1.96	3.01
25th Percentile (Q1)	3.83	3.75	3.40	3.66	3.83
75th Percentile (Q3)	3.91	3.83	4.16	3.83	3.91
IQR (Q3 - Q1)	0.08	0.08	0.76	0.17	0.08

Tablo 4.1. Preoperatif dönemde deneklerin LSI türünde ölçüm sonuçları.

PREOP gruplarına ait tanımlayıcı istatistiklerin amacı, tüm grupların belirtilen zamandaki LSI değerlerini tanımlamaktır. Bu istatistiklere göre; SHAM, KONTROL, KBZ, KNP ve KBZ-KNP gruplarında ortalama değerler 3.78 ile 3.91 arasında değişmektedir. En yüksek ortalama değer KBZ-KNP grubunda (3.91), en düşük ortalama ise KONTROL grubunda (3.78) görülmüştür. Standart sapma değerleri 0.14 ile 0.50 arasında değişiklik göstermekte olup, KONTROL grubunda varyasyon daha geniştir. Medyan değerler genellikle ortalama değerlerle uyumludur ve her grupta küçük farklılıklar görülmektedir. Çarpıklık

(skewness) değerleri KONTROL ve KBZ gruplarında pozitif yönlü iken, SHAM grubunda negatif bir çarpıklık gözlenmiştir. Basıklık (kurtosis) ise KBZ grubunda düşük (-1.77) iken, diğer gruplarda daha yüksek değerlere ulaşmaktadır, özellikle KBZ-KNP grubunda (3.01). IQR değerleri genellikle dar aralıklarda olup, KONTROL grubunda diğer gruplara göre daha geniş bir yayılım olduğu dikkat çekmektedir.

4.2.1.2. Postoperatif 24. saat deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

POSTOP24	SHAM	KONTROL	KBZ	KNP	KBZ-KNP
Mean	3.74	3.13	3.28	3.06	3.26
Standard Deviation	0.18	0.15	0.59	0.42	0.22
Median	3.83	3.21	3.21	3.24	3.21
Min	3.44	2.94	2.64	2.40	2.94
Max	3.91	3.26	4.03	3.44	3.61
Skewness	1.20	-0.89	0.29	-1.00	0.29
Kurtosis	0.28	-1.85	-1.78	-0.74	0.99
25th Percentile (Q1)	3.66	3.01	2.82	2.82	3.21
75th Percentile (Q3)	3.83	3.21	3.74	3.36	3.34
IQR (Q3 - Q1)	0.17	0.20	0.92	0.54	0.14

Tablo 4.2. Postoperatif 24. saat deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

POSTOP24 gruplarına ait tanımlayıcı istatistiklerin amacı, tüm grupların belirtilen zamandaki LSI değerlerini tanımlamaktır. Bu istatistiklere göre; SHAM, KONTROL, KBZ, KNP ve KBZ-KNP gruplarında ortalama değerler 3.06 ile 3.74 arasında değişmektedir. SHAM grubunda en yüksek ortalama 3.74 iken, KONTROL grubu 3.06 ile en düşük ortalama sahiptir. Standart sapma değerleri 0.15 ile 0.59 arasında değişmekte olup, KBZ grubunda varyasyonun en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Medyan değerler genellikle ortalama

değerlerle uyumlu olmasına rağmen, bazı gruplarda sağa ya da sola çarpıklık görülmektedir. Özellikle SHAM ve KNP gruplarında çarpıklık negatif yönde dikkat çekerken, KBZ ve KBZ-KNP gruplarında çarpıklık pozitif yöndedir. Basıklık değerleri ise bazı gruplarda (örneğin KONTROL ve KBZ) oldukça düşük, KBZ-KNP grubunda ise normale yakın bir dağılım göstermektedir. IQR değerleri genel olarak dar bir yayılımı işaret etse de, KBZ grubunda geniş bir dağılım görülmektedir.

4.2.1.3. İlaç uygulaması 24. saat deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

İLAÇ24	SHAM	KONTROL	KBZ	KNP	KBZ-KNP
Mean	3.81	3.13	3.28	3.02	4.40
Standard Deviation	0.10	0.15	0.48	0.42	0.13
Median	3.83	3.21	3.24	3.10	4.47
Min	3.61	2.94	2.64	2.40	4.15
Max	3.91	3.26	3.83	3.44	4.47
Skewness	-1.85	-0.89	0.04	-0.56	-1.85
Kurtosis	4.37	-1.85	-1.31	-1.34	3.11
25th Percentile (Q1)	3.83	3.01	3.01	2.75	4.38
75th Percentile (Q3)	3.83	3.21	3.69	3.36	4.47
IQR (Q3 - Q1)	0.00	0.20	0.68	0.60	0.09

Tablo 4.3. İlaç uygulaması 24. saat deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

İLAÇ24 gruplarına ait tanımlayıcı istatistiklerin amacı, tüm grupların belirtilen zamandaki LSI değerlerini tanımlamaktır. Bu istatistiklere göre; SHAM, KONTROL, KBZ, KNP ve KBZ-KNP gruplarında ortalama değerler 3.02 ile 4.40 arasında değişmektedir. SHAM grubunda en yüksek ortalama 3.81 iken, KBZ-KNP grubu 4.40 ile en yüksek ortalamaya sahiptir. Standart sapma değerleri 0.10 ile 0.48 arasında değişim gösterirken, KBZ grubunda varyasyon daha yüksektir. Medyan değerler ortalamalarla genel olarak uyumlu olsa da, çarpıklık (skewness) ve basıklık (kurtosis) değerleri, bazı gruplarda önemli ölçüde sola veya sağa

çarpık ve basık dağılımlar olduğunu göstermektedir. Özellikle SHAM ve KBZ-KNP gruplarında çarpıklık yüksek olup, basıklık değerleri de dikkat çekicidir. IQR değerleri genel olarak düşük varyasyon göstermektedir, ancak KBZ ve KNP gruplarında dağılımın daha geniş olduğu gözlemlenmiştir.

4.2.1.4. İlaç uygulaması 7. gün deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

İLAÇGÜN7	SHAM	KONTROL	CBZ	KNP	CBZ-KNP
Mean	3.81	3.16	3.18	3.10	3.29
Standard Deviation	0.21	0.18	0.53	0.39	0.26
Median	3.87	3.21	3.08	3.08	3.24
Min	3.44	2.94	2.64	2.69	2.94
Max	4.03	3.39	3.91	3.61	3.72
Skewness	-1.24	-0.35	0.47	0.20	0.67
Kurtosis	1.74	-1.38	-1.79	-1.93	1.67
25th Percentile (Q1)	3.75	3.01	2.75	2.75	3.21
75th Percentile (Q3)	3.91	3.25	3.59	3.38	3.36
IQR (Q3 - Q1)	0.16	0.24	0.84	0.63	0.15

Tablo 4.4. İlaç uygulaması 7. gün deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

İLAÇGÜN7 gruplarına ait tanımlayıcı istatistiklerin amacı, tüm grupların belirtilen zamandaki LSI değerlerini tanımlamaktır. Bu istatistiklere göre; SHAM, KONTROL, KBZ, KNP ve KBZ-KNP gruplarında ortalama değerler 3.10 ile 3.81 arasında değişmektedir. En yüksek ortalama SHAM grubunda (3.81) iken, en düşük ortalama NP grubunda (3.10) görülmüştür. Standart sapma değerleri incelendiğinde, KBZ grubunda varyasyonun en yüksek (0.53) olduğu, SHAM grubunda ise en düşük (0.21) olduğu gözlemlenmiştir. Medyan değerler, ortalama değerlerle genel olarak uyumlu olmakla birlikte, SHAM grubunda medyan en yüksek değere (3.87) sahiptir. Minimum ve maksimum değerler arasında en geniş aralık KBZ grubunda (2.64 ile 3.91) görülmektedir. Çarpıklık (skewness) değerleri, SHAM grubunda sola çarpık (-1.24), KBZ-KNP grubunda ise sağa

çarpık (0.67) bir dağılımı işaret etmektedir. Basıklık (kurtosis) değerleri ise KBZ ve KNP gruplarında düşük seviyelerde iken, SHAM ve KBZ-KNP gruplarında daha yüksek değerlere ulaşmaktadır. IQR değerleri genel olarak dar olmakla birlikte, KBZ grubunda daha geniş bir yayılım görülmektedir.

4.2.1.5. İlaç uygulaması 14. gün deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

İLAÇGÜN14	SHAM	KONTROL	KBZ	KNP	KBZ-KNP
Mean	3.84	3.13	3.20	3.01	3.19
Standard Deviation	0.14	0.15	0.56	0.43	0.25
Median	3.83	3.21	3.08	3.10	3.21
Min	3.61	2.94	2.64	2.40	2.94
Max	4.03	3.26	3.91	3.44	3.61
Skewness	-0.58	-0.89	0.47	-0.52	0.92
Kurtosis	1.89	-1.85	-1.99	-1.62	1.31
25th Percentile (Q1)	3.83	3.01	2.75	2.72	3.01
75th Percentile (Q3)	3.89	3.21	3.68	3.36	3.21
IQR (Q3 - Q1)	0.06	0.20	0.92	0.64	0.20

Tablo 4.5. İlaç uygulaması 14. gün deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

İLAÇGÜN14 gruplarına ait tanımlayıcı istatistiklerin amacı, tüm grupların belirtilen zamandaki LSI değerlerini tanımlamaktır. Bu istatistiklere göre; SHAM, KONTROL, KBZ, KNP ve KBZ-KNP gruplarında ortalama değerler 3.01 ile 3.84 arasında değişmektedir. En yüksek ortalama SHAM grubunda (3.84), en düşük ortalama ise KNP grubunda (3.01) gözlenmiştir. Standart sapma değerlerine bakıldığında, en yüksek varyasyon KBZ grubunda (0.56) görülürken, SHAM ve KONTROL gruplarında daha düşük varyasyonlar gözlenmiştir. Medyan değerler ortalama ile genel olarak uyumlu olup, SHAM grubunda en yüksek medyan değeri (3.83) mevcuttur. Min-Max aralığı incelendiğinde, KBZ grubu geniş bir dağılım (2.64 ile 3.91) göstermektedir. Çarpıklık (skewness) değerleri, KBZ ve KBZ-KNP gruplarında pozitif çarpıklık, SHAM ve KNP gruplarında ise negatif

çarpıklık göstermektedir. Basıklık (kurtosis) değerleri KBZ ve KNP gruplarında oldukça düşük iken, SHAM grubunda daha yüksek bir değer (1.89) gözlenmiştir. IQR değerleri en geniş aralığı KBZ grubunda gösterirken, diğer gruplarda daha dar yayılımlar mevcuttur.

4.2.1.6. İlaç uygulaması 28. gün deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

İLAÇGÜN28	SHAM	KONTROL	CBZ	KNP	CBZ-KNP
Mean	3.83	3.06	3.33	3.14	3.34
Standard Deviation	0.20	0.25	0.53	0.38	0.16
Median	3.87	3.08	3.21	3.24	3.30
Min	3.44	2.69	2.69	2.69	3.21
Max	4.03	3.39	4.03	3.61	3.61
Skewness	-1.71	-0.27	0.41	- 0.36	1.06
Kurtosis	3.70	-0.73	- 1.51	- 1.52	0.50
25th Percentile (Q1)	3.83	2.94	3.01	2.82	3.21
75th Percentile (Q3)	3.91	3.21	3.74	3.36	3.39
IQR (Q3 - Q1)	0.08	0.27	0.73	0.54	0.18

Tablo 4.6. İlaç uygulaması 28. gün deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

İLAÇGÜN28 gruplarına ait tanımlayıcı istatistiklerin amacı, tüm grupların belirtilen zamandaki LSI değerlerini tanımlamaktır. Bu istatistiklere göre; SHAM, KONTROL, KBZ, KNP ve KBZ-KNP gruplarında ortalama değerler 3.06 ile 3.83 arasında değişmektedir. En yüksek ortalama SHAM grubunda (3.83) ve en düşük ortalama KONTROL grubunda (3.06) gözlenmiştir. Standart sapma değerleri incelendiğinde, KBZ grubunda varyasyonun en yüksek (0.53), KBZ-KNP grubunda ise en düşük (0.16) olduğu görülmüştür. Medyan değerler genel olarak ortalama değerlerle uyumludur ve SHAM grubunda en yüksek medyan (3.87)

değeri tespit edilmiştir. Min-Max aralığı en geniş KBZ grubunda (2.69 ile 4.03) gözlemlenmiştir. Çarpıklık (skewness) değerleri SHAM grubunda önemli ölçüde sola çarpık (-1.71) iken, KBZ ve KBZ-KNP gruplarında sağa çarpıklık pozitif yöndedir. Basıklık (kurtosis) değerleri SHAM grubunda yüksek (3.70) iken, KBZ ve KNP gruplarında negatif basıklık değerleri dikkat çekmektedir. IQR değerleri incelendiğinde, KBZ grubunda daha geniş bir dağılım görülürken, diğer gruplarda daha dar yayılım mevcuttur.

4.2.2. Çıkarımsal İstatistiksel Sonuçlar

Bu bölümde Sham, Kontrol, KBZ, KNP ve KBZ-KNP gruplarının preoperatif, postoperatif 24. saat, ilaç uygulaması sonrası 24. saat, 7. gün, 14. gün ve 28. gün LSI türünde ölçümlerinin sonuçlarının çıkarımsal istatistiklerinin, normalite testi, Levene varyans analizi, tek yönlü ANOVA ve Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları sunulmuştur. Burada esas amaç, gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark olup olmadığının bulunmasıdır.

4.2.2.1. Preoperatif dönemde deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

Shapiro-Wilk normallik testi sonuçlarına göre, SHAM grubu için test istatistiği 0.916 ve P değeri 0.479'dur; KONTROL grubunda test istatistiği 0.878 ve P değeri 0.258'dir. KBZ grubunda ise test istatistiği 0.767 ve P değeri 0.029 olarak hesaplanmıştır, bu da P değerinin 0.05'ten küçük olması nedeniyle bu grubun normal dağılımdan sapma gösterebileceğini işaret etmektedir. KNP grubunun test istatistiği 0.891 ve P değeri 0.324 iken, KBZ-KNP grubunun test istatistiği 0.862 ve Pdeğeri 0.195'tir. KBZ grubu hariç, diğer tüm grupların Pdeğerleri 0.05'ten büyük olduğu için, bu grupların normal dağılıma uyduğu kabul edilebilir. Bu doğrultuda, analizlerin parametrik testlerle devam edilmesine karar verilmiştir.

Levene varyans homojenliği testi, beş grubun varyans dağılımlarının ayrışmasını incelemek amacıyla uygulanmıştır. Test sonucunda, test istatistiği

1.323 ve p-değeri 0.289 olarak hesaplanmış ve gruplar arasında varyansların eşit olduğu bulunmuştur.

Tüm hayvanların başlangıç ölçümleri, grupların aynı popülasyondan geldiğini ortaya koymuş ve bu nedenle Tek Yönlü ANOVA testi uygulanmıştır. Preop ölçümlerine dayanan bu analiz sonucunda, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır, $F(4, 25) = 0.157$, $P > 0.05$ (Tablo 4.7). (Bu bulgu, gruplar arasında başlangıçtaki ölçüm değerlerinin birbirine yakın olduğunu ve deneye katılan tüm hayvanların mekanik allodiniye karşı ağrı yanıtı eşiklerinin başlangıçta benzer olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, deneyin devamında elde edilen bulgular, bu başlangıçtaki homojen popülasyona dayandırılabilir ve sonuçlar, grupların benzer başlangıç değerlerine sahip olmasının bir yansıması olarak değerlendirilebilir.)

	sum_sq	df	F	PR(>F)
Group	0.057087	4.0	0.156745	0.95811
Residual	2.276250	25.0	NaN	NaN

Tablo 4.7. Preoperatif dönemde yapılan ölçümlerinin tek yönlü ANOVA istatistik sonuçları.

Tukey Honestly Significant Difference (HSD) testi sonuçlarına göre, hiçbir grup çifti arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P > 0.05$). Tukey HSD testi sonuçları, tüm gruplar arasında yapılan karşılaştırmaların istatistiksel olarak anlamlı olmadığını göstermektedir (Tablo 4.8).

grup1	grup2	meandiff	p-adj	lower	upper
-------	-------	----------	-------	-------	-------

KBZ-KNP PREOP	KBZ PREOP	-0,13	0,94	-0,64	0,38
KBZ-KNP PREOP	KNP PREOP	-0,09	0,98	-0,60	0,42
KBZ-KNP PREOP	KONTROL PREOP	-0,08	0,99	-0,59	0,43
KBZ-KNP PREOP	SHAM PREOP	-0,05	1,00	-0,57	0,46
KBZ PREOP	KNP PREOP	0,04	1,00	-0,47	0,55
KBZ PREOP	KONTROL PREOP	0,05	1,00	-0,46	0,57
KBZ PREOP	SHAM PREOP	0,08	0,99	-0,43	0,59
KNP PREOP	KONTROL PREOP	0,01	1,00	-0,50	0,53
KNP PREOP	SHAM PREOP	0,04	1,00	-0,47	0,55
KONTROL PREOP	SHAM PREOP	0,03	1,00	-0,49	0,54

Tablo 4.8. Preoperatif dönem Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları

4.2.2.2. Postoperatif 24. saat deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

Shapiro-Wilk normallik testi sonuçlarına göre, grupların çoğunda P değerleri 0.05'ten büyük olup, bu grupların verilerinin genel olarak normal dağılıma uygun olduğu görülmektedir. SHAM_POSTOP24 ($P > 0.05$), KBZ_POSTOP24 ($P > 0.05$), KNP_POSTOP24 ($P > 0.05$) ve KBZ-KNP_POSTOP24 ($P > 0.05$) gruplarında normallik varsayımı kabul edilmiştir. Ancak, KONTROL_POSTOP24 grubunda $P < 0.05$ olup, bu grup normal dağılımdan sapma gösterebilir.

Levene varyans homojenliği testi sonuçlarına göre, test istatistiği 2.09 ve P değeri 0.112 olarak hesaplanmıştır. P değerinin 0.05'ten büyük olması, gruplar arasındaki varyansların eşit olduğunu göstermektedir.

Tek Yönlü ANOVA testi sonuçlarına göre, cerrahi işlem sonrası gruplar arasında ölçülen değerlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur, $F(4, 25) = 3.37$, $p < 0.05$. Bu sonuç, cerrahi işlemin tüm hayvanlar üzerinde benzer sonuçlar **üretmediğini** ve gruplar arasında farklılıklar olabileceğini göstermektedir. Ancak, bu farkların biyolojik anlamını değerlendirmek için ek analizler yapılması gerekir (Tablo 4.9).

	sum_sq	df	F	PR(>F)
Group	1.689	4.0	3.369	0.025
Residual	3.133	25.0	NaN	NaN

Tablo 4.9. Postop 24. saatte yapılan ölçümlerinin tek yönlü ANOVA testi sonuçları.

Tukey Honestly Significant Difference (HSD) testi sonuçlarına göre, gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda çoğunlukla anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P > 0.05$). Ancak, KNP_POSTOP24 ile SHAM_POSTOP24 grupları arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$, meandiff = 0.6767, %95 güven aralığı: 0.0764, 1.2769). Benzer şekilde, KONROL_POSTOP24 ile SHAM_POSTOP24 grupları arasında da anlamlı bir fark bulunmuştur ($P < 0.05$), meandiff = 0.6133, %95 güven aralığı: 0.0131, 1.2136. Bu sonuçlar, özellikle SHAM (SHAM_POSTOP24) grubunun diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar gösterdiğini ortaya koymaktadır (Tablo 4.10).

SHAM grubunun varyansı diğer gruplara göre daha büyük olup, bu farkların önemli bir kısmının SHAM grubundan kaynaklandığı görülmektedir. Diğer grup çiftleri arasında ise anlamlı farklar bulunmamış olup, varyanslar genellikle birbirine yakın seyretmiştir. Bu durum, SHAM grubunun diğer gruplara göre daha belirgin bir varyans farklılığı gösterdiğini ve bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu düşündürmektedir.

grup1	grup2	meandiff	p-adj	lower	upper
KBZ-KNP_POSTOP24	KBZ_POSTOP24	0,02	1,00	-0,58	0,62
KBZ-KNP_POSTOP24	KNP_POSTOP24	-0,20	0,87	-0,80	0,40
KBZ-KNP_POSTOP24	KONTROL_POSTOP24	-0,13	0,96	-0,73	0,47
KBZ-KNP_POSTOP24	SHAM_POSTOP24	0,48	0,16	-0,12	1,08
KBZ_POSTOP24	KNP_POSTOP24	-0,22	0,82	-0,82	0,38
KBZ_POSTOP24	KONTROL_POSTOP24	-0,15	0,94	-0,75	0,45
KBZ_POSTOP24	SHAM_POSTOP24	0,46	0,19	-0,14	1,06
KNP_POSTOP24	KONTROL_POSTOP24	0,06	1,00	-0,54	0,66
KNP_POSTOP24	SHAM_POSTOP24	0,68	0,02	0,08	1,28
KONTROL_POSTOP24	SHAM_POSTOP24	0,61	0,04	0,01	1,21

Tablo 4.10. Postoperatif dönem Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları

Uygulanan cerrahi prosedür sonrasında SHAM grubunun **çıkarıldığı** Tek Yönlü ANOVA testi sonuçlarına göre, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır, $F(3, 20) = 0.442$, $p = 0.726$. Bu sonuç, cerrahi işlemin tüm hayvanlarda benzer sonuçlar ürettiğini ve gruplar arasında ölçülen değerlerde anlamlı bir farklılık olmadığını göstermektedir. SHAM grubunun çıkarılmasıyla elde edilen bu bulgular, cerrahi prosedürün tutarlılığını ve etkinliğini desteklemektedir. SHAM, prosedür olarak diğer durumlardan farklıdır. ANOVA sonuçları incelendiğinde, gruplar arası toplam kareler (sum_sq) 0.197, hata kareler toplamı (Residual) 2.973 olarak hesaplanmış; gruplar için serbestlik derecesi (df) 3, hata için serbestlik derecesi 20 olmuştur. ANOVA F-istatistiği 0.442 olarak bulunmuş ve $P > 0.05$ 'tir, bu da gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir (Tablo 4.11).

	sum_sq	df	F	PR(>F)
Group	0.197	3.0	0.442	0.726
Residual	2.973	20.0	NaN	NaN

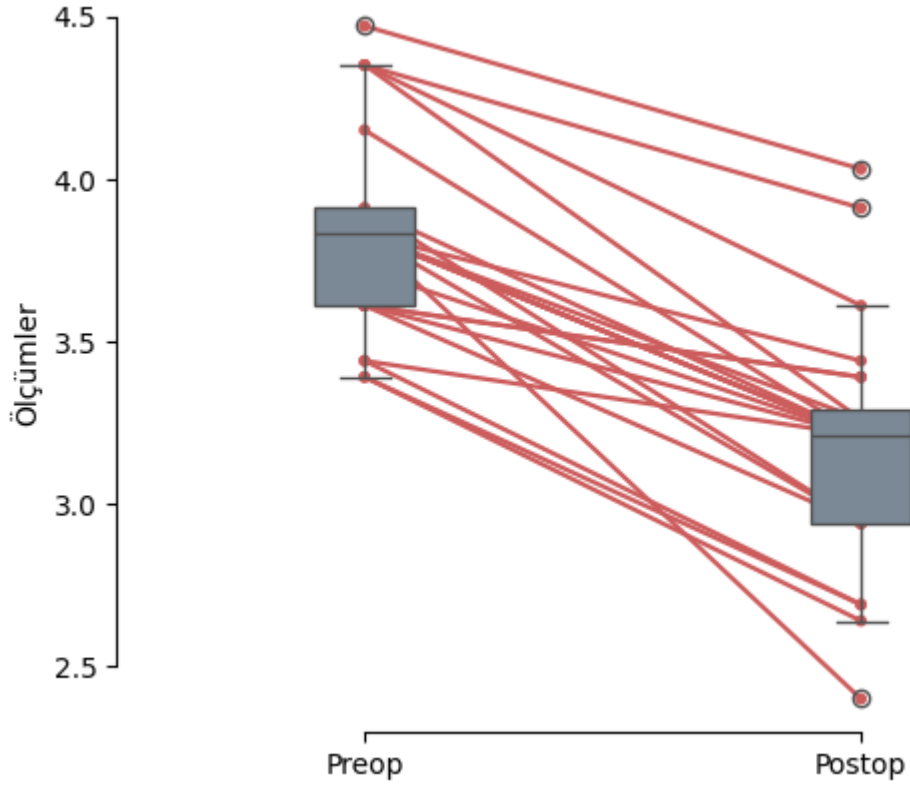
Tablo4. 11: Postoperatif dönemde SHAM grubu çıkarıldıktan sonra yapılan tek yönlü ANOVA testi sonuçları.

Tukey Honestly Significant Difference (HSD) testi sonuçlarına göre, gruplar arasında hiçbir anlamlı fark bulunmamıştır. Tüm P değerleri 0.05'ten büyüktür. Bu, gruplar arasında varyans farklılıklarının bulunmadığını ve varyasyonun genel bir değişiklikten kaynaklandığını düşündürmektedir (Tablo 4.12).

group1	group2	meandiff	p-adj	lower	upper
KBZ-KNP POSTOP24	KBZ POSTOP24	0,02	1,00	-0,60	0,64
KBZ-KNP POSTOP24	KNP POSTOP24	-0,20	0,81	-0,82	0,43
KBZ-KNP POSTOP24	KONTROL POSTOP24	-0,13	0,93	-0,76	0,49
KBZ POSTOP24	KNP POSTOP24	-0,22	0,77	-0,84	0,41
KBZ POSTOP24	KONTROL POSTOP24	-0,15	0,90	-0,78	0,47
KNP POSTOP24	KONTROL POSTOP24	0,06	0,99	-0,56	0,69

Tablo 4.12. Postoperatif dönemde SHAM grubu çıkarıldıktan sonra yapılan Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları

Postop deneklerin ölçüm ortalamalarının, preop denek ölçümlerinin ortalamalarından daha düşük olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ($p<0.001$), t-test ve Pearson korelasyon testi sonuçları Tablo 4.13'te belirtilmiş ve Şekil-4.8'de görselleştirilmiştir. Bu karşılaştırmada SHAM grubu kullanılmamıştır.



Şekil 4.8: Preoperatif dönem LSI ölçülerinin postoperatif dönemle karşılaştırılması

	n	r	CI95%	p-val	BF10	power
correlation	24	0.66	[0.35, 0.84]	<0.001	90.41	0.96
t-test	24	0.66	[0.41, 1.0]	<0.001	180.77	0.98

Tablo 4.13. Preoperatif dönem LSI ölçülerinin postoperatif dönemde Pearson korelasyonu ve t-testi ile düşüşlerinin istatistiksel değerlendirmeleri. Bu karşılaştırmada Sham grubu kullanılmamıştır.

4.2.2.3. İlaç uygulaması 24. saat deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

Shapiro-Wilk normallik testi sonuçlarına göre, grupların çoğunda P değerleri 0.05'ten büyük olup, bu grupların verilerinin genel olarak normal dağılıma uygun

olduğu görülmektedir. KBZ_İLAÇ24 ($P < 0.05$), KBZ-KNP_İLAÇ24 ($P < 0.05$) ve SHAM_İLAÇ24 ($P < 0.05$) gruplarında P değerleri 0.05'in altında olup, bu grupların normal dağılımdan sapma gösterebileceği belirlenmiştir. Ancak, KNP_İLAÇ24 ($P > 0.05$) ve KONTROL_İLAÇ24 ($P > 0.05$) gruplarında normallik varsayımı kabul edilmiştir.

Levene varyans homojenliği testi sonuçlarına göre, test istatistiği 4.264 ve P değeri **0.009** olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç, gruplar arasındaki varyansların eşit olmadığını ve varyans homojenliğinin sağlanmadığını göstermektedir.

Tek Yönlü ANOVA testi sonuçlarına göre, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur, $F(4, 25) = 21.815$, $P < 0.001$. Bu sonuç, ilaçların gruplar arasında farklı etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır (Tablo 4.14).

	sum_sq	df	F	PR(>F)
Group	7.85	4.0	21.81	<0.001
Residual	2.25	20.0	NaN	NaN

Tablo 4.14. İlaç uygulamasının 24. saatinde LSI ölçümlerinin tek yönlü ANOVA testi sonuçları.

Tukey Honestly Significant Difference (HSD) testi sonuçlarına göre, gruplar arasında bazı anlamlı farklar gözlemlenmiştir (Tablo 4.15). KBZ_İLAÇ24 ile KBZ-KNP_İLAÇ24 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (meandiff = 1.1117, $P < 0.001$, %95 CI [0.603, 1.6204]). Ayrıca, KBZ_İLAÇ24 ile SHAM_İLAÇ24 grupları arasında da anlamlı bir fark tespit edilmiştir (meandiff = 0.5217, $P < 0.05$, %95 CI [0.013, 1.0304]). KBZ-KNP_İLAÇ24 ile KNP_İLAÇ24 (meandiff = -1.3767, $P < 0.001$, %95 CI [-1.8854, -0.868]), KONTROL_İLAÇ24 (meandiff = -1.2683, $P < 0.001$, %95 CI [-1.777, -0.7596]) ve SHAM_İLAÇ24 (meandiff = -0.59, $P < 0.05$, %95 CI [-

1.0987, -0.0813]) grupları arasında da anlamlı farklar bulunmuştur. Ayrıca, KNP_İLAÇ24 ile SHAM_İLAÇ24 grupları arasında (meandiff = 0.7867, $P < 0.001$, %95 CI [0.278, 1.2954]) ve KONTROL_İLAÇ24 ile SHAM_İLAÇ24 grupları arasında (meandiff = 0.6783, $p < 0.01$, %95 CI [0.1696, 1.187]) anlamlı farklar gözlemlenmiştir.

Bununla birlikte, KBZ_İLAÇ24 ile KNP_İLAÇ24 (meandiff = -0.265, $P > 0.05$), KBZ_İLAÇ24 ile KONTROL_İLAÇ24 (meandiff = -0.1567, $P > 0.05$), ve KNP_İLAÇ24 ile KONTROL_İLAÇ24 (meandiff = 0.1083, $P > 0.05$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar, bazı grup çiftlerinde anlamlı farklar olduğunu, diğerlerinde ise fark olmadığını göstermektedir.

group1	group2	meandiff	p-adj	lower	upper
KBZ_İLAÇ24	KBZ-KNP_İLAÇ24	1,11	<0,001	0,60	1,62
KBZ_İLAÇ24	KNP_İLAÇ24	-0,27	0,55	-0,77	0,24
KBZ_İLAÇ24	KONTROL_İLAÇ24	-0,16	0,89	-0,67	0,35
KBZ_İLAÇ24	SHAM_İLAÇ24	0,52	0,04	0,01	1,03
KBZ-KNP_İLAÇ24	KNP_İLAÇ24	-1,38	<0,001	-1,89	-0,87
KBZ-KNP_İLAÇ24	KONTROL_İLAÇ24	-1,27	<0,001	-1,78	-0,76
KBZ-KNP_İLAÇ24	SHAM_İLAÇ24	-0,59	0,02	-1,10	-0,08
KNP_İLAÇ24	KONTROL_İLAÇ24	0,11	0,97	-0,40	0,62
KNP_İLAÇ24	SHAM_İLAÇ24	0,79	<0,001	0,28	1,30
KONTROL_İLAÇ24	SHAM_İLAÇ24	0,68	0,01	0,17	1,19

Tablo 4.15. İlaç uygulamasının 24. saatinde LSI ölçümlerinin Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları

4.2.2.4. İlaç uygulaması 7. gün deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

Shapiro-Wilk normallik testi sonuçlarına göre, grupların tümünde P değerleri 0.05'ten büyük olup, bu grupların verilerinin genel olarak normal dağılıma uygun olduğu görülmektedir. KBZ_İLAÇ168 ($P > 0.05$), KBZ-KNP_İLAÇ168 ($P >$

0.05), KNP_İLAÇ168 ($P > 0.05$), KONTROL_İLAÇ168 ($P > 0.05$) ve SHAM_İLAÇ168 ($P > 0.05$) gruplarında normallik varsayımı kabul edilmiştir.

Levene varyans homojenliği testi sonuçlarına göre, test istatistiği 2.935 ve $P < 0.05$ olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç, gruplar arasındaki varyansların eşit olmadığını ve varyans homojenliğinin sağlanmadığını göstermektedir. Bu da SHAM grubuyla diğer grupların farklı olduğunu destekler niteliktedir.

Tek Yönlü ANOVA testi sonuçlarına göre, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur, $F(4, 25) = 4.323$, $P < 0.01$. Bu sonuç, uygulanan ilaçların gruplar arasında farklı sonuçlar doğurduğunu ortaya koymaktadır (Tablo-4.16).

	sum_sq	df	F	PR(>F)
Group	1.98	4.0	4.32	0.009
Residual	2.87	25.0	NaN	NaN

Tablo 4.16. İlaç uygulamasının 7. gününde LSI ölçümlerinin tek yönlü ANOVA testi sonuçları.

Tukey Honestly Significant Difference (HSD) testi sonuçlarına göre, gruplar arasında bazı anlamlı farklar gözlemlenmiştir (Tablo-4.17). CBZ_İLAÇ168 ile SHAM_İLAÇ168 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (meandiff = 0.6217, $P < 0.05$, %95 CI [0.0468, 1.1965]). Ayrıca, KNP_İLAÇ168 ile SHAM_İLAÇ168 grupları arasında (meandiff = 0.71, $P < 0.05$, %95 CI [0.1351, 1.2849]) ve KONTROL_İLAÇ168 ile SHAM_İLAÇ168 grupları arasında (meandiff = 0.6483, $P < 0.05$, %95 CI [0.0735, 1.2232]) anlamlı farklar gözlemlenmiştir.

Bununla birlikte, KBZ_İLAÇGÜN7 ile KBZ-KNP_İLAÇGÜN7 (meandiff = 0.1033, $P > 0.05$), KBZ_İLAÇGÜN7 ile KNP_İLAÇGÜN7 (meandiff = -

0.0883, $P > 0.05$), KBZ_ İLAÇGÜN7 ile KONTROL_ İLAÇGÜN7 (meandiff = -0.0267, $P > 0.05$), KBZ-KNP_ İLAÇGÜN7 ile KNP_ İLAÇGÜN7 (meandiff = -0.1917, $P > 0.05$), KBZ-KNP_ İLAÇGÜN7 ile KONTROL_ İLAÇGÜN7 (meandiff = -0.13, $P > 0.05$), KNP_ İLAÇGÜN7 ile KONTROL_ İLAÇGÜN7 (meandiff = 0.0617, $P > 0.05$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar, bazı grup çiftlerinde anlamlı farklar olduğunu, diğerlerinde ise fark olmadığını göstermektedir.

group1	group2	meandiff	p-adj	lower	upper
KBZ_ İLAÇGÜN7	CBZ-KNP_ İLAÇGÜN7	0,10	0,98	-0,47	0,68
KBZ_ İLAÇGÜN7	KNP_ İLAÇGÜN7	-0,09	0,99	-0,66	0,49
KBZ_ İLAÇGÜN7	KONTROL_ İLAÇGÜN7	-0,03	1,00	-0,60	0,55
KBZ_ İLAÇGÜN7	SHAM_ İLAÇGÜN7	0,62	0,03	0,05	1,20
KBZ-KNP_ İLAÇGÜN7	KNP_ İLAÇGÜN7	-0,19	0,86	-0,77	0,38
KBZ-KNP_ İLAÇGÜN7	KONTROL_ İLAÇGÜN7	-0,13	0,96	-0,70	0,44
KBZ-KNP_ İLAÇGÜN7	SHAM_ İLAÇGÜN7	0,52	0,09	-0,06	1,09
KNP_ İLAÇGÜN7	KONTROL_ İLAÇGÜN7	0,06	1,00	-0,51	0,64
KNP_ İLAÇGÜN7	SHAM_ İLAÇGÜN7	0,71	0,01	0,14	1,28
KONTROL_ İLAÇGÜN7	SHAM_ İLAÇGÜN7	0,65	0,02	0,07	1,22

Tablo 4.17. İlaç uygulamasının 7. gününde LSI ölçümlerinin Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları

4.2.2.5. İlaç uygulaması 14. gün deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

Shapiro-Wilk normallik testi sonuçlarına göre, grupların çoğunda P değerleri 0.05'in üzerinde olup, bu grupların verilerinin genel olarak normal dağılıma uygun olduğu görülmektedir. KBZ_ İLAÇGÜN14 ($P > 0.05$), KNP_ İLAÇGÜN14 ($P > 0.05$), KONTROL_ İLAÇGÜN14 ($P > 0.05$) ve SHAM_ İLAÇGÜN14 ($P > 0.05$) gruplarında normallik varsayımı kabul edilmiştir. Ancak, KBZ-KNP_ İLAÇGÜN14 grubunda P değeri 0.013 olup, bu grup normal dağılımdan sapma gösterebileceğini işaret etmektedir.

Levene varyans homojenliği testi sonuçlarına göre, test istatistiği 4.153 ve Pdeğeri 0.01 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç, gruplar arasındaki varyansların eşit olmadığını ve varyans homojenliğinin sağlanmadığını göstermektedir.

Tek Yönlü ANOVA testi sonuçlarına göre, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur, $F(4, 25) = 5.372$, $P < 0.05$. Bu sonuç, uygulanan ilaçların gruplar arasında farklı sonuçlar doğurduğunu ortaya koymaktadır (Tablo 4.18).

	sum_sq	df	F	PR(>F)
Group	2.53	4.0	5.37	0.003
Residual	2.95	25.0	NaN	NaN

Tablo 4.18. İlaç uygulamasının 14. gününde LSI ölçümlerinin tek yönlü ANOVA testi sonuçları.

Tukey Honestly Significant Difference (HSD) testi sonuçlarına göre, gruplar arasında bazı anlamlı farklar gözlemlenmiştir (Tablo-4.19). KBZ_İLAÇGÜN14 ile SHAM_İLAÇGÜN14 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (meandiff = 0.6367, $P < 0.05$, %95 CI [0.0539, 1.2194]). Ayrıca, KBZ-KNP_İLAÇGÜN14 ile SHAM_İLAÇGÜN14 grupları arasında (meandiff = 0.6533, $P < 0.05$, %95 CI [0.0706, 1.2361]), KNP_DRUG336 ile SHAM_İLAÇGÜN14 grupları arasında (meandiff = 0.8283, $P < 0.05$, %95 CI [0.2456, 1.4111]) ve KONTROL_İLAÇGÜN14 ile SHAM_İLAÇGÜN14 grupları arasında (meandiff = 0.7117, $P < 0.05$, %95 CI [0.1289, 1.2944]) anlamlı farklar gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, 14. Gün itibarıyla trigeminal nevralji modelinin hala sorunsuz çalıştığını göstermektedir.

Bununla birlikte, KBZ_İLAÇGÜN14 ile KBZ-KNP_İLAÇGÜN14 (meandiff = -0.0167, $P > 0.05$), KBZ_İLAÇGÜN14 ile KNP_İLAÇGÜN14 (meandiff = -0.1917, $P > 0.05$), KBZ_İLAÇGÜN14 ile KONTROL_İLAÇGÜN14 (meandiff = -0.075, $P > 0.05$), KBZ-KNP_İLAÇGÜN14 ile KNP_İLAÇGÜN14 (meandiff = -0.175, $P > 0.05$), KBZ-KNP_İLAÇGÜN14 ile KONTROL_İLAÇGÜN14 (meandiff = -0.0583, $P >$

0.05), ve KNP_İLAÇGÜN14 ile KONTROL_İLAÇGÜN14 (meandiff = 0.1167, $P > 0.05$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu da 14. gün itibarıyla SHAM dışındaki gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı anlamına gelmektedir.

group1	group2	meandiff	p-adj	lower	upper
KBZ_İLAÇGÜN14	KBZ-KNP_İLAÇGÜN14	-0,02	1,00	-0,60	0,57
KBZ_İLAÇGÜN14	KNP_İLAÇGÜN14	-0,19	0,87	-0,77	0,39
KBZ_İLAÇGÜN14	KONTROL_İLAÇGÜN14	-0,08	1,00	-0,66	0,51
KBZ_İLAÇGÜN14	SHAM_İLAÇGÜN14	0,64	0,03	0,05	1,22
KBZ-KNP_İLAÇGÜN14	KNP_İLAÇGÜN14	-0,18	0,90	-0,76	0,41
KBZ-KNP_İLAÇGÜN14	KONTROL_İLAÇGÜN14	-0,06	1,00	-0,64	0,52
KBZ-KNP_İLAÇGÜN14	SHAM_İLAÇGÜN14	0,65	0,02	0,07	1,24
KNP_İLAÇGÜN14	KONTROL_İLAÇGÜN14	0,12	0,98	-0,47	0,70
KNP_İLAÇGÜN14	SHAM_İLAÇGÜN14	0,83	<0.001	0,25	1,41
KONTROL_İLAÇGÜN14	SHAM_İLAÇGÜN14	0,71	0,01	0,13	1,29

Tablo 4.19. İlaç uygulamasının 14. gününde LSI ölçümlerinin Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları

4.2.2.6. İlaç uygulaması 28. gün deneklerin LSI türünde ölçüm bulguları

Shapiro-Wilk normallik testi sonuçlarına göre, grupların tümünde P değerleri 0.05'in üzerinde olup, bu grupların verilerinin genel olarak normal dağılıma uygun olduğu görülmektedir. KBZ_İLAÇGÜN28 ($P > 0.05$), KBZ-KNP_İLAÇGÜN28 ($P > 0.05$), KNP_İLAÇGÜN28 ($P > 0.05$), KONTROL_İLAÇGÜN28 ($P > 0.05$) ve SHAM_İLAÇGÜN28 ($P > 0.05$) gruplarında normallik varsayımı kabul edilmiştir.

Levene varyans homojenliği testi sonuçlarına göre, test istatistiği 1.595 ve P değeri 0.207 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç, gruplar arasındaki varyansların eşit olduğunu ve varyans homojenliğinin sağlandığını göstermektedir.

Tek Yönlü ANOVA testi sonuçlarına göre, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur, $F(4, 25) = 4.742$, $P < 0.05$. Bu sonuç,

uygulanan ilaçların gruplar arasında farklı sonuçlar doğurduğunu ortaya koymaktadır (Tablo 4.20).

	sum_sq	df	F	PR(>F)
Group	2.10	4.0	4.74	0.006
Residual	2.77	25.0	NaN	NaN

Tablo 4.20. İlaç uygulamasının 28. gününde LSI ölçümlerinin tek yönlü ANOVA testi sonuçları.

Tukey Honestly Significant Difference (HSD) testi sonuçlarına göre, gruplar arasında bazı anlamlı farklar gözlemlenmiştir (Tablo-4.21). KNP_İLAÇGÜN28 ile SHAM_İLAÇGÜN28 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (meandiff = 0.6833, **P < 0.05**, %95 CI [0.1182, 1.2485]). Ayrıca, KONTROL_İLAÇGÜN28 ile SHAM_İLAÇGÜN28 grupları arasında da anlamlı bir fark tespit edilmiştir (meandiff = 0.7617, **P < 0.05**, %95 CI [0.1965, 1.3268]). Bu sonuçlar da 28. gün itibariyle trigeminal nevralji modelinin hala başarılı olduğunu göstermektedir.

Bununla birlikte, KBZ_İLAÇGÜN28 ile KBZ-KNP_İLAÇGÜN28 (meandiff = 0.005, $P > 0.05$), KBZ_İLAÇGÜN28 ile KNP_İLAÇGÜN28 (meandiff = -0.19, $P > 0.05$), KBZ_İLAÇGÜN28 ile KONTROL_İLAÇGÜN28 (meandiff = -0.2683, $P > 0.05$), KBZ_İLAÇGÜN28 ile SHAM_İLAÇGÜN28 (meandiff = 0.4933, $P > 0.05$), KBZ-KNP_İLAÇGÜN28 ile KNP_İLAÇGÜN28 (meandiff = -0.195, $P > 0.05$), KBZ-KNP_İLAÇGÜN28 ile KONTROL_İLAÇGÜN28 (meandiff = -0.2733, $P > 0.05$), KBZ-KNP_İLAÇ28 ile SHAM_İLAÇGÜN28 (meandiff = 0.4883, $P > 0.05$), ve KNP_İLAÇGÜN28 ile KONTROL_İLAÇGÜN28 (meandiff = -0.0783, $P > 0.05$) grupları arasında

istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar, bazı grup çiftlerinde anlamlı farklar olduğunu, diğerlerinde ise fark olmadığını göstermektedir.

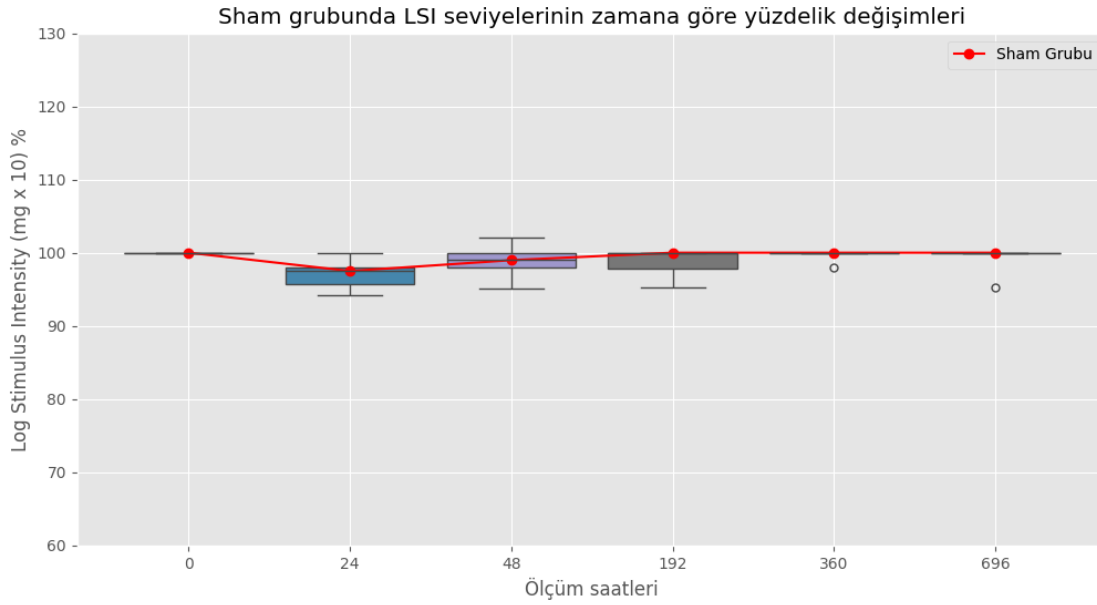
group1	group2	meandiff	p-adj	lower	upper
KBZ İLAÇGÜN28	KBZ-KNP İLAÇGÜN28	0,01	1,00	-0,56	0,57
KBZ İLAÇGÜN28	KNP İLAÇGÜN28	-0,19	0,86	-0,76	0,38
KBZ İLAÇGÜN28	KONTROL İLAÇGÜN28	-0,27	0,64	-0,83	0,30
KBZ İLAÇGÜN28	SHAM İLAÇGÜN28	0,49	0,11	-0,07	1,06
KBZ-KNP İLAÇGÜN28	KNP İLAÇGÜN28	-0,20	0,85	-0,76	0,37
KBZ-KNP İLAÇGÜN28	KONTROL İLAÇGÜN28	-0,27	0,62	-0,84	0,29
KBZ-KNP İLAÇGÜN28	SHAM İLAÇGÜN28	0,49	0,11	-0,08	1,05
KNP İLAÇGÜN28	KONTROL İLAÇGÜN28	-0,08	0,99	-0,64	0,49
KNP İLAÇGÜN28	SHAM İLAÇGÜN28	0,68	0,01	0,12	1,25
KONTROL İLAÇGÜN28	SHAM İLAÇGÜN28	0,76	<0.001	0,20	1,33

Tablo 4.21: İlaç uygulamasının 28. gününde LSI ölçümlerinin Tukey HSD post-hoc analizi sonuçları

4.2.3. İlaç Uygulamalarının Zamansal Boylamda Karşılaştırılmaları

4.2.3.1. Sham grubu deneklerinin zamansal boylamda karşılaştırılmaları

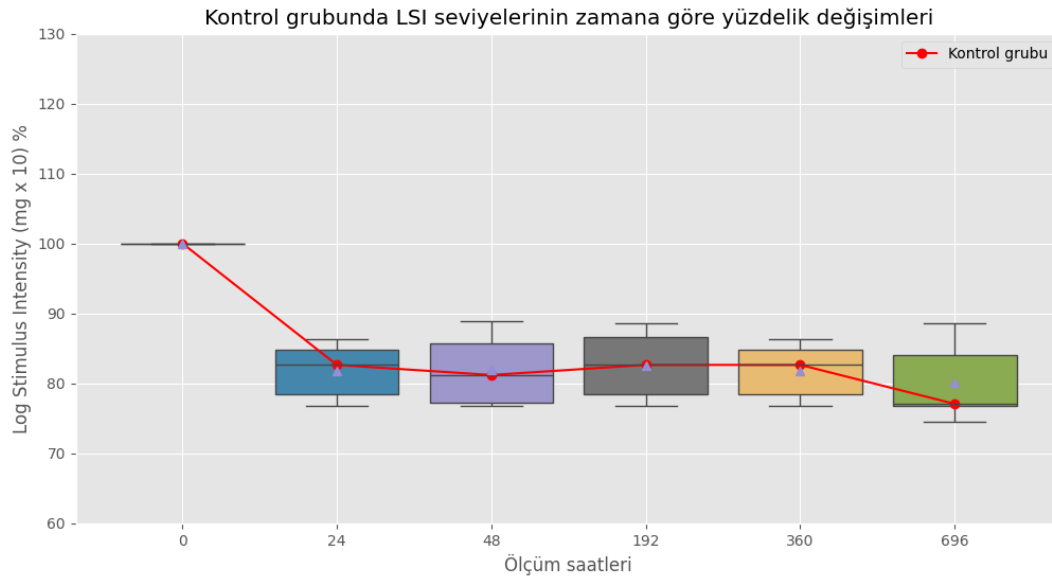
Deneklerin preoperatif dönemde yapılan ölçümleri 100 olarak kabul edildi ve değişimleri yüzdelikler üzerinden gösterilmiştir. Postoperatif 24. saatte ölçümlerin ortalaması 97.08 (SD $\pm$ 2.06) ve ortanca değeri 97.49 [IQR: 95.72 - 97.95] olarak bulunmuştur. İlaç uygulamasının 24. saatindeki ölçümlerin ortalaması 98.84 (SD $\pm$ 2.42) olup, ortanca değer 98.98 [IQR: 97.95 - 100.00] olarak kaydedilmiştir. 168. saatte ilaç uygulamasının ortalaması 98.74 (SD $\pm$ 2.04) ve ortanca değeri 100.00 [IQR: 97.85 - 100.00] olarak hesaplanmıştır. 336. saatte ortalama 99.66 (SD $\pm$ 0.84) ve ortanca 100.00 [IQR: 100.00 - 100.00] olarak bulunmuştur. 672. saatte ortalama 99.22 (SD $\pm$ 1.92) ve ortanca 100.00 [IQR: 100.00 - 100.00] olarak kaydedilmiştir.



Şekil 4.9. Sham grubunun LSI seviyelerinin zamansal değişim grafiği.

4.2.3.2. Kontrol grubu deneklerinin zamansal boylamda karşılaştırılmaları

Deneklerin preoperatif dönemde yapılan ölçümleri 100 olarak kabul edilmiştir ve değişimleri yüzdeliklerle gösterilmiştir. Postoperatif 24. saatte ölçümlerin ortalaması 81.80 (SD ± 4.01) ve ortanca değeri 82.63 [IQR: 78.37 - 84.79] olarak bulundu. İlaç uygulamasının 24. saatindeki ölçümlerin ortalaması 81.85 (SD ± 5.22) olup, ortanca değer 81.18 [IQR: 77.21 - 85.67] olarak kaydedilmiştir. İlaç uygulamasının 168. saatindeki ölçümlerin ortalaması 82.59 (SD ± 5.00) ve ortanca değeri 82.63 [IQR: 78.37 - 86.68] olarak hesaplanmıştır. İlaç uygulamasının 336. saatinde ölçümlerin ortalaması 81.80 (SD ± 4.01) ve ortanca değeri 82.63 [IQR: 78.37 - 84.79] olarak bulunmuştur. İlaç uygulamasının 672. saatinde ölçümlerin ortalaması 80.03 (SD ± 5.83) ve ortanca değeri 77.06 [IQR: 76.76 - 84.05] olarak kaydedilmiştir.

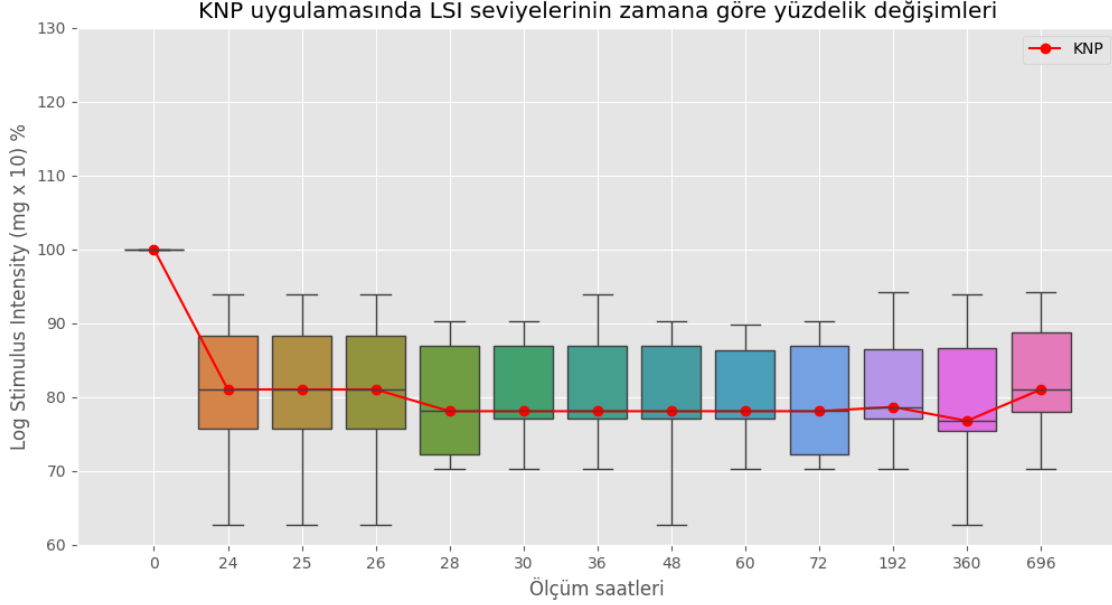


Şekil 4.10. Kontrol grubunun LSI seviyelerinin zamansal değişim grafiği.

4.2.3.3. KNP grubu deneklerinin zamansal boylamda karşılaştırılmaları

Deneklerin preoperatif dönemde yapılan ölçümleri 100 olarak kabul edildi ve değişimler yüzdelik üzerinden gösterildi. KNP grubunda preoperatif dönemde ölçümlerin ortalaması 100.00 (SD $\pm$ 0.00) olarak sabit kalmıştır. Postoperatif 24. saatte ölçümlerin ortalaması 83.63 (SD $\pm$ 5.99) ve ortanca değeri 83.40 [IQR: 82.32 - 83.81] olarak bulundu. İlaç uygulamasının 1. saatinde ölçümlerin ortalaması 97.79 (SD $\pm$ 8.72) ve ortanca değeri 94.26 [IQR: 92.81 - 97.53] olarak kaydedilmiştir. İlaç uygulamasının 2. saatinde ortalama 104.23 (SD $\pm$ 6.20) ve ortanca değeri 102.58 [IQR: 99.49 - 109.49] olarak hesaplanmıştır. 4. saatte ölçümlerin ortalaması 107.88 (SD $\pm$ 4.89) ve ortanca değeri 107.25 [IQR: 103.84 - 111.10] olarak bulunmuştur. 6. saatte ortalama 106.90 (SD $\pm$ 7.81) ve ortanca değeri 103.07 [IQR: 102.84 - 109.78] olarak kaydedilmiştir. İlaç uygulamasının 12. saatinde ölçümlerin ortalaması 108.72 (SD $\pm$ 10.50) ve ortanca değeri 107.16 [IQR: 102.33 - 115.35] olarak tespit edilmiştir. 24. saatte ortalama 112.87 (SD $\pm$ 7.24), ortanca değeri 112.79 [IQR: 109.08 - 116.11] olarak bulunmuştur. 36. saatte ortalama 111.83 (SD $\pm$ 8.38) ve ortanca değeri 112.79 [IQR: 104.88 - 116.11] olarak kaydedilmiştir. 48. saatte ortalama 82.41 (SD $\pm$ 5.73), ortanca değeri 82.54 [IQR: 78.10 - 87.13] olarak ölçülmüştür. 168. saatte ölçümlerin ortalaması 84.27 (SD $\pm$ 5.97) ve ortanca değeri 83.81 [IQR: 83.48 - 85.09] olarak bulunmuştur. 336. saatte ortalama 81.53 (SD $\pm$ 2.48) ve ortanca değeri 82.77 [IQR:

81.60 - 88.51] olarak kaydedilmiştir. 672. saatte ölçümlerin ortalaması 85.52 (SD ± 3.44) ve ortanca değeri 85.75 [IQR: 82.32 - 88.51] olarak bulunmuştur.

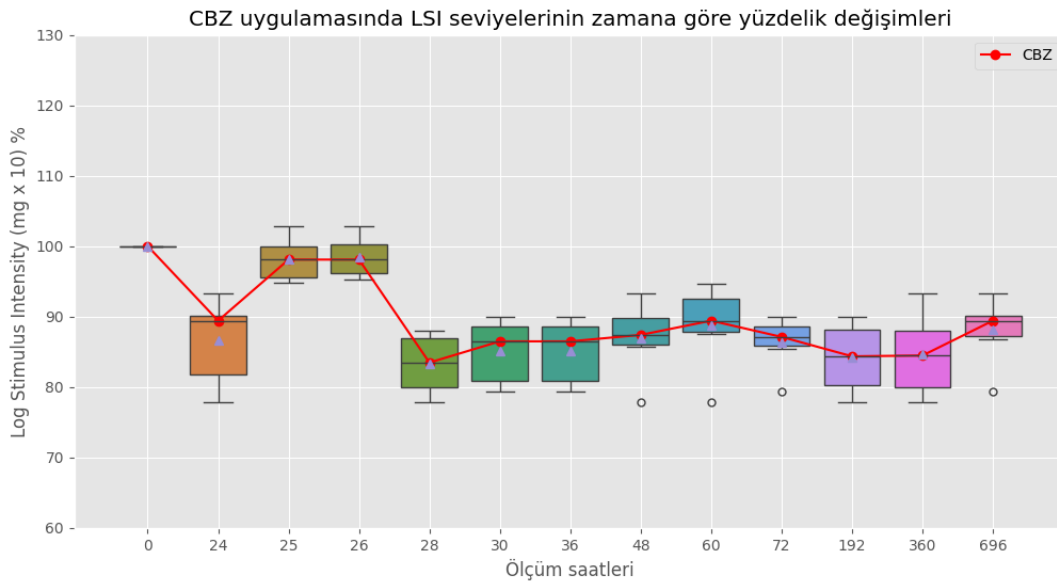


Şekil 4.11. KNP grubunun LSI seviyelerinin zamansal değişim grafiği.

4.2.3.4. KBZ grubu deneklerinin zamansal boylamda karşılaştırılmaları

Deneklerin preoperatif dönemde yapılan ölçümleri 100 olarak kabul edildi ve değişimler yüzdelik üzerinden gösterildi. KBZ grubunda (CBZ_K) preoperatif dönemde ölçümlerin ortalaması 100.00 (SD ± 0.00) olarak sabit kalmıştır. Postoperatif 24. saatte ölçümlerin ortalaması 86.58 (SD ± 6.36) ve ortanca değeri 89.40 [IQR: 81.74 - 90.09] olarak bulundu. İlaç uygulamasının 1. saatinde ölçümlerin ortalaması 98.16 (SD ± 3.21) ve ortanca değeri 98.08 [IQR: 95.51 - 100.00] olarak kaydedilmiştir. İlaç uygulamasının 2. saatinde ortalama 98.45 (SD ± 2.99) ve ortanca değeri 98.08 [IQR: 96.17 - 100.22] olarak hesaplanmıştır. 4. saatte ölçümlerin ortalaması 83.28 (SD ± 4.31) ve ortanca değeri 83.45 [IQR: 79.87 - 86.97] olarak bulunmuştur. 6. saatte ortalama 85.07 (SD ± 4.68) ve ortanca değeri 86.47 [IQR: 80.88 - 88.56] olarak kaydedilmiştir. İlaç uygulamasının 12. saatinde ölçümlerin ortalaması 85.07 (SD ± 4.68) ve ortanca değeri 86.47 [IQR: 80.88 - 88.56] olarak tespit edilmiştir. 24. saatte ortalama 86.99 (SD ± 5.23), ortanca değeri 87.39 [IQR: 85.94 - 89.74] olarak bulunmuştur. 36. saatte ortalama

88.69 (SD ± 5.95) ve ortanca değeri 89.40 [IQR: 87.83 - 92.46] olarak kaydedilmiştir. 48. saatte ortalama 86.30 (SD ± 3.75), ortanca değeri 87.10 [IQR: 85.78 - 88.06] olarak ölçülmüştür. 168. saatte ölçümlerin ortalaması 84.12 (SD ± 4.91) ve ortanca değeri 84.34 [IQR: 80.32 - 87.90] olarak bulunmuştur. 336. saatte ortalama 84.58 (SD ± 5.98) ve ortanca değeri 84.46 [IQR: 79.87 - 90.09] olarak kaydedilmiştir. 672. saatte ölçümlerin ortalaması 88.06 (SD ± 4.77) ve ortanca değeri 85.75 [IQR: 87.27 - 88.51] olarak bulunmuştur.

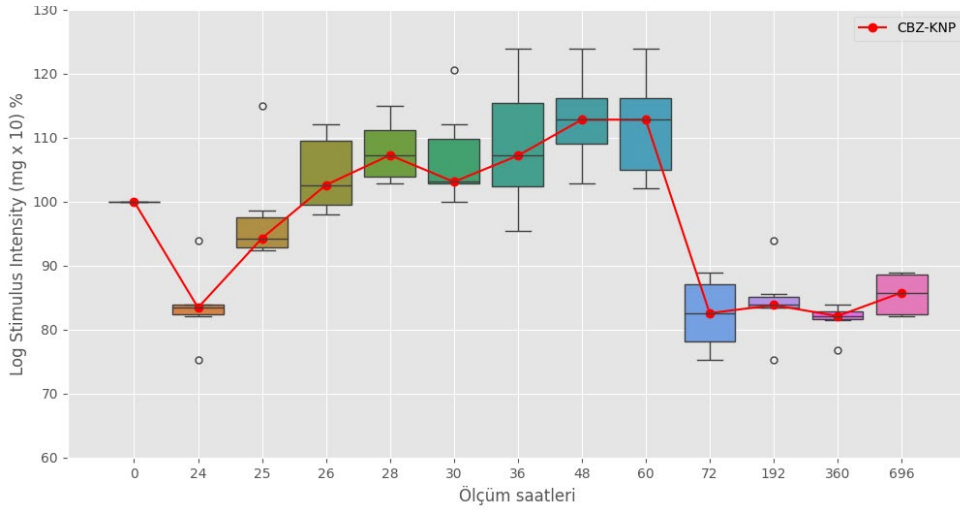


Şekil 4.12. KBZ grubunun LSI seviyelerinin zamansal değişim grafiği.

4.2.3.5. KBZ-KNP grubu deneklerinin zamansal boylamda karşılaştırılmaları

Deneklerin preoperatif dönemde yapılan ölçümleri 100 olarak kabul edildi ve değişimler yüzdelik üzerinden gösterildi. KBZ-KNP grubunda preoperatif dönemde ölçümlerin ortalaması 100.00 (SD ± 0.00) olarak sabit kalmıştır. Postoperatif 24. saatte ölçümlerin ortalaması 86.58 (SD ± 6.36) ve ortanca değeri 89.40 [IQR: 81.74 - 90.09] olarak bulundu. İlaç uygulamasının 1. saatindeki ölçümlerin ortalaması 98.16 (SD ± 3.21) ve ortanca değeri 98.08 [IQR: 95.51 - 100.00] olarak kaydedilmiştir. İlaç uygulamasının 2. saatinde ortalama 98.45 (SD ± 2.99) ve ortanca değeri 98.08 [IQR: 96.17 - 100.22] olarak hesaplanmıştır. 4. saatte ölçümlerin ortalaması 83.28 (SD ± 4.31) ve ortanca değeri 83.45 [IQR: 79.87 - 86.97] olarak bulunmuştur. 6. saatte ortalama 85.07 (SD ± 4.68) ve ortanca değeri 86.47 [IQR: 80.88 - 88.56] olarak kaydedilmiştir. İlaç uygulamasının 12.

saatinde ölçümlerin ortalaması 85.07 (SD $\pm$ 4.68) ve ortanca değeri 86.47 [IQR: 80.88 - 88.56] olarak tespit edilmiştir. 24. saatte ortalama 86.99 (SD $\pm$ 5.23), ortanca değeri 87.39 [IQR: 85.94 - 89.74] olarak bulunmuştur. 36. saatte ortalama 88.69 (SD $\pm$ 5.95) ve ortanca değeri 89.40 [IQR: 87.83 - 92.46] olarak kaydedilmiştir. 48. saatte ortalama 86.30 (SD $\pm$ 3.75), ortanca değeri 87.10 [IQR: 85.78 - 88.06] olarak ölçülmüştür. 168. saatte ölçümlerin ortalaması 84.12 (SD $\pm$ 4.91) ve ortanca değeri 84.34 [IQR: 80.32 - 87.90] olarak bulunmuştur. 336. saatte ortalama 84.58 (SD $\pm$ 5.98) ve ortanca değeri 84.46 [IQR: 79.87 - 90.09] olarak kaydedilmiştir. 672. saatte ölçümlerin ortalaması 88.06 (SD $\pm$ 4.77) ve ortanca değeri 85.75 [IQR: 87.27 - 88.51] olarak bulunmuştur.



Şekil 4.13. KBZ-KNP grubunun LSI seviyelerinin zamansal değişim grafiği

4.2.3.6. KBZ ve KBZ-KNP uygulamasının zamansal boylamda karşılaştırılması

Her iki uygulamanın da 3. günden sonra belirgin bir değişiklik göstermediği gözlemlendiği için, uygulama sonrası ilk 72 saat içerisindeki ölçümler karşılaştırılmış ve paired Tukey HSD post-hoc analizleri ile değerlendirilmiştir (Şekil 4.14, Tablo 4.22). Sonuçlara göre, postoperatif dönem 24. saatte KBZ grubunun ortalaması 86.58, KBZ-KNP grubunun ortalaması 83.64 olup, gruplar arasındaki fark 2.95 olarak hesaplanmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.428$) ve bu dönemde intranazal olarak ilaçlar uygulanmıştır. İlaç uygulamalarının 1. saatinde CBZ grubunun ortalaması 98.16, KBZ-KNP grubunun ortalaması 97.79 olup, bu iki grup arasındaki fark 0.37 olarak hesaplanmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.924$).

Saat	KBZ	KBZ-KNP	Fark	SE	T testi	p-tukey	hedges
Preop	100	100	0	0	-	-	-
Postop 24	86.58	83.63	2.94	3.56	826	428	0.44
1	98.16	97.79	0,37	3.79	98	924	52
2	98.44	104.23	-5.78	2.81	-2.05	67	-1.09
4	83.27	107.88	-24.60	2.66	-9.23	0	-4.92
6	85.07	106.90	-21.82	3.71	-5.87	0	-3.12
12	85.07	108.72	-23.65	4.69	-5.03	1	-2.68
24	86.99	112.87	-25.87	3.64	-7.09	0	-3.78
36	88.69	111.82	-23.13	4.19	-5.51	0	-2.93
48	86.30	82.41	3.89	2.79	1.39	194	742

Tablo 4.22. KBZ ve KBZ-KNP gruplarının LSI değerlerinin karşılaştırılması.

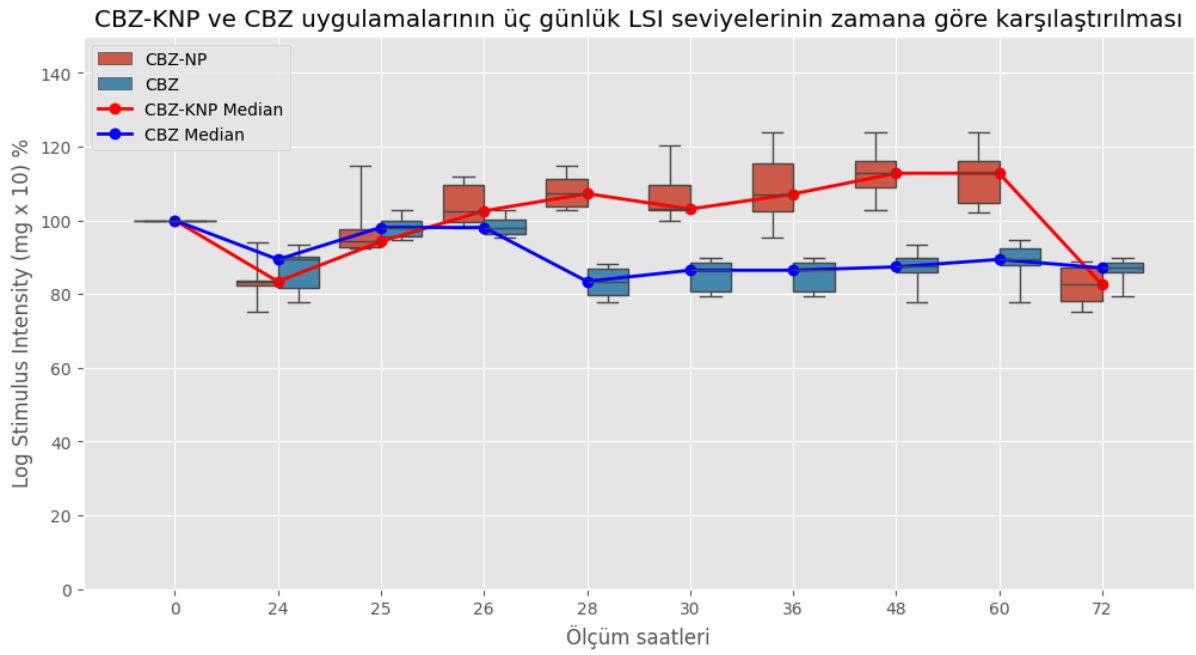
İlaç uygulamalarının 2. saatinde KBZ grubunun ortalaması 98.45, KBZ-KNP grubunun ortalaması ise 104.23 olarak kaydedilmiş ve gruplar arasındaki fark -5.78 olarak hesaplanmıştır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0.05$). İlaç uygulamalarının 3. saatinde KBZ grubunun ortalaması 83.28, KBZ-KNP grubunun ortalaması 107.88 olup, iki grup arasındaki fark -24.61 olarak bulunmuş ve fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.001$) ve KBZ-KNP daha yüksek ortalamaya sahiptir.

İlaç uygulamalarının 6. saatinde KBZ grubunun ortalaması 85.07, KBZ-KNP grubunun ortalaması 106.90 olup, fark -21.83 olarak hesaplanmıştır ve fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.001$) ve KBZ-KNP daha yüksek ortalamaya sahiptir. Deneyin 36. saatinde gruplar arasındaki fark -23.65 olarak bulunmuş ve fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.001$) ve KBZ-KNP daha yüksek ortalamaya sahiptir. İlaç uygulamalarının 24. saatinde KBZ grubunun ortalaması 86.99, KBZ-KNP grubunun ortalaması 112.87 olup, bu iki grup arasındaki fark -25.88 olarak bulunmuştur ve fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.001$) ve KBZ-KNP daha yüksek ortalamaya sahiptir.

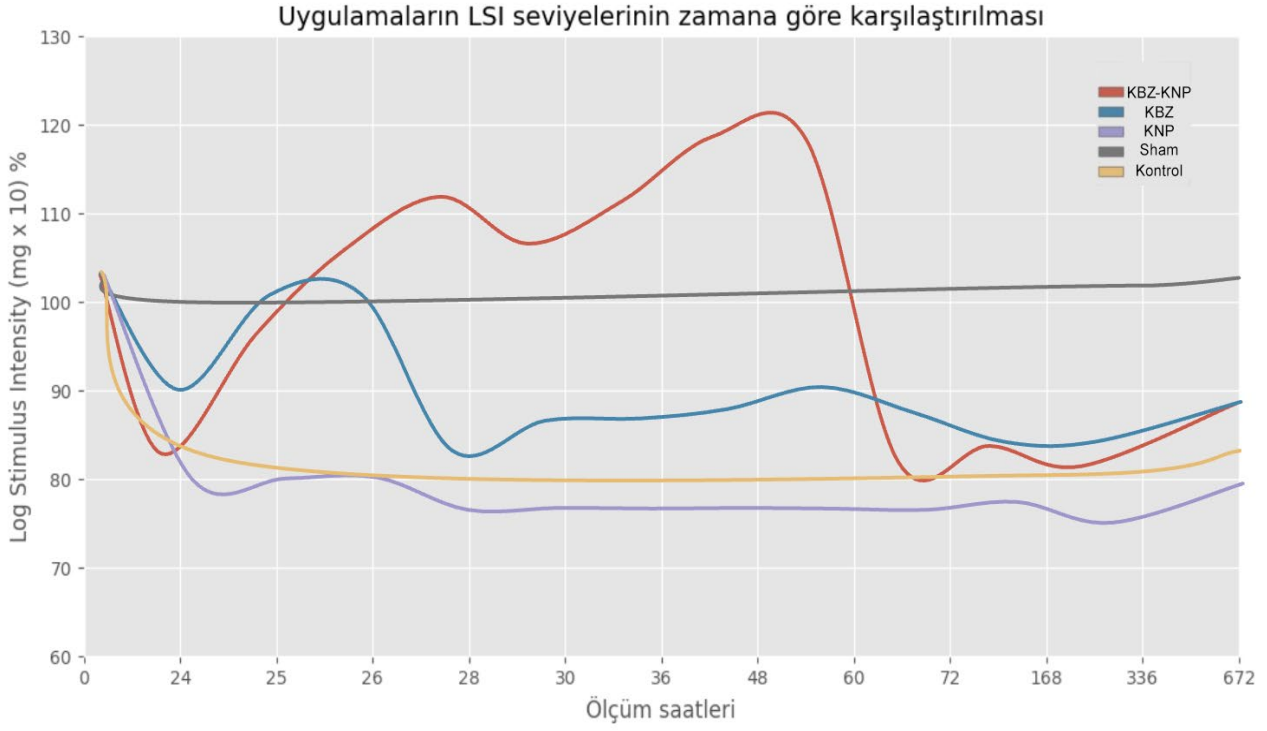
İlaç uygulamalarının 36. saatinde gruplar arasındaki fark -23.13 olarak hesaplanmıştır ve fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.001$) ve KBZ-KNP daha yüksek ortalamaya sahiptir. İlaç uygulamalarının 48. saatinde ise gruplar

arasındaki fark 3.89 olarak bulunmuş ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($P > 0.05$).

Özetle ilaç uygulamasının 3. saatinde başlayan anlamlı daha yüksek etkinlik sadece KBZ uygulamasına göre tek uygulamada en az 34 saat daha uzun etkiye sahip olduğu görülmektedir. KBZ'nin etkisinin ise yaklaşık iki saat olarak sürdüğü görülmüştür.



Şekil 4.14. Her iki grup için LSI değerlerinin ölçüm saatlerine göre ortanca değerleri çizgi grafiği ile gösterilmiştir. Kutu grafikleri her ölçüm noktası için minimum, maksimum, %25-%75 aralığı ve medyan değerlerini sunmaktadır. KBZ-KNP grubu kırmızı kutular ve çizgi ile, KBZ grubu ise mavi kutular ve çizgi ile belirtilmiştir. Y eksen, LSI seviyelerini yüzde (%) olarak gösterirken, X eksen ölçüm saatlerini içermektedir. Grafik, paired Tukey HSD post-hoc analizleri ile elde edilen sonuçların görsel sunumunu sağlamaktadır ve KBZ ile KBZ-KNP grupları arasındaki farkların zaman içindeki değişimini göstermektedir. Şekil, özellikle ilaç uygulamasının 2. saatinde itibaren KBZ-KNP grubunda gözlemlenen belirgin artışları ve 72. saate kadar süren farkları vurgulamaktadır.



Şekil 4.15. 5 denek grubunun tüm deney süresince mekanik allodiniye yanıt eşiklerinin zamana bağlı değişimi. Y eksen LSI cinsinden ağrı eşiğini, x eksen de saat cinsinden ölçüm yapılan saatleri göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışma, 8 haftalık 30 adet Sprague-Dawley sıçanında uygulanan trigeminal nevralji modelinde, KBZ yüklü KBZ-KNP'nin intranazal yolla tek doz uygulanmasının etkilerini incelemektedir. Elde edilen sonuçlar, KBZ-KNP'nin başarılı bir şekilde sentezlendiğini, karakterize edildiğini ve trigeminal nevralji modelinde mekanik allodiniye yanıt eşiğini anlamlı derecede artırarak, etkinin kıyaslanan KBZ'ye göre daha uzun süreli ve daha potent olduğunu göstermektedir. İstatistiksel analizler, KBZ-KNP grubunun başta KBZ grubu olmak üzere, diğer gruplara göre anlamlı derecede daha yüksek LSI değerlerine sahip olduğunu ve bu farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ($p < 0.05$) ortaya koymuştur. Çalışmanın güçlü ve zayıf yönleri, literatüre katkıları ve gelecekteki araştırmalar için sunduğu potansiyel, bu bulgular ışığında detaylı bir şekilde tartışılacaktır.

Nanopartiküllerin Sentezi ve Karakterizasyonu: Bu çalışmada, KBZ'nin kitosan nanopartiküllerine başarılı bir şekilde yüklendiği ve bu nanopartiküllerin detaylı karakterizasyonunun yapıldığı gösterilmiştir. Nanopartiküllerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ölçümleri partikül boyutlarının nano ölçeklerde olduğunu ve ilaç taşıyıcı sistem olarak uygun özelliklere sahip olduklarını ortaya koymuştur. KBZ-KNP'lerin ortalama boyutlarının SEM analizinde 75.2 ± 12.9 nm olarak belirlenmesi, literatürde önerilen nanopartikül boyutları ile uyumludur ve intranazal uygulama için uygun bir boyut aralığı sunmaktadır ^[230]. Nanopartiküllerin bu boyut aralığında olması, biyolojik membranlardan geçişi ve hücre alımı kolaylaştırabilir, bu da terapötik etkinliği artırabilir.

Kitosan nanopartiküllerinin Zeta potansiyel ölçümleri, yüzey yüklerinin stabilitesini ve biyolojik ortamlarla etkileşimini olumlu yönde etkileyebileceğini göstermektedir. Pozitif zeta potansiyel değerleri, ve kitosanın mukoadheziv yapısı, kitosan nanopartiküllerinin, negatif yüklü olan burun mukozasına daha

iyi yapışmasına ve etkin bir ilaç salımı için yeterli temas süresi sağlanmasına olanak tanır ^[224]. Kitosanın biyoyumlu ve biyobozunur yapısı, ilaç taşıyıcı sistemlerde yaygın olarak kullanılmasına imkan tanımaktadır ^[218, 219]. Bu yaklaşım, KBB'deki p glikoprotein pompanın bir substratı **olmayan** KBZ'nin KBB'yi aşarak, SSS'ye doğrudan iletimini kolaylaştırmaktadır ^[225, 268]. Dolayısıyla, KBZ'nin sistemik ilk eliminasyon etkisinden sakınarak burun mukozasından beyne doğrudan iletimi, ilacın biyoyararlanımını artırarak daha düşük dozlarda daha uzun süre etkili olmasını sağlayabilir. Bu çalışma, KBZ'nin bu nanopartiküllerle beyne etkin bir şekilde taşınabileceğine işaret eden sonuçlar elde etmiştir.

In Vitro Salım ve Degradasyon Profili: In vitro salım çalışmalarında, KBZ'nin nanopartiküllerden kontrollü ve sürdürülebilir bir şekilde salındığı gösterilmiştir. İlk 24 saatte ilacın yaklaşık 41.51 ± 6.86 'sının salındığı, 48 saatin sonunda ise bu oranın 73.29 ± 10.22 'ye ulaştığı tespit edilmiştir. Salım kinetiğinin Higuchi modeli ile uyumlu olması, ilacın matriks difüzyonu yoluyla serbest bırakıldığını göstermektedir ^[267]. Nanopartiküllerin in vitro degradasyon çalışmaları, KBZ'nin varlığının kitosan partiküllerinin degradasyonunu hızlandırdığını ortaya koymuştur. KBZ-KNP'lerin üç gün sonunda yaklaşık %50 oranında degradasyona uğradığı, KNP'lerin ise sadece %5 oranında degradasyon gösterdiği belirlenmiştir. Bu durum, KBZ'nin kitosan zincirleri arasına girerek çapraz bağlanmayı engellemesi ve böylece degradasyonu hızlandırmasıyla açıklanabilir. Kontrollü salım, ilacın hedef bölgedeki konsantrasyonunu belirli bir süre boyunca sabit tutarak terapötik etkinliğin sürdürülebilir olmasını sağlar. Bu durum da, ilacın etkinliğinin uzatılmasına ve yan etkilerin azaltılmasına katkı sağlar.

Nanopartiküllerin degradasyon profili incelendiğinde, KBZ-KNP'lerin kontrollü bir şekilde bozunduğu ve ilacın salımını desteklediği belirlenmiştir. Kitosanın biyobozunur yapısı, ilacın salınmasında pivotal role sahiptir. Şekil 4.5'teki KBZ-KNP'nin in vitro zamana bağlı kümülatif KBZ salımı grafiğiyle

Şekil 4.13'teki KBZ-KNP verilen denek grubunun mekanik allodiniye ağrı eşiklerinin zamana bağlı değişimini gösteren grafik incelendiğinde, iki grafik arasındaki benzerlik dikkati çekecektir. Bu da KBZ-KNP'nin, mekanik allodiniye ağrı eşığının yükselmesine gösterdiği etkide kitosan nanopartikülünün kontrollü salım sağlayan vasfının ne kadar önemli bir rol oynadığına işaret etmektedir. Kitosanın kontrollü bozunma kabiliyeti, KBZ'nin hedef bölgeye salımını optimize ederek ilacın saf haline kıyasla daha uzun süre etki göstermesine katkı sunmuş olabilir. Bir ön çalışma niteliğinde planlanmış olan bu çalışmada herhangi bir histopatolojik değerlendirme yapılmayıp sadece davranışsal yanıtlar değerlendirildiğinden, bu verilerle bu konu hakkında kesin bir kanaate varmak olası değildir.

In Vivo Etkinlik ve Davranışsal Değerlendirme: Trigeminal nevralji modeli oluşturulan sıçanlarda, KBZ-KNP uygulamasının mekanik allodiniye yanıt eşiğini anlamlı derecede artırdığı ve etkinin saf KBZ'nin intranazal yolla uygulanmasına göre daha uzun süreli olduğu gözlemlenmiştir. Von Frey filamentleri ile yapılan mekanik allodini testlerinde, KBZ-KNP uygulamasının ağrı eşiğini 36 saate kadar yükselttiği, KBZ uygulamasının etkisinin ise sadece 2 saat sürdüğü tespit edilmiştir. Bu, KBZ-KNP'nin terapötik etkinliğinin artırıldığını ve tedavi süresinin uzatıldığını göstermektedir. Özellikle, KBZ-KNP grubunun diğer gruplara göre daha yüksek LSI değerlerine sahip olması ($p < 0.05$) ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunması, KBZ-KNP'nin etkinliğini desteklemektedir. LSI değerinin ne olduğunu hatırlatmak gerekirse, Von Frey filamentleri, Milligan ^[260] ve Harvey ^[261] tarafından tanımlanan yöntemle deneklerin ağrı algılarını değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır. Bu yöntem orijinalinde, pençe çekme eşiklerini belirlemek için kullanılmış olup, kalibre edilmiş filamentlerin teorik basınç değerlerinin (g/mm^2) 100 ile çarpılması ve $\log_{10}$ sisteminde “Log stimulus intensity” ($\text{LSI} (\log_{10} \times \text{mg} \times 100)$) olarak ölçeklendirilmesi üzerine kuruludur. Monofilamentlerin aralığı (253-29200 $\text{mg} \times 10$), uyarıcı yoğunluğunun %50 yanıt eşığının interpolasyonu ile logaritmik olarak derecelendirilmiş bir ölçek sağlamıştır (Tablo 3.1). Böylece, deneklerin karşılaştırılması logaritmik bir ölçekte mümkün hale gelmiş ve daha

tutarlı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada da, aynı ölçeklendirme işlemi denekler arasında daha tutarlı bir analiz yapmak için, esas olarak deneklerin Von Frey filamanı uygulandığında göz kısma yanıtı üzerinde kullanılmıştır.

İstatistiksel analizlerde, KBZ-KNP grubunun LSI değerlerinin diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Örneğin, İlaç uygulamalarının 6. saatinde CBZ grubunun ortalaması 85.07, KBZ-KNP grubunun ortalaması 106.90 olup, fark -21.83 olarak hesaplanmıştır ve fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.001$) ve KBZ-KNP daha yüksek ortalamaya sahiptir. Deneyin 36. saatinde gruplar arasındaki fark -23.65 olarak bulunmuş ve fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.001$) ve KBZ-KNP daha yüksek ortalamaya sahiptir. İlaç uygulamalarının 24. saatinde KBZ grubunun ortalaması 86.99, KBZ-KNP grubunun ortalaması 112.87 olup, bu iki grup arasındaki fark -25.88 olarak bulunmuştur ve fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.001$) ve KBZ-KNP daha yüksek ortalamaya sahiptir. Bu sonuçlar, KBZ-KNP'nin etkinliğinin özellikle de 2. saatten sonra, KBZ'ye göre daha potent ve uzun süreli olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda, bu bulgular, nanopartikül taşıyıcı sistemin, ilacın etkisini artırmada başarılı olduğuna işaret etmektedir.

Ayrıca boş KNP verilen deneklerin ağrı eşiğinde herhangi bir değişiklik olmaması da, intranazal yolla verilen kitosan nanopartikülünün tek başına ağrı üzerine bir etki göstermediğini açıkça ortaya koymuştur.

Deney süresince (28 gün), deney gruplarında herhangi bir morbidite veya mortalite gözlenmemiştir. Ayrıca, ilaç uygulanan deneklerin hiçbirinde advers etki görülmemiştir. Bu, uygulanan tek doz tedavinin güvenli olduğuna ve hayvanların genel sağlığını olumsuz etkilemediğine yönelik önemli bir bulgudur.

Literatürle Karşılaştırma ve Bilimsel Katkı: Literatürde, sıçan trigeminal nevralji modelinde karbamazepin yüklü kitosan nanopartiküllerinin intranazal

uygulama ile etkinliğini in vivo olarak değerlendiren hiç çalışma yoktur. Bu çalışma, bu alandaki bilgi boşluğunu doldurarak literatüre önemli bir katkı sağlamaktadır. Özellikle, nanopartikül taşıyıcı sistemlerinin trigeminal nevralji tedavisinde kullanılabileceğini göstermesi açısından yenilikçidir. Çalışma, trigeminal nevraljide intranazal uygulamanın potansiyelini ortaya koyarak, hem non-invaziv ve hasta uyumunu artırma, hem de başarılı ağrı sağaltımı sağlayabilen medikal tedavinin süresini uzatma potansiyeli olan alternatif bir tedavi yöntemi fikri sunmaktadır. İntranazal uygulama, özellikle SSS hastalıklarının tedavisinde literatürde yaygın kabul görmüş, önemli bir alternatif olarak kabul edilmektedir ^[142, 143]. Bu yöntem, ilaçların kan-beyin bariyerini geçme zorluğunu aşmak için etkili bir strateji sunar.

Bu çalışmanın bulguları, trigeminal nevralji gibi nörolojik hastalıkların tedavisinde nanopartikül tabanlı taşıyıcı sistemlerin potansiyelini vurgulamaktadır. İntranazal uygulama, ilacın hızlı ve etkin bir şekilde beyne taşınmasını sağlar. Bu, özellikle SSS hastalıklarının tedavisinde önemli bir avantajdır, çünkü burun mukozasından doğrudan beyne ilaç iletimi, kan-beyin bariyerini aşmak için kullanılan invaziv yöntemlere kıyasla daha güvenli ve etkili bir yöntemdir ^[142, 143]. Ayrıca, bu çalışma, kitosan nanopartiküllerinin mukoadheziv özelliklerinin, ilacın burun mukozasından emilimini artırarak biyoyararlanımını nasıl geliştirebileceği konusunda da bir fikir vermektedir. Bu, hastaların daha düşük sıklıkta, daha düşük dozlarda ilaç almasına ve yan etkilerin azaltılmasına olanak tanımanın mümkün olabileceğine işaret etmektedir ^[224].

Çalışmanın Metodolojik Açıdan Güçlü Yönleri: Çalışmada kullanılan trigeminal nevralji modeli (dION-CCI metodu), literatürde kabul görmüş ve güvenilir bir modeldir ^[255]. Bu modelin kullanılması, elde edilen sonuçların güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini artırmaktadır. Mekanik allodiniye yanıt eşiğinin ölçülmesinde Von Frey filamentlerinin kullanılması, ağrı gibi subjektif bir konu hakkında, literatürde yaygın kabul görmüş, objektif ve nicel verilerin

elde edilmesini sağlamıştır ^[259]. Bu yöntem, ağrı eşiğinin hassas bir şekilde belirlenmesine olanak tanır. Ayrıca, çalışmada kullanılan kontrol grupları ve ilaçsız nanopartikül grubu, sonuçların kıyaslanabilirliğini artırmıştır.

Yapılan tüm ölçümler, daha önceki ölçüm sonuçlarına kör araştırmacılar tarafından yapılmış, yapılan tüm ölçümler “3.2.5 Davranışsal Değerlendirme” başlığında ayrıntılı şekilde açıklandığı üzere tekrarlanarak teyit edilmiştir. Bu yaklaşım, her ne kadar ölçümlerin farklı araştırmacılar tarafından yapılması nedeniyle araştırmacılar arası fark ortaya çıkması riskini doğursa da, çalışma sonuçlarının nesnellğine ve ölçümlerin manipölasyonu gibi risklerin ortadan kaldırılmasına büyük katkı sağlamış, sonuçların güvenilir olmasını desteklemiştir.

Sonuçların Yorumlanması ve Klinik Potansiyeli: Çalışmanın sonuçları, KBZ-KNP'lerin intranazal yolla uygulanmasının, trigeminal nevrâlji tedavisinde etkin bir alternatif olabilme ihtimali olduğunu göstermektedir. İlacın kontrollü salımı ve etkinliğinin uzatılması, hastaların daha az sıklıkla ilaç almasını sağlayarak tedaviye uyumu artırabilir. İntranazal uygulamanın non-invaziv olması, özellikle kronik ağrı hastalarında önemli bir avantajdır. Bu yöntem, gastrointestinal yan etkileri ve ilk geçiş metabolizmasını azaltarak ilacın etkinliğini artırır ^[225], çoğu hastanın tedaviye başladıktan kısa bir süre sonra ilaca yanıtı kalması veya sistemik yan etkiler nedeniyle tedavinin sonlandırılması gibi sorunlara da makul bir çözüm getirebilir. KBZ'nin kan beyin bariyerindeki p glikoprotein pompanın substratı olmadığı ancak, karaciğerde bulunan ve kendisini yıkan sitokrom enzimlerini otoindüklediği göz önüne alındığında, trigeminal nevrâlji tedavisinin medikal ayağında aşılması gereken esas zorluğun, ilacı sistemik ilk geçiş etkisinden kurtararak beyne ulaştırmak olduğu açıktır. Her ne kadar bu çalışmada ilaç tek doz verilmiş olsa da, KBZ-KNP'nin hem daha potent hem daha uzun süreli etki gösterdiğinin sadece Von Frey filamanlarıyla davranışsal olarak bile gösterilmiş olması, bu

çalışmanın bu yönde yapılacak ek çalışmalar için bir zemin hazırlama konusunda yeterli veriyi sağladığının ispatı niteliğindedir.

Gelecekteki Araştırmalar İçin Potansiyel: Bu çalışma, gelecekteki araştırmalar için ön çalışma niteliğinde sağlam bir temel oluşturmaktadır. Bu çalışma, literatürde bulunan nanopartikül tabanlı ilaç taşıyıcı sistemlerinin trigeminal nevralji tedavisinde kullanılabileceğini desteklemesinin yanında, bu formülasyonun ve yolun diğer nöropatik ağrı modellerinde de potansiyeli olduğuna işaret etmektedir. Bu durum, ilaç geliştirme ve nörolojik tedaviler alanında yeni araştırma fırsatları sunmaktadır. Gelecekteki çalışmalar, KBZ-KNP'nin diğer nöropatik ağrı modellerindeki etkinliğini inceleyebilir ve farklı ilaç taşıyıcı sistemleriyle kombinasyonunu değerlendirebilir. Ayrıca, tekrarlayan dozların etkisi, uzun vadeli güvenilirlik ve nanopartiküllerin beyin dokusundaki spesifik hedefleme kapasitesinin detaylı olarak araştırılması, bu tedavi stratejisinin optimize edilmesine yardımcı olabilir.

Sentezlenecek olan yeni nanopartiküllerin farmakokinetik profilleri, biyoyararlanımları ve farmakodinamik etkileri üzerine yapılacak çalışmalar, bu taşıyıcı sistemin klinik kullanıma daha yakınlaştırılmasına önayak olacaktır. Buna ek olarak, bu nanopartiküllerin farklı ilaçlarla birlikte kullanılma potansiyeli, KBZ'nin yine aynı trigeminal nevralji modelinde farklı nanopartiküller kullanılarak intranazal yolla uygulanmasının etkileri de ayrıca araştırılmalıdır.

Çalışmanın Zayıflıkları ve Sınırlamaları: Çalışmanın çeşitli güçlü yönleri olmasına rağmen son derece önemli zayıflıkları da bulunmaktadır. Çalışmanın; in vitro ortamda nanopartikülün sentezlenmesi ve karakterize edilmesi, sıçanlarda trigeminal nevralji modelinin oluşturulması ve intranazal yol ile ilaç uygulandıktan sonra 28 gün boyunca deneklerin Von Frey filamanlarıyla

ölçümlerinin yapılması basamaklarından oluşan kademeli doğası gereği, bu eksiklikleri üç ana başlıkta toplamak faydalı olacaktır: In vitro basamağın zayıflıkları, tercih edilen trigeminal nevralji modelinin intrinsek zayıflıkları ve bunun dışında kalan in vivo faz zayıflıkları. Bu eksiklikleri açık bir şekilde ifade edebilmek için, ayrı ayrı irdelemek gerekir.

In vitro basamaktaki üç önemli eksiklikten irdelenmesi gereken ilki, nanopartiküllerin uzun vadeli biyobozunma profili ve potansiyel toksik etkileri kapsamlı bir şekilde araştırılmamış olmasıdır. Nanopartiküllerin beyinde birikmesi veya istenmeyen bölgelerde toksik etkilere neden olması olasılığı, uzun vadeli güvenlik açısından dikkate alınmalıdır. Kitosan, genel olarak biyouyumlu ve biyobozunur olarak kabul edilse de, spesifik olarak KBZ-KNP'nin uzun vadeli güvenlik profilinin tam olarak anlaşılması gerekmektedir [224]. İkinci önemli eksik ise, nanopartikül formülasyonunun optimize edilmesi ve üretim sürecinin standardize edilmemiş olmasıdır. Sulu faz olarak sentezlendikten hemen sonra deneklere verilen bu nanopartikül, KBZ-KNP'nin trigeminal nevraljiye etkisi hakkında genelleyici yargılara varmaya engel teşkil etmektedir. Zira aynı yolla sentezlenen başka bir KBZ-KNP nanopartikülünde ilaç bağlanma oranı birebir aynı olmayacaktır. Bu, ilaç taşıyıcı sistemlerinin klinik uygulamalara geçişini sağlamak için kritik bir adımdır. Nanopartiküllerin laboratuvar ölçeğinden klinik üretime geçişi sırasında, partikül boyutu, zeta potansiyel, yüzey özellikleri ve ilaç yükleme kapasitesinin tutarlı bir şekilde kontrol edilmesi gerekmektedir [232]. Dikkat çekilmesi gereken üçüncü nokta ise nanopartiküllerin in vitro stabilitesi ve çevresel faktörlere karşı duyarlılığının detaylı olarak incelenmemiş olmasıdır. Uzun süreli stabilite, ilaç taşıyıcı sistemlerinin klinik uygulamalar için uygunluğunu belirlemede kritik bir parametredir [232]. Buna ek olarak, bu çalışmada kullanılan molekül deneklere sulu fazda verildiğinden, sentezlendiği andan itibaren Şekil 4.5'teki zamana bağımlı in vitro salım grafiğine aynen tabidir. Zaten deneyde de bu yüzden sentezlenir sentezlenmez hiç beklenmeden direkt olarak deneklere tatbik edilmiştir. Tedaviye katkı sunma iddiası olabilecek bir molekülün öncelikle oda sıcaklığında stabil olarak saklanabilir olması, etkinliğinin mukozayla temas

ettiği andan itibaren başlamasının sağlanması şarttır. Bu çalışma bu konuda son derece zayıf kalmıştır. Ayrıca, nanopartiküllerin üretim sürecinin ölçeklenebilirliği ve endüstriyel üretime uygunluğu konusunda da detaylı bilgi verilmemiştir.

Tercih edilen modelin en önemli zayıflığı ise, çalışmanın sadece trigeminal nevrojji ağrısını taklit eden bir hayvan modelinde gerçekleştirilmiş olmasıdır. Bu model patofizyolojik olarak trigeminal nevrojjiyi taklit etmekten çok uzaktır. Trigeminal nevrojji patofizyolojisi ile ilgili ortaya atılan tüm teoriler Obersteiner Redlich zonunu merkeze alırken bu modelde cerrahi distal infraorbital sinire uygulanmaktadır. Trigeminal nevrojji, insanlarda karmaşık, henüz patofizyolojisi tam aydınlatılamamış ve çok yönlü bir ağrı bozukluğu olup, uygulanan modelin bu karmaşıklığı tam olarak yansıtmayı yansıtmadığı hala tartışmalıdır ^[255]. Dolayısıyla, bu modelde mükemmelen işe yarayan bir tedavinin bile insanlarda aynı etkiyi göstereceğini varsaymak, fazla iyi niyetli bir yaklaşım olur. Buna rağmen bu modelin neden tercih edildiği sorusunun cevabıysa, literatürde bulunan Vos ve ark. ile Henry ve ark.'nın tanımladıkları diğer iki modelin dezavantajlarında yatmaktadır ^[269, 270]. Bu modeller hem anatomik olarak çok daha ciddi diseksiyonlar gerektirmesi, yani teknik açıdan çok daha zor olması, hem daha uzun süren ve mortalite/morbidite riski daha yüksek cerrahiler olması, hem de postop dönemde deneklerin hipotonik ve hipertonic fazlardan yani ağrı yanıtlarının normalden daha düşük ve daha yüksek olduğu asimetrik fazlardan oluşması nedeniyle daha az stabil sonuçlar üretebilen modellerdir. Tercih ettiğimiz trigeminal nevrojji modelinin ise literatürde hipotonik/hipertonic fazları olmadığı ifade edilmiş olup ^[255], bizim gözlemlerimiz de bununla paraleldir.

In vivo çalışmanın çok sayıdaki zayıflıklarından ilki ve en önemlisi çalışmanın sadece davranışsal ölçümlere dayanması, herhangi bir histopatolojik çalışma yapılmamasıdır. Bu pek çok olumsuzluğa yol açan çok kritik bir eksiktir zira, örneğin nanopartiküllerin beyin dokusunda dağılımı ve spesifik hedefleme

kapasitesi ile ilgili detaylı hiçbir inceleme yapılmaması anlamına da gelmektedir. Nanopartiküllerin beyindeki belirli bölgelerde nasıl biriktiği ve bu bölgelerde nasıl etki gösterdiği, tedavinin etkinliğini ve güvenliğini anlamak açısından önemlidir. Eldeki veriler göz önüne alındığında kitosanın beyne geçip geçmediği, geçtiyse ne oranda ve ne yolla geçtiği konusunda hiç veri elde edilmemiştir. Bu konuda detaylı in vivo görüntüleme ve histopatolojik analizler, nanopartiküllerin beyin içinde hedefleme ve dağılım özelliklerini aydınlatılabilir [230]. Aynı şekilde histopatolojik incelemenin olmaması, nanopartikülün taşıdığı KBZ molekülünü hangi aşamada serbest bıraktığından, ilacın en çok hangi yolla beyne geçtiğine kadar pek çok noktayı karanlıkta bırakmıştır. Nanopartiküllerin kan-beyin bariyerini aşma mekanizmaları ve beyin içinde spesifik hücrel hedeflerle etkileşimleri hakkında detaylı veriler eksiktir. Beyindeki belirli hücrel hedeflerle etkileşim, ilacın terapötik etkinliği ve potansiyel yan etkilerini belirlemede önemli bir faktördür [224]. Bilindiği üzere, intranazal boşluktan beyne giden 3 ana yol vardır: Olfaktör sinir, trigeminal sinir ve mukozal kan dolaşımı. Sadece bu yollardan ilki olan olfaktör sinirin rodent nazal kavitesinde kapladığı hacimle insan nazal kavitesinde kapladığı hacim arasında bulunan çok ciddi fark bile, eğer ilacın büyük çoğunluğu olfaktör sinir üzerinden beyne taşınmışsa, çalışmanın gösterdiği faydanın önemini ciddi oranda azaltacak güce sahiptir. Çünkü, insan nazal kavitesine uygulanan ilacın rodente oranla çok daha az bir kısmı olfaktör sinire ulaşabilecektir. Aynı şekilde eğer ilacın çok büyük bir kısmı mukozal kan dolaşımına geçmiş, ancak eser bir miktar olfaktör sinir ve trigeminal sinir üzerinden beyne retrograde aksonal transport ile taşınmışsa, bu sefer de bu ilacın intranazal yolla uygulanması ile IV uygulanması arasında sadece küçük bir yöntem farkı olduğu sonucu çıkabilir. Bu yöntem, eğer verilen ilacın önemli bir kısmı trigeminal sinir ve olfaktör sinir üzerinden taşınmışsa veya mukozal kan dolaşımıyla beyne ulaşan ilaç miktarı denklemden çıkarıldığında da ağrı yanıtı üzerine yine anlamlı bir etki sağlanabiliyorsa büyük değer kazanır. Bu çalışma intranazal yolla uygulanan ilacın hangi yoldan ne oranda beyne geçtiğiyle ilgili herhangi bir veri sağlamamaktadır. Dolayısıyla da bu konuların aydınlatılamamış olması önemli bir eksiktir. Literatürde bu konuda yapılmış hiç hayvan deneyi olmaması nedeniyle, bu çalışmanın bir ön çalışma niteliği taşımayı hedeflemesi bu eksikliği mazur gösterebilecek tek açıklama olup, literature bu konuda katkı

sağlamayı hedefleyen araştırmacıların ilk hedefi bu konuyu aydınlatmak olmalıdır.

In vivo fazın ikinci ve yine bu kadar önemli bir eksiği, denekler 28 gün boyunca gözlenmiş ve ölçülmüş olmasına rağmen, ilacın tek doz uygulanmasıdır. Tekrarlayan dozlarda KBZ-KNP'nin etkinliği ve güvenilirliği değerlendirilmemiştir. Tek doz uygulamanın ötesine geçerek, tekrarlayan dozların etkinliği ve olası toksik etkilerinin incelenmesi, bu tedavinin klinik kullanımı için daha güvenilir bir temel sağlayabilir.

Üçüncü zayıflığı ise farklı dozların değerlendirilmemiş olmasıdır. Farklı dozlarda KBZ-KNP'nin etkinliğini incelemek, optimum tedavi dozunun belirlenmesine yardımcı olabilir. Doz-cevap eğrilerinin oluşturulması, ilacın terapötik penceresini ve toksisite profillerini anlamak için kritik öneme sahiptir.

Bir başka zayıflık ise yine histopatolojik değerlendirme yapılmamasıyla da ilişkilendirilebilecek olan, Şekil 4.13'te görülen, 24. ve 36. saatler arasında görülen ve ilkinden daha potent bir etkiye işaret eden ikinci pikle ilgili bir açıklama sunacak veri toplanmamış olmasıdır. Bu etkiyle ilgili pek çok çıkarımı postüle edebilmek mümkünken, bu çalışma hem BOS hem de diğer nöral dokularla ilgili herhangi bir histofizyolojik sonuç sunmadığından, bu konuya ışık tutabilecek veri sağlamak noktasında eksik kalmıştır.

In vivo fazın altıncı eksikliği de KBZ-KNP'nin sadece intranazal verilmiş olmasıdır. Oral ya da IV yollarla intranazal yolu karşılaştırmadığından, intranazal uygulama yolunun oral ve IV yollara göre avantajları ve dezavantajları açısından bir veri sunmamıştır.

Sonuç olarak bu alışma, KBZ-KNP'nin intranazal yoldan trigeminal nevralji tedavisinde potansiyel bir ajan olarak kullanılabilme ihtimali olduğunu göstermektedir. Kitosan nanopartikülü, ilacın kontrollü salımını ve etkinliğinin uzatılmasını sağlamış, intranazal uygulama yoluyla kan-beyin bariyerini aşarak beyne etkin bir şekilde iletilmiştir. Ancak, çalışmanın yukarıda ayrıntılandırılmış olan sınırlamaları ve zayıflıkları mutlaka göz önünde bulundurulmalı, bu çalışmanın bir n çalışma olarak planlandığı akıldan çıkarılmamalıdır. Histopatolojik çalışmaların yapılması, nanopartiküllerin uzun vadeli güvenlik profillerinin değerlendirilmesi ve doz üzerine ayrıntılı çalışmalar yapılması, bu tedavi yaklaşımının klinik uygulamaya geçişini desteklemek için kritik öneme sahiptir.



6. SONUÇ

Bu çalışmada Sprague-Dawley sıçanlarda dION-CCI metoduyla oluşturulan trigeminal nevralji modelinde kitosan nanopartikülüne bağlanmış KBZ'nin intranazal yolla tek doz uygulanmasının etkileri incelenmiştir.

- 1) Kitosana bağlı karbamazepin nanopartikülü başarıyla sentezlenmiş ve karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.
- 2) Planlandığı üzere, SHAM grubu hariç tüm gruplarda 28 gün boyunca stabil bir trigeminal nevralji modeli başarıyla oluşturulmuştur. SHAM grubunun ise mekanik allodiniye yanıt eşiğinde postop 1. gün hariç anlamlı bir düşme olmamıştır. İlk gün görülen düşme ise operasyon esnasında, öncesinde ya da sonrasında herhangi bir analjezik ajan kullanılmamasıyla ilişkili olarak değerlendirilmiştir.
- 3) Bu 28 gün boyunca herhangi bir denekte herhangi bir morbidite ya da mortalite gelişmemiştir.
- 4) Sentezlenen KBZ-KNP, KBZ ve boş KNP nanopartikülü deneklere tek doz olarak başarıyla uygulanmış ve KBZ-KNP'nin deneklerin mekanik allodiniye yanıt eşiğini yükseltme üzerinde hem en uzun hem de en potent etkiyi gösterdiği, boş kitosan nanopartikülünün herhangi bir etki göstermediği, KBZ'nin ise literatürde tanımlanan süre ve güçte etki gösterdiği görülmüştür.
- 5) İlaç uygulanan deneklerin hiçbirinde ilaç uygulandıktan sonra takip eden 27 gün boyunca herhangi bir advers etki gözlenmemiştir.
- 6) KBZ-KNP in vitro salım grafiğiyle, yapılan in vivo çalışmada KBZ-KNP verilen grubun davranışsal ölçümlerinin grafiği arasındaki paralellik dikkat çekmiştir.

Sonuç olarak dION-CCI sıçan trigeminal nevralji modelinde, kitosan nanopartikülüne bağlanmış karbamazepinin intranazal yolla verildiğinde

mekanik allodini yanıt eşiğini yükselttiği, bu yükselmenin ilaç uygulandıktan sonra 2. saatle 36. saat arasında intranazal yolla uygulanan karbamazepinden daha potent olduğu, Von Frey filamanları kullanılarak yapılan davranışsal ölçümlerle gösterilmiştir ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır. İntranazal yoldan verilen KBZ ile kıyaslandığında kitosan nanopartikülüne bağlanmış halde verilen KBZ'nin maksimum etkisi daha geç başlamış, daha uzun sürmüş ve yanıt eşiğini daha çok yükseltmiştir ve bu sonuçlar da istatistiksel açıdan anlamlıdır. Nanopartikülün beyne hangi yollardan ne oranda geçtiği, etkinin neden 2 kez pik yaptığı, ikinci pikin neden birinciden daha yüksek olduğu, etkinin tam ne kadar sürdüğu, tekrarlayan dozlarda etkinin aynı şekilde devam edip etmediği, nanopartikülün BOS ve santral sinir sisteminde ne kadar süre kaldığı, tarafımızca histopatolojik doku çalışmaları da eklenerek, benzer protokole uyularak yapılacak ileri çalışmaları ayrıntılı olarak ayrı ayrı değerlendirilecektir.

KAYNAKLAR

1. Kaeley N, Kabi A, Bhatia R, Mohanty A. Carbamazepine-induced hyponatremia - A wakeup call. *J Family Med Prim Care*. 2019;8(5):1786-1788.
2. Al Rajaibi, Raqiya et al. "Carbamazepine-Induced Stevens-Johnson Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis Overlap Treated Successfully with Oral Cyclosporin: Case report and literature review." *Sultan Qaboos University medical journal* vol. 21,3 (2021): 491-494.
3. Liu, S., S. Yang, and P.C. Ho, Intranasal administration of carbamazepine-loaded carboxymethyl chitosan nanoparticles for drug delivery to the brain. *asian journal of pharmaceutical sciences*, 2018. 13(1): p. 72-81.
4. Filipović-Grčić, J., et al., Spray-dried carbamazepine-loaded chitosan and HPMC microspheres: preparation and characterisation. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 2003. 55(7): p. 921-931.
5. Şeftalioğlu A. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. Feryal Matbaası, 1998, 3. baskı, Ankara, Türkiye, p:27-45.
6. Dere F. Nöroanatomi: Fonksiyonel Nöroloji. Nobel Tıp Kitabevi, 2000, 4. Baskı, Ankara, Türkiye, p:116-29
7. Sadler TW. Langman's Medical Embriology. Palme Yayıncılık, ed. Başaklar C, 2011, 11. baskı, Ankara, p: 284-88
8. Kehrli P, Maillot C, Wolff M J. Anatomy and embryology of the trigeminal nerve and its branches in the parasellar area. *Neurological Research*. 1997; 19(1): 57-65.
9. Yıldırım M. Klinik Nöroanatomi. Palme Yayıncılık, 2000, İstanbul, p: 408-09.
10. Rothman KJ, Monson RR. Epidemiology of trigeminal neuralgia. *J Chronic Dis*. 1973; 26:3-12.
11. Gyaninder Pal Singh. Handbook of Trigeminal Neuralgia. İçinde: Anatomy of Trigeminal Nerve. Singapore: Springer; 2019.
12. Joo W, Yoshioka F, Funaki T, Mizokami K, Rhoton AL Jr. Microsurgical anatomy of the trigeminal nerve. *Clin Anat*. 2014; 27:61-88.
13. Soeira G, Abd el-Bary TH, Dujovny M, Slavin KV, Ausman JI. Microsurgical anatomy of the trigeminal nerve. *Neurol Res*. 1994; 16:273-83.
14. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. Ankara: Öncü Basımevi; 2001.
15. Lipski M, Tomaszewska IM, Lipska W, Lis GJ, Tomaszewski KA. The mandible and its foramen: anatomy, anthropology, embryology and resulting clinical implications. *Folia Morphol*. 2013; 72:285-92.
16. Tomaszewska I.M, Zwinczewska H, Gładysz T, Walocha J.A. Anatomy and clinical significance of the maxillary nerve: a literature review. *Folia Morphol*. 2014; 74:150-6.
17. Rodella L.F, Buffoli B, Labanca M, Rezzani R. A review of the mandibular and maxillary nerve supplies and their clinical relevance. *Arch Oral Biol*. 2012; 57:323-34.
18. Izci Y, Gonul E. The microsurgical anatomy of the ciliary ganglion and its clinical importance in orbital traumas: an anatomic study. *Minim Invasive Neurosurg MIN* 2006;49(3):156-60.
19. Roitman R, Talmi YP, Finkelstein Y, Sadov R, Zohar Y. Anatomic study of the otic ganglion in humans. *Head Neck*. 1990;12(6):503-6.

20. Piagkou M, Demesticha T, Troupis T, Vlasis K, Skandalakis P, Makri A, vd. The pterygopalatine ganglion and its role in various pain syndromes: from anatomy to clinical practice. *Pain Pract Off J World Inst Pain*. 2012;12(5):399-412.
21. Prometheus: anatomi atlası / Michael Schünke, Erik Schulte, Udo Schumacher; çeviri editörü Mehmet Yıldırım. by Schünke, Michael. ISBN: 9789754206623. 2009; Cilt 3; 73-77
22. <https://rhoton.ineurodb.org/>
23. Asan, F. (2020). Trigeminal Nevralji Tedavisinde Botulinum Toksininin Etkinliğinin Araştırılması (Nöroloji Uzmanlık Tezi). Danışman: Prof. Dr. Feray Karaali Savrun. İstanbul.
24. Şahin, M. (2024). Trigeminal Nevralji Olgularında Mikrovasküler Dekompresyon Cerrahisinde Nörovasküler Yapıların İntraoperatif Anjiyografi Yöntemleri ile Gösterilmesi ve Prospektif Olarak Karşılaştırılması (Tıpta Uzmanlık Tezi). Tez Danışmanı: Doç. Dr. Burcu Göker. İstanbul.
25. Kırımlı, K. (2023). Trigeminal Nevralji İn Vitro Modeli Olarak Sıçan Trigeminal Sinir Hücreleri Üzerine Bevacizumabın Tedavi Edici Etkisinin Araştırılması (Uzmanlık Tezi). Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ali Rıza Güvercin. Trabzon.
26. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. (2018). *Cephalalgia: an international journal of headache*, 38(1), 1–211. <https://doi.org/10.1177/0333102417738202>
27. Stookey B, Ransohoff J: Trigeminal neuralgia, Its History and treatment Springfield, Charles C Thomas, 1959
28. Rose FC. Trigeminal Neuralgia. *Arch Neurol*. 1999;56(9):1163-4
29. Wilkins RH: Historical perspectives, in Rovit RL, Murali Ro Janetta PJ (eds): *Trigeminal Neuralgia*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1990, 1-26 s
30. Ameli NO: Avicenna and Trigeminal Neuralgia. *J Neurol Sci* 2:105-107, 1965
31. Preul MC: Historical considerations of the diagnosis and treatment of facial pain. *Neurosurg Clin North Am* 12:111-126, 2001
32. Brown JA, Coursaget C, Preul MC, Sangvai D: Mercury water and cauterizing stones: Nicholas Andre and tic douloureux. *J Neurosurg* 90:977-981, 1999
33. Preul MC: Historical considerations of the diagnosis and treatment of facial pain. *Neurosurg Clin North Am* 12:111-126, 2001
34. Cutter c: *Treatise on Anatomy, Physiology and Hygiene*. Philadelphia: JB Lippincott, 1874, 336 s
35. Fromm GH, Sessle BJ. *Trigeminal Neuralgia. Current Concepts Regarding Pathogenesis and Treatment*. Boston: Butterworth- Heinemann; 1991. 1-26 s
36. Dandy, W. E. (1929). An operation for the cure of tic douloureux: partial section of the sensory root at the pons. *Archives of Surgery*, 18(2), 687-734.
37. Peker, S., Pamir, N. (2003). Trigeminal nevrālji tarihçesi. *Türk Nöroşirürji Dergisi*, 13, 227-234.

38. Penman, J. Trigeminal neuralgia. In: Vinken, P. J.; Bruyn, G. W.; Klawans, H. L. Harold L. Handbook of Clinical Neurology; Amsterdam: North-Holland, 1968
39. Katusic, S.; Beard, C. M.; Bergstralh, E.; Kurland, L. T. Incidence and clinical features of trigeminal neuralgia, Rochester, Minnesota, 1945-1984. *Ann. Neurol.*, 1990, 27 (1), 89-95. <https://doi.org/10.1002/ana.410270114>.
40. Yoshimasu, F.; Kurland, L. T.; Elveback, L. R. Tic Douloureux in Rochester, Minnesota, 1945-1969. *Neurology* 1972, 22 (9), 952-956. <https://doi.org/10.1212/wnl.22.9.952>.
41. Rozen, T. D. Trigeminal neuralgia and glossopharyngeal neuralgia. *Neurol. Clin.*, 2004, 22 (1), 185-206. [https://doi.org/10.1016/S0733-8619\(03\)00094-X](https://doi.org/10.1016/S0733-8619(03)00094-X).
42. Hall, G. C.; Carroll, D.; Parry, D.; McQuay, H. J. Epidemiology and treatment of neuropathic pain: The UK primary care perspective. *Pain* 2006, 122 (1), 156-162. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2006.01.030>.
43. De Toledo, I. P.; Conti Réus, J.; Fernandes, M.; Porporatti, A. L.; Peres, M. A.; Takaschima, A.; Linhares, M. N.; Guerra, E.; De Luca Canto, G. Prevalence of trigeminal neuralgia. *J. Am. Dent. Assoc.* 2016, 147 (7), 570-576.e2. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2016.02.014>.
44. Bangash, T. H. Trigeminal neuralgia: Frequency of occurrence in different nerve branches. *Anesthesiol. Pain Med.*, 2011, 1 (2), 70-72. <https://doi.org/10.5812/kowsar.22287523.2164>
45. Mueller, D.; Obermann, M.; Yoon, M.-S.; Poitz, F.; Hansen, N.; Slomke, M.-A.; Dommers, P.; Gizewski, E.; Diener, H.-C.; Katsarava, Z. Prevalence of trigeminal neuralgia and persistent idiopathic facial pain: A population-based study. *Cephalalgia* 2011, 31 (15), 1542-1548. <https://doi.org/10.1177/0333102411424619>.
46. Maarbjerg, S.; Gozalov, A.; Olesen, J.; Bendtsen, L. Trigeminal neuralgia: a prospective systematic study of clinical characteristics in 158 patients. *Headache*, 2014, 54 (10), 1574-1582. <https://doi.org/10.1111/head.12441>.
47. De Toledo, I. P.; Conti, R.J.; Fernandes, M.; Porporatti, A. L.; Peres, M. A.; Takaschima, A.; Linhares, M. N.; Guerra, E.; De Luca Canto, G. Prevalence of trigeminal neuralgia: A systematic review. *J. Am. Dent. Assoc.* 2016, 147 (7), 570-576.e2. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2016.02.014>.
48. Jensen, T. S.; Rasmussen, P.; Reske-Nielsen, E. Association of trigeminal neuralgia with multiple sclerosis: Clinical and patho- logical features. *Acta Neurol. Scand.*, **1982**, 65 (3), 182-189. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1982.tb03076.x>.
49. Solaro, C.; Brichetto, G.; Amato, M. P.; Cocco, E.; Colombo, B.; D'Aleo, G.; Gasperini, C.; Ghezzi, A.; Martinelli, V.; Milanese, C.; Patti, F.; Trojano, M.; Verdun, E.; Mancardi, G.L.; PaIMS study Group. The prevalence of pain in multiple sclerosis: A multicenter Cross-sectional study. *Neurology*, 2004, 63 (5), 919-921. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000137047.85868.d6>.
50. Hooge, J. P.; Redekop, W. K. Trigeminal neuralgia in multiple sclerosis. *Neurology* 1995, 45 (7), 1294-1296. <https://doi.org/10.1212/wnl.45.7.1294>.
51. Vincent M, Wang S jiun. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. *Cephalalgia* 2018;38(1):1–211.

52. Haviv Y, Khan J, Zini A, et al. Trigeminal neuralgia (part I): Revisiting the clinical phenotype. *Cephalalgia* 2016;36(8):730–46.
53. Bowsher D. Trigeminal neuralgia: A symptomatic study of 126 successive patients with and without previous interventions. *Pain Clinic* 2000;12(2):93–101.
54. Maarbjerg S, Gozalov A, Olesen J, et al. Trigeminal neuralgia—a prospective systematic study of clinical characteristics in 158 patients. *Headache* 2014;54(10): 1574–82. <https://doi.org/10.1111/head.12441>.
55. Maarbjerg S, Benoliel R. The changing face of trigeminal neuralgia—A narrative review. *Headache: The J Head Face Pain* 2021;61(6):817–37.
56. Maarbjerg S, Gozalov A, Olesen J, et al. Concomitant persistent pain in classical trigeminal neuralgia—evidence for different subtypes. *Headache* 2014;54(7): 1173–83. <https://doi.org/10.1111/head.12384>.
57. Kuncz A, Vořroš E, Barzová P, et al. Comparison of clinical symptoms and magnetic resonance angiographic (MRA) results in patients with trigeminal neuralgia and persistent idiopathic facial pain. Medium-term outcome after microvascular decompression of cases with positive MRA findings. *Cephalalgia* 2006;26(3): 266–76.
58. Tacconi L, Miles JB. Bilateral trigeminal neuralgia: a therapeutic dilemma. *Br J Neurosurg* 2000;14(1):33–9.
59. Katusic S, Beard CM, Bergstralh E, et al. Incidence and clinical features of trigeminal neuralgia, Rochester, Minnesota, 1945-1984. *Ann Neurol* 1990;27(1): 89–95.
60. Tan CY, Shahrizaila N, Goh KJ. Clinical Characteristics, Pain, and Quality of Life Experiences of Trigeminal Neuralgia in a Multi-Ethnic Asian Cohort. *J Oral Facial Pain Headache* 2017;31(4):e15–20. <https://doi.org/10.11607/ofph.1793>.
61. Benoliel R, Zadik Y, Eliav E, et al. Peripheral painful traumatic trigeminal neuropathy: clinical features in 91 cases and proposal of novel diagnostic criteria. *J Orofac Pain* 2012;26(1):49–58. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22292140>.
62. Siqueira SR, Teixeira MJ, Siqueira JT. Clinical characteristics of patients with trigeminal neuralgia referred to neurosurgery. *Eur J Dent* 2009;3(3):207–12. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19756195>.
63. Rasmussen P. Facial pain. II. A prospective survey of 1052 patients with a view of: character of the attacks, onset, course, and character of pain. *Acta Neurochir (Wien)* 1990;107(3–4):121–8.
64. Kugelberg E, Lindblom U. The mechanism of the pain in trigeminal neuralgia. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1959;22(1):36–43.
65. Younis S, Maarbjerg S, Reimer M, et al. Quantitative sensory testing in classical trigeminal neuralgia—a blinded study in patients with and without concomitant persistent pain. *Pain* 2016;157(7):1407–14.
66. Maier C, Baron R, Tölle TR, et al. Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): somatosensory abnormalities in 1236 patients with different neuropathic pain syndromes. *Pain* 2010;150(3): 439–50.
67. Rasmussen P. Facial pain. IV. A prospective study of 1052 patients with a view of: precipitating factors, associated symptoms, objective psychiatric and neurological symptoms. *Acta Neurochir (Wien)* 1991;108(3–4):100–9.

68. Simms HN, Honey CR. The importance of autonomic symptoms in trigeminal neuralgia. Clinical article. *J Neurosurg* 2011;115(2):210–6.
69. Maarbjerg S, di Stefano G, Bendtsen L, et al. Trigeminal neuralgia – diagnosis and treatment. *Cephalalgia* 2017;37(7):648–57.
70. Benoliel R, Sharav Y. Trigeminal neuralgia with lacrimation or SUNCT syndrome? *Cephalalgia* 1998;18(2):85–90.
71. Benoliel R, Sharav Y, Haviv Y, et al. Tic, Triggering, and Tearing: From CTN to SUNHA. *Headache* 2017;57(6):997–1009.
72. Rasmussen, P. Facial pain. IV. A Prospective study of 1052 patients with a view of: Precipitating factors, associated symptoms, objective psychiatric and neurological symptoms. *Acta Neurochir. (Wien)*. 1991, 108 (3-4), 100-109
73. Benoliel, R.; Zini, A.; Khan, J.; Almoznino, G.; Sharav, Y.; Haviv, Y. Trigeminal neuralgia (Part II): Factors affecting early pharmacotherapeutic outcome. *Cephalalgia* 2016, 36 (8), 747-759.
<https://doi.org/10.1177/0333102415611406>
74. Younis, S.; Maarbjerg, S.; Reimer, M.; Wolfram, F.; Olesen, J.; Baron, R.; Bendtsen, L. Quantitative sensory testing in classical trigeminal neuralgia-a blinded study in patients with and without concomitant persistent pain. *Pain*, 2016, 157 (7), 1407-1414.
<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000528>
75. Chen Q, Yi DI, Perez JNJ, et al. The Molecular Basis and Pathophysiology of Trigeminal Neuralgia. *Int J Mol Sci* 2022;23(7):3604.
76. Gambeta E, Chichorro JG, Zamponi GW. Trigeminal neuralgia: An overview from pathophysiology to pharmacological treatments. *Mol Pain* 2020;16. <https://doi.org/10.1177/1744806920901890>. 174480692090189.
77. Liu M, Zhong J, Xia L, et al. The expression of voltage-gated sodium channels in trigeminal nerve following chronic constriction injury in rats. *Int J Neurosci* 2019; 129(10):955–62.
78. Siqueira SRDT, Alves B, Malpartida HMG, et al. Abnormal expression of voltagegated sodium channels Nav1.7, Nav1.3 and Nav1.8 in trigeminal neuralgia. *Neuroscience* 2009;164(2):573–7.
79. Xu W, Zhang J, Wang Y, et al. Changes in the expression of voltage-gated sodium channels Nav1.3, Nav1.7, Nav1.8, and Nav1.9 in rat trigeminal ganglia following chronic constriction injury. *NeuroReport* 2016;27(12):929–34.
80. Devor M, Amir R, Rappaport ZH. Pathophysiology of Trigeminal Neuralgia: The Ignition Hypothesis. *Clin J Pain* 2002;18(1):4–13.
81. Burchiel KJ. Abnormal impulse generation in focally demyelinated trigeminal roots. *J Neurosurg* 1980;53(5):674–83.
82. Calvin WH, Loeser JD, Howe JF. A neurophysiological theory for the pain mechanism of tic douloureux. *Pain* 1977;3(2):147–54.
83. Puil E, Spigelman I. Electrophysiological responses of trigeminal root ganglion neurons in vitro. *Neuroscience* 1988;24(2):635–46.
84. Rappaport HZ, Devor M. Trigeminal neuralgia: The role of self-sustaining discharge in the trigeminal ganglion. *Pain* 1994;56(2):127–38.
85. Love S, Coakham HB. Trigeminal neuralgia: pathology and pathogenesis. *Brain* 2001;124(Pt 12):2347–60.
86. Rasminsky M. Ectopic generation of impulses and cross-talk in spinal nerve roots of dystrophic mice. *Ann Neurol* 1978;3(4):351–7.

87. Amir R, Devor M. Functional cross-excitation between afferent A- and C-neurons in dorsal root ganglia. *Neuroscience* 1999;95(1):189–95.
88. Rappaport ZH, Govrin-Lippmann R, Devor M. An electron-microscopic analysis of biopsy samples of the trigeminal root taken during microvascular decompressive surgery. *Stereotact Funct Neurosurg* 1997;68(1–4 Pt 1):182–6.
89. Lutz J, Thon N, Stahl R, et al. Microstructural alterations in trigeminal neuralgia determined by diffusion tensor imaging are independent of symptom duration, severity, and type of neurovascular conflict. *J Neurosurg* 2016;124(3):823–30.
90. Obermann M, Yoon MS, Ese D, et al. Impaired trigeminal nociceptive processing in patients with trigeminal neuralgia. *Neurology* 2007;69(9):835–41.
91. Peker S, Kurtkaya Ö, Üzün İ, et al. Microanatomy of the Central Myelin-Peripheral Myelin Transition Zone of the Trigeminal Nerve. *Neurosurgery* 2006;59(2):354–9.
92. Zhang C, Hu H, Das S, et al. Structural and Functional Brain Abnormalities in Trigeminal Neuralgia: A Systematic Review. *J Oral Facial Pain Headache* 2020; 34(3):222–35.
93. Tang Y, Wang M, Zheng T, et al. Grey matter volume alterations in trigeminal neuralgia: A systematic review and meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry* 2020;98: 109821.
94. Love S. Trigeminal neuralgia: Pathology and pathogenesis. *Brain* 2001;124(12): 2347–60.
95. Nurmikko TJ, Eldridge PR. Trigeminal neuralgia—pathophysiology, diagnosis and current treatment. *Br J Anaesth* 2001;87(1):117–32.
96. Maarbjerg S, Wolfram F, Gozalov A, et al. Association between neurovascular contact and clinical characteristics in classical trigeminal neuralgia: A prospective clinical study using 3.0 Tesla MRI. *Cephalalgia* 2015;35(12):1077–84.
97. Antonini G, di Pasquale A, Cruccu G, et al. Magnetic resonance imaging contribution for diagnosing symptomatic neurovascular contact in classical trigeminal neuralgia: a blinded case-control study and meta-analysis. *Pain* 2014;155(8): 1464–71.
98. Burchiel KJ. Trigeminal Neuralgia: New Evidence for Origins and Surgical Treatment. *Neurosurgery* 2016; 63:52–5.
99. Di Stefano G, Maarbjerg S, Truini A. Trigeminal neuralgia secondary to multiple sclerosis: from the clinical picture to the treatment options. *J Headache Pain* 2019;20(1):20.
100. Bendtsen L, Zakrzewska JM, Abbott J, et al. European Academy of Neurology guideline on trigeminal neuralgia. *Eur J Neurol* 2019;26(6):831–49.
101. Tatli M, Satıcı O, Kanpolat Y, et al. Various surgical modalities for trigeminal neuralgia: literature study of respective long-term outcomes. *Acta Neurochir (Wien)* 2008;150(3):243–55.
102. Kalkanis SN, Eskandar EN, Carter BS, et al. Microvascular decompression surgery in the United States, 1996 to 2000: mortality rates, morbidity rates, and the effects of hospital and surgeon volumes. *Neurosurgery* 2003;52(6):1251–61 [discussion: 1261-2].

103. Barker FG, Jannetta PJ, Bissonette DJ, et al. The Long-Term Outcome of Microvascular Decompression for Trigeminal Neuralgia. *New Engl J Med* 1996;334(17): 1077–84.
104. Cruccu G, Gronseth G, Alksne J, et al. AAN-EFNS guidelines on trigeminal neuralgia management. *Eur J Neurol* 2008;15(10):1013–28.
105. Gronseth G, Cruccu G, Alksne J, et al. Practice parameter: the diagnostic evaluation and treatment of trigeminal neuralgia (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the European Federation of Neurological Societies. *Neurology* 2008;71(15): 1183–90.
106. Burchiel KJ, Clarke H, Haglund M, et al. Long-term efficacy of microvascular decompression in trigeminal neuralgia. *J Neurosurg* 1988;69(1):35–8.
107. Jawahar A, Wadhwa R, Berk C, et al. Assessment of pain control, quality of life, and predictors of success after gamma knife surgery for the treatment of trigeminal neuralgia. *Neurosurg Focus* 2005;18(5): E8.
108. Loescher AR, Radatz M, Kemeny A, et al. Stereotactic radiosurgery for trigeminal neuralgia: outcomes and complications. *Br J Neurosurg* 2012;26(1):45–52.
109. Tuleasca C, Carron R, Resseguier N, et al. Patterns of pain-free response in 497 cases of classic trigeminal neuralgia treated with Gamma Knife surgery and followed up for least 1 year. *J Neurosurg* 2012;117(Suppl):181–8.
110. Pollock BE. Comparison of posterior fossa exploration and stereotactic radiosurgery in patients with previously nonsurgically treated idiopathic trigeminal neuralgia. *Neurosurg Focus* 2005;18(5): E6.
111. Sanchez-Mejia RO, Limbo M, Cheng JS, et al. Recurrent or refractory trigeminal neuralgia after microvascular decompression, radiofrequency ablation, or radiosurgery. *Neurosurg Focus* 2005;18(5): e12.
112. Allam AK, Sharma H, Larkin MB, Viswanathan A. Trigeminal Neuralgia: Diagnosis and Treatment. *Neurol Clin.* 2023 Feb;41(1):107-121. doi: 10.1016/j.ncl.2022.09.001. PMID: 36400550.
113. Araya EI, Claudino RF, Piovesan EJ, Chichorro JG. Trigeminal Neuralgia: Basic and Clinical Aspects. *Curr Neuropharmacol.* 2020;18(2):109-119. doi: 10.2174/1570159X17666191010094350. PMID: 31608834; PMCID: PMC7324879.
114. Bialer M. Chemical properties of antiepileptic drugs (AEDs). *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;64(10):887–895.
115. Brodie MJ, Dichter MA. Established antiepileptic drugs. *Seizure.* 1997;6(3):159–174.
116. American Psychiatric Association. Practice guideline for the treatment of patients with bipolar disorder (revision). *Am J Psychiatry.* 2002;159(4 Suppl):1–50.
117. Fisher RS, Cross JH, D’Souza C, et al. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia.* 2017;58(4):531–542.
118. Tolou-Ghamari Z, Zare M, Habibabadi JM, et al. A quick review of carbamazepine pharmacokinetics in epilepsy from 1953 to 2012. *J Res Med Sci.* 2013;18(Suppl 1): S81–S85.

119. Bertilsson L. Clinical pharmacokinetics of carbamazepine. *Clin Pharmacokinet.* 1978;3(2):128–143.
120. Sims PJ, Burton M, Shaw L, et al. *Applied pharmacokinetics & pharmacodynamics principles of therapeutic drug monitoring.* Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2006
121. Patsalos PN. *Antiepileptic drug interactions.* London: Springer London; 2013.
122. Korinthenberg R, Haug C, Hannak D. The metabolism of carbamazepine to CBZ-10,11-epoxide in children from the newborn age to adolescence. *Neuropediatrics.* 1994;25(04):214–216.
123. Bu H-Z, Kang P, Deese AJ, et al. Human in vitro glutathionyl and protein adducts of carbamazepine-10,11-epoxide, a stable and pharmacologically active metabolite of carbamazepine. *Drug Metab Dispos.* 2005;33(12):1920–1924.
124. Bertilsson L, Tomson T. Clinical pharmacokinetics and pharmacological effects of carbamazepine and carbamazepine-10,11-epoxide. *Clin Pharmacokinet.* 1986;11(3):177–198.
125. Pearce RE, Vakkalagadda GR, Leeder JS. Pathways of carbamazepine bioactivation in vitro I. Characterization of human cytochromes P450 responsible for the formation of 2- and 3-hydroxylated metabolites. *Drug Metab Dispos.* 2002;30(11):1170–1179.
126. Pearce RE, Uetrecht JP, Leeder JS. Pathways of carbamazepine bioactivation in vitro II. The role of human cytochrome P450 enzymes in the formation of 2-hydroxyiminostilbene. *Drug Metab Dispos.* 2005;33(12):1819–1826.
127. Pearce RE, Lu W, Wang Y, et al. Pathways of carbamazepine bioactivation in vitro. III. The role of human cytochrome P450 enzymes in the formation of 2,3-dihydroxycarbamazepine. *Drug Metab Dispos.* 2008;36(8):1637–1649.
128. Thorn CF, Leckband SG, Kelsoe J, et al. PharmGKB summary: carbamazepine pathway. *Pharmacogenet Genomics.* 2011;21(12):906–910.
129. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Carbamazepine>
130. Katusic S, Williams DB, Beard CM, Bergstralh EJ, Kurland LT. Epidemiology and clinical features of idiopathic trigeminal neuralgia and glossopharyngeal neuralgia: similarities and differences, Rochester, Minnesota, 1945-1984. *Neuroepidemiology* 1991; 10: 276-281.
131. Joffroy A, Levivier M, Massager N. Trigeminal neuralgia. Pathophysiology and treatment. *Acta Neurol Belg* 2001; 101: 20-25.
132. Obermann M. Treatment options in trigeminal neuralgia. *Ther Adv Neurol Disord* 2010; 3: 107-115.
133. Devor M, Wood I, Sharav Y, Zakrzewska JM. Trigeminal neuralgia during sleep. *Pain Pract* 2008; 8: 263-268.
134. Herranz JL, Armijo JA, Arteaga R. Clinical side effects of phenobarbital, primidone, phenytoin, carbamazepine, and valproate during monotherapy in children. *Epilepsia.* 1988;29(6):794–804.
135. Gayford JJ, Redpath TH. The side-effects of carbamazepine. *Proc R Soc Med.* 1969;62(6):615–616.
136. Perucca P, Gilliam FG. Adverse effects of antiepileptic drugs. *Lancet Neurol.* 2012;11(9):792–802.

137. Edwards IR, Aronson JK. Adverse drug reactions: definitions, diagnosis, and management. *Lancet* (London, England). 2000;356 (9237):1255–1259.
138. Perucca E, Meador KJ. Adverse effects of antiepileptic drugs. *Acta Neurol Scand*. 2005;112(s181):30–35.
139. Hartigan-Go KY, Wong JQ. Inclusion of therapeutic failures as adverse drug reactions. *Side effects of Drugs Annual*. Vol. 23: 1–592. Aronson JK, editor. Amsterdam (The Netherlands): Elsevier B.V; 2000, p. xxvii–xxxiii.
140. Fricke-Galindo I, Llerena A, Jung-Cook H, López-López M. Carbamazepine adverse drug reactions. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2018 Jul;11(7):705–718. doi: 10.1080/17512433.2018.1486707. Epub 2018 Jun 19. PMID: 29898616.
141. Al-Quliti KW. Update on neuropathic pain treatment for trigeminal neuralgia. The pharmacological and surgical options. *Neurosciences* (Riyadh). 2015 Apr;20(2):107–14. doi: 10.17712/nsj.2015.2.20140501. PMID: 25864062; PMCID: PMC4727618.
142. J.J. Lochhead, R.G. Thorne, Intranasal delivery of biologics to the central nervous system, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64 (2012) 614–628.
143. X.F. Liu, Clinical trials of intranasal delivery for treating neurological disorders - a critical review, *Expert Opin. Drug. Deliv.* 8 (2011) 1681–1690.
144. S.H. Jeong, J.H. Jang, Y.B. Lee, Drug delivery to the brain via the nasal route of administration: exploration of key targets and major consideration factors, *J. Pharm. Invest.* 53 (2023) 119–152.
145. T.P. Crowe, W.H. Hsu, Evaluation of Recent Intranasal Drug Delivery Systems to the Central Nervous System, *Pharmaceutics* 14 (2022).
146. M. Emirzeoglu, B. Sahin, M. Celebi, A. Uzun, S. Bilgic, H.O. Tontus, Estimation of nasal cavity and conchae volumes by stereological method, *Folia Morphol.* 71 (2012) 105–108.
147. J. Xi, Z. Zhang, X.A. Si, Improving intranasal delivery of neurological nanomedicine to the olfactory region using magnetophoretic guidance of microsphere carriers, *Int. J. Nanomed.* 10 (2015) 1211–1222.
148. A.G. Beule, Physiology and pathophysiology of respiratory mucosa of the nose and the paranasal sinuses, *GMS Curr Top Otorhinolaryngol, Head Neck Surg* 9 (2010) Doc07.
149. L.E. Kuek, R.J. Lee, First contact: the role of respiratory cilia in host-pathogen interactions in the airways, *Am. J. Physiol.-Lung Cell. Mol. Physiol.* 319 (2020) L603–L619.
150. N. Jones, The nose and paranasal sinuses physiology and anatomy, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 51 (2001) 5–19.
151. D.R. Bhumkar, H.M. Joshi, M. Sastry, V.B. Pokharkar, Chitosan reduced gold nanoparticles as novel carriers for transmucosal delivery of insulin, *Pharm. Res.* 24 (2007) 1415–1426.
152. M.A. Sarkar, Drug-Metabolism in the Nasal-Mucosa, *Pharm. Res.* 9 (1992) 1–9.
153. C. Crespo, T. Liberia, J.M. Blasco-Ibanez, J. Nacher, E. Varea, Cranial Pair I: The Olfactory Nerve, *Anat. Rec.* 302 (2019) 405–427.
154. A. Robert-Hazotte, P. Faure, F. Neiers, C. Potin, Y. Artur, G. Coureaud, J. M. Heydel, Nasal mucus glutathione transferase activity and impact on olfactory perception and neonatal behavior (vol 9, 3104, 2019), *Sci. Rep.* 9 (2019).

155. C. Ijichi, H. Wakabayashi, S. Sugiyama, K. Hayashi, Y. Ihara, H. Nishijima, K. Touhara, K. Kondo, Odorant metabolism of the olfactory cleft mucus in idiopathic olfactory impairment patients and healthy volunteers, *Int. Forum Allergy Rhinol.* 12 (2022) 293–301.
156. A. Nagashima, K. Touhara, Enzymatic Conversion of Odorants in Nasal Mucus Affects Olfactory Glomerular Activation Patterns and Odor Perception, *J. Neurosci.* 30 (2010) 16391–16398.
157. U. Werner, T. Kissel, Development of a Human Nasal Epithelial-Cell Culture Model and Its Suitability for Transport and Metabolism Studies under in-Vitro Conditions, *Pharm. Res.* 12 (1995) 565–571.
158. M. Ghadiri, P.M. Young, D. Traini, Strategies to Enhance Drug Absorption via Nasal and Pulmonary Routes, *Pharmaceutics* 11 (2019).
159. O.W. Williams, A. Sharafkhaneh, V. Kim, B.F. Dickey, C.M. Evans, Airway mucus - From production to secretion, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 34 (2006) 527–536.
160. G. Radicioni, R. Cao, J. Carpenter, A.A. Ford, T.T. Wang, Y. Li, M. Kesimer, The innate immune properties of airway mucosal surfaces are regulated by dynamic interactions between mucins and interacting proteins: the mucin interactome, *Mucosal Immunol.* 9 (2016) 1442–1454.
161. N. Sanders, C. Rudolph, K. Braeckmans, S.C. De Smedt, J. Demeester, Extracellular barriers in respiratory gene therapy, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 61 (2009) 115–127.
162. T. Simoes, N. Charro, J. Blonder, D. Faria, F.M. Couto, K.C. Chan, T. Waybright, H.J. Isaaq, T.D. Veenstra, D. Penque, Molecular profiling of the human nasal epithelium: A proteomics approach, *J. Proteomics* 75 (2011) 56–69.
163. B. Casado, Proteomics for nasal secretion analysis, *Curr. Allergy Asthma Rep.* 4 (2004) 224–229.
164. C. Persson, Plasma proteins defending infected, intact nasal mucosa, *J. Allergy Clin. Immunol.* 151 (2023) 1411–1412.
165. G. Radicioni, A. Ceppe, A.A. Ford, N.E. Alexis, R.G. Barr, E.R. Bleecker, S. A. Christenson, C.B. Cooper, M.K. Han, N.N. Hansel, A.T. Hastie, E.A. Hoffman, R. E. Kanner, F.J. Martinez, E. Ozkan, R. Paine, P.G. Woodruff, W.K. O’Neal, R. C. Boucher, M. Kesimer, Airway mucin MUC5AC and MUC5B concentrations and the initiation and progression of chronic obstructive pulmonary disease: an analysis of the SPIROMICS cohort, *Lancet Resp. Med.* 9 (2021) 1241–1254.
166. J. Carpenter, Y. Wang, R. Gupta, Y.L. Li, P. Haridass, D.B. Subramani, B. Reidel, L. Morton, C. Ridley, W.K. O’Neal, M.P. Buisine, C. Ehre, D.J. Thornton, M. Kesimer, Assembly and organization of the N-terminal region of mucin MUC5AC: Indications for structural and functional distinction from MUC5B, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 118 (2021).
167. Chen Y, Zhang C, Huang Y, Ma Y, Song Q, Chen H, Jiang G, Gao X. Intranasal drug delivery: The interaction between nanoparticles and the nose-to-brain pathway. *Adv Drug Deliv Rev.* 2024 Apr; 207:115196. doi: 10.1016/j.addr.2024.115196. Epub 2024 Feb 7. PMID: 38336090.
168. Bulut, M.O., Elİbüyük, U., 2017. Yengeç Kitininden Kitosan Üretimi. *Erzincan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(2), 213-219
169. Tokatlı, K., 2016. Karides Atıklarından Kitosan Üretim Koşullarının Optimizasyonu ve Kitosandan Elde Edilen Yenilebilir Film Kaplamanın Kirazların Raf Ömrüne

Etkisi. Gazi Osmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği, Doktora Tezi

170. Yildiz, P.O., Yangilar, F., 2014. Gıda Endüstrisinde Kitosanın Kullanımı. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 30(3), 198–206.
171. Borja-urzola, A., García-gómez, R., Flores, R., Durán, C., 2020. Chitosan from shrimp residues with a saturated solution of calcium chloride in metanol and water. Carbohydr. Res. 108116.
172. Bakshi, P.S., Selvakumar, D., Kadirvelu, K., Kumar, N.S., 2020. Chitosan as an environment friendly biomaterial – a review on recent modifications and applications. Int. J. Biol. Macromol. 150, 1072–1083.
173. Demir, N.A., Hefni, H.H.H., Abd-Elaal, A.A.A., Badr, E.A., Abou Kana, M.T.H., 2020. Advancement on modification of chitosan biopolymer and its potential applications. Int. J. Biol. Macromol. 152, 681–702.
174. Rinaudo, M., 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. Prog. Polym. Sci. 31, 603–632
175. A. Muxika, A. Etxabide, J. Uranga, P. Guerrero, K. de la Caba, Chitosan as a bioactive polymer: processing, properties and applications, Int. J. Biol. Macromol. 105 (2017) 1358–1368.
176. M. Friedman, V.K. Juneja, Review of antimicrobial and antioxidative activities of chitosans in food, J. Food Prot. 73 (9) (2010) 1737–1761.
177. Y. Qin, P.Li, Antimicrobial chitosan conjugates: current synthetic strategies and potential applications, Int. J. Mol. Sci. 21 (2) (2020) 499.
178. J. Venkatesan, S.-K. Kim, Chitosan composites for bone tissue engineering—an overview, Marine drugs 8 (8) (2010) 2252–2266.
179. R.C. Goy, D.d. Britto, O.B.G. Assis, A review of the antimicrobial activity of chitosan, Polímeros 19(2009)241–247.
180. A.F. Martins, S.P. Facchi, H.D. Follmann, A.G. Pereira, A.F. Rubira, E.C. Muniz, Antimicrobial activity of chitosan derivatives containing N-quaternized moieties in its backbone: a review, Int. J. Mol. Sci. 15 (11) (2014) 20800–20832.
181. A. Amato, L.M. Migneco, A. Martinelli, L. Pietrelli, A. Piozzi, I. Francolini, Antimicrobial activity of catechol functionalized-chitosan versus Staphylococcus epidermidis, Carbohydr. Polym. 179 (2018) 273–281.
182. W.Y. Cheah, P.-L. Show, I.-S. Ng, G.-Y. Lin, C.-Y. Chiu, Y.-K. Chang, Antibacterial activity of quaternized chitosan modified nanofiber membrane, Int. J. Biol. Macromol. 126 (2019) 569–577.
183. L. Wei, W. Tan, G. Wang, Q. Li, F. Dong, Z. Guo, The antioxidant and antifungal activity of chitosan derivatives bearing Schiff bases and quaternary ammonium salts, Carbohydr. Polym. 226 (2019), 115256.
184. M.Z. Karagozlu, S.-K. Kim, Anticancer effects of chitin and chitosan derivatives, Advances in Food and Nutrition Research, Elsevier 2014, pp. 215–225.
185. D.-H. Ngo, S.-K. Kim, Antioxidant effects of chitin, chitosan, and their derivatives, Advances in Food and Nutrition Research, Elsevier 2014, pp. 15–31.
186. S. Bagheri-Khoulenjani, S.M. Taghizadeh, H. Mirzadeh, An investigation on the short-term biodegradability of chitosan with various molecular weights and degrees of deacetylation, Carbohydr. Polym. 78 (4) (2009) 773–778.
187. S. Peers, A. Montembault, C. Ladavière, Chitosan hydrogels for sustained drug delivery, J. Control. Release 326 (2020) 150–163.
188. L. Das, P. Das, A. Bhowal, C. Bhattacharjee, Synthesis of hybrid hydrogel nanopolymer composite using graphene oxide, chitosan and PVA and its application

- in waste water treatment, *Environmental Technology & Innovation* 18 (2020), 100664.
189. M.M. Islam, M. Shahruzzaman, S. Biswas, M. Nurus Sakib, T.U. Rashid, Chitosan based bioactive materials in tissue engineering applications—a review, *Bioactive Materials* 5 (1) (2020) 164–183.
 190. S.M. Ahsan, M. Thomas, K.K. Reddy, S.G. Sooraparaju, A. Asthana, I. Bhatnagar, Chitosan as biomaterial in drug delivery and tissue engineering, *Int. J. Biol. Macromol.* 110 (2018) 97–109.
 191. N.A. Negm, H.H.H. Hefni, A.A.A. Abd-Elaal, E.A. Badr, M.T.H. Abou Kana, Advancement on modification of chitosan biopolymer and its potential applications, *Int. J. Biol. Macromol.* 152(2020)681–702.
 192. B.E. Benediktsdóttir, Ó. Baldursson, M. Másson, Challenges in evaluation of chitosan and trimethylated chitosan (TMC) as mucosal permeation enhancers: from synthesis to in vitro application, *J. Control. Release* 173 (2014) 18–31.
 193. Ö.V. Rúnarsson, Chitosan-natural Antioxidant Conjugates: Synthesis, Antimicrobial and Antioxidant Properties, PhD University of Iceland, 2009.
 194. A.K. Singla, M. Chawla, Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects—an update, *J. Pharm. Pharmacol.* 53 (8) (2001) 1047–1067.
 195. M.N.R. Kumar, A review of chitin and chitosan applications, *React. Funct. Polym.* 46 (1) (2000) 1–27.
 196. E.I. Rabea, M.E.-T. Badawy, C.V. Stevens, G. Smagghe, W. Steurbaut, Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action, *Biomacromolecules* 4 (6) (2003) 1457–1465.
 197. H.M. Sahariah, Antimicrobial properties of chitosan and chitosan derivatives, in: S.K. Kim (Ed.), *Marine Glycobiology: Principles and Applications*, CRC Press 2017, pp. 345–369.
 198. M. Hosseinnajad, S.M. Jafari, Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan, *Int. J. Biol. Macromol.* 85 (2016) 467–475.
 199. M. Kong, X.G. Chen, K. Xing, H.J. Park, Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review, *Int. J. Food Microbiol.* 144 (1) (2010) 51–63.
 200. H.K. No, N. Young Park, S. Ho Lee, S.P. Meyers, Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights, *Int. J. Food Microbiol.* 74 (1) (2002) 65–72.
 201. Y.-C. Chung, Y.-P. Su, C.-C. Chen, G. Jia, H.-I. Wang, J.G. Wu, J.-G. Lin, Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall, *Acta Pharmacol. Sin.* 25 (7) (2004) 932–936.
 202. Y. Andres, L. Giraud, C. Gerente, P. Le Cloirec, Antibacterial effects of chitosan powder: mechanisms of action, *Environ. Technol.* 28 (12) (2007) 1357–1363.
 203. G.-J. Tsai, S.-L. Zhang, P.-L. Shieh, Antimicrobial activity of a low-molecular-weight chitosan obtained from cellulase digestion of chitosan, *J. Food Prot.* 67 (2) (2004) 396–398.
 204. L.-Y. Zheng, J.-F. Zhu, Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights, *Carbohydr. Polym.* 54 (4) (2003) 527–530.
 205. R.-C. Chien, M.-T. Yen, J.-L. Mau, Antimicrobial and antitumor activities of chitosan from shiitake stipes, compared to commercial chitosan from crab shells, *Carbohydr. Polym.* 138 (2016) 259–264.
 206. F. Khoushab, M. Yamabhai, Chitin research revisited, *Marine Drugs* 8 (7) (2010) 1988–2012.

207. E.M. El-Diasty, Z.E. Nesreen, A. Hoda, A. Ideia, Using of chitosan as antifungal agent in kariesh cheese, *New York Science Journal* 5 (9) (2012) 5–10.
208. R. Muzzarelli, C. Muzzarelli, Chitosan chemistry: relevance to the biomedical sciences, *Polysaccharides I*, Springer 2005, pp. 151–209.
209. I. Aranaz, M. Mengibar, R. Harris, I. Paños, B. Miralles, N. Acosta, G. Galed, Á. Heras, Functional characterization of chitin and chitosan, *Curr. Chem. Biol.* 3 (2) (2009) 203–230.
210. S. Sinha, S. Chand, P. Tripathi, Microbial degradation of chitin waste for production of chitosanase and food related bioactive compounds, *Appl. Biochem. Microbiol.* 50 (2) (2014) 125–133.
211. Y. Qin, P. Li, Z. Guo, Cationic chitosan derivatives as potential antifungals: a review of structural optimization and applications, *Carbohydr. Polym.* 236 (2020), 116002.
212. R. Li, Z. Guo, P. Jiang, Synthesis, characterization, and antifungal activity of novel quaternary chitosan derivatives, *Carbohydr. Res.* 345 (13) (2010) 1896–1900.
213. W. Tan, J. Zhang, F. Luan, L. Wei, Y. Chen, F. Dong, Q. Li, Z. Guo, Design, synthesis of novel chitosan derivatives bearing quaternary phosphonium salts and evaluation of antifungal activity, *Int. J. Biol. Macromol.* 102 (2017) 704–711.
214. N.A. Mohamed, N.A. Abd El-Ghany, Novel aminohydrazide cross-linked chitosan filled with multi-walled carbon nanotubes as antimicrobial agents, *Int. J. Biol. Macromol.* 115 (2018) 651–662.
215. A.M. Dias, M.P. dos Santos Cabrera, A.M.F. Lima, S.R. Taboga, P.S.L. Vilamaior, M.J. Tiera, V.A. de Oliveira Tiera, Insights on the antifungal activity of amphiphilic derivatives of diethylaminoethyl chitosan against *Aspergillus flavus*, *Carbohydr. Polym.* 196 (2018) 433–444.
216. Lee, K.Y.; Ha, W.S.; Park, W.H. Blood Compatibility and Biodegradability of Partially N-Acylated Chitosan Derivatives. *Biomaterials* 1995, 16, 1211–1216.
217. Kamiyama, K.; Onishi, H.; Machida, Y. Biodisposition Characteristics of N-Succinyl-Chitosan and Glycol-Chitosan in Normal and Tumor-Bearing Mice. *Biol. Pharm. Bull.* 1999, 22, 179–186.
218. Barclay, T.G.; Day, C.M.; Petrovsky, N.; Garg, S. Review of Polysaccharide Particle-Based Functional Drug Delivery. *Carbohydr. Polym.* 2019, 221, 94–112.
219. Ahsan, S.M.; Thomas, M.; Reddy, K.K.; Sooraparaju, S.G.; Asthana, A.; Bhatnagar, I. Chitosan as Biomaterial in Drug Delivery and Tissue Engineering. *Int. J. Biol. Macromol.* 2018, 110, 97–109.
220. Kumar, A.; Vimal, A.; Kumar, A. Why Chitosan? From Properties to Perspective of Mucosal Drug Delivery. *Int. J. Biol. Macromol.* 2016, 91, 615–622.
221. Elgadir, M.A.; Uddin, M.S.; Ferdosh, S.; Adam, A.; Chowdhury, A.J.K.; Sarker, M.Z.I. Impact of Chitosan Composites and Chitosan Nanoparticle Composites on Various Drug Delivery Systems: A Review. *J. Food Drug Anal.* 2015, 23, 619–629.
222. Lim, C.; Hwang, D.S.; Lee, D.W. Intermolecular Interactions of Chitosan: Degree of Acetylation and Molecular Weight. *Carbohydr. Polym.* 2021, 259, 117782.
223. Lim, C.; Lee, D.W.; Israelachvili, J.N.; Jho, Y.; Hwang, D.S. Contact Time- and pH-Dependent Adhesion and Cohesion of Low Molecular Weight Chitosan Coated Surfaces. *Carbohydr. Polym.* 2015, 117, 887–894.
224. Shanmuganathan, R.; Edison, T.N.J.I.; LewisOscar, F.; Kumar, P.; Shanmugam, S.; Pugazhendhi, A. Chitosan Nanopolymers: An Overview of Drug Delivery against Cancer. *Int. J. Biol. Macromol.* 2019, 130, 727–736.
225. Felt, O.; Buri, P.; Gurny, R. Chitosan: A Unique Polysaccharide for Drug Delivery. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 1998, 24, 979–993.

226. Ahmed, T.; Aljaeid, B. Preparation, Characterization, and Potential Application of Chitosan, Chitosan Derivatives, and Chitosan Metal Nanoparticles in Pharmaceutical Drug Delivery. *Drug Des. Dev. Ther.* 2016, 10, 483–507.
227. Ładniak, A.; Jurak, M.; Wiśniewski, A.E. Physicochemical characteristics of chitosan-TiO₂ biomaterial. 2. Wettability and biocompatibility. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 2021, 630, 127546.
228. Ładniak, A.; Jurak, M.; Wiśniewski, A.E. Langmuir Monolayer Study of Phospholipid DPPC on the Titanium Dioxide–Chitosan Hyaluronic Acid Subphases. *Adsorption* 2019, 25, 469–476.
229. Ładniak, A.; Jurak, M.; Wiśniewski, A.E. The Effect of Chitosan/TiO₂/Hyaluronic Acid Subphase on the Behaviour of 1,2-DioleoylSn-Glycero-3-Phosphocholine Membrane. *Biomater. Adv.* 2022, 138, 212934.
230. Mikušová, V.; Mikuš, P. Advances in Chitosan-Based Nanoparticles for Drug Delivery. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 9652.
231. Xie, J.; Lee, S.; Chen, X. Nanoparticle-Based Theranostic Agents. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2010, 62, 1064–1079.
232. Rampino, A.; Borgogna, M.; Blasi, P.; Bellich, B.; Cesàro, A. Chitosan Nanoparticles: Preparation, Size Evolution and Stability. *Int. J. Pharm.* 2013, 455, 219–228.
233. Rudramurthy, G.; Swamy, M.; Sinniah, U.; Ghasemzadeh, A. Nanoparticles: Alternatives against Drug-Resistant Pathogenic Microbes. *Molecules* 2016, 21, 836.
234. Nagpal, K.; Singh, S.K.; Mishra, D.N. Chitosan Nanoparticles: A Promising System in Novel Drug Delivery. *Chem. Pharm. Bull.* 2010, 58, 1423–1430.
235. V.R. Sinha, A.K. Singla, S. Wadhawan, R. Kaushik, R. Kumria, K. Bansal, S. Dhawan, Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs, *Int. J. Pharm.* 274 (1) (2004) 1–33.
236. A.K. Azad, N. Sermsintham, S. Chandkrachang, W.F. Stevens, Chitosan membrane as a wound-healing dressing: characterization and clinical application, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials* 69 (2) (2004) 216–222.
237. Y.-B. Wu, S.-H. Yu, F.-L. Mi, C.-W. Wu, S.-S. Shyu, C.-K. Peng, A.-C. Chao, Preparation and characterization on mechanical and antibacterial properties of chitosan/cellulose blends, *Carbohydr. Polym.* 57 (4) (2004) 435–440.
238. L. Fan, Y. Du, B. Zhang, J. Yang, J. Zhou, J.F. Kennedy, Preparation and properties of alginate/carboxymethyl chitosan blend fibers, *Carbohydr. Polym.* 65 (4) (2006) 447–452.
239. J.-P. Chen, G.-Y. Chang, J.-K. Chen, Electrospun collagen/chitosan nanofibrous membrane as wound dressing, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 313–314 (2008) 183–188.
240. Y. Ma, L. Xin, H. Tan, M. Fan, J. Li, Y. Jia, Z. Ling, Y. Chen, X. Hu, Chitosan membrane dressings toughened by glycerol to load antibacterial drugs for wound healing, *Mater. Sci. Eng. C* 81 (2017) 522–531.
241. S.S. Behera, U. Das, A. Kumar, A. Bissoyi, A.K. Singh, Chitosan/TiO₂ composite membrane improves proliferation and survival of L929 fibroblast cells: application in wound dressing and skin regeneration, *Int. J. Biol. Macromol.* 98 (2017) 329–340.
242. S. Ghannam, H. Korayem, L. Farghaly, S. Hosny, The effect of chitosan nanosilver dressing versus mesenchymal stem cells on wound healing, *Journal of African Association of Physiological, Sciences* 6 (1) (2018) 23–31.

243. E. Denkbaş, B. E. Öztürk, Özdem, C. Agalar, Norfloxacin-loaded chitosan sponges as wound dressing material, *J. Biomater. Appl.* 18 (4) (2004) 291–303.
244. C.-M. Deng, L.-Z. He, M. Zhao, D. Yang, Y. Liu, Biological properties of the chitosangelatin sponge wound dressing, *Carbohydr. Polym.* 69 (3) (2007) 583–589.
245. S.B. Qasim, S. Najeeb, R.M. Delaine-Smith, A. Rawlinson, I. Ur Rehman, Potential of electrospun chitosan fibers as a surface layer in functionally graded GTR membrane for periodontal regeneration, *Dent. Mater.* 33 (1) (2017) 71–83.
246. Şener Gürsoy, R. (2021). Kitosan Aşı Kopolimerlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu (Yüksek Lisans Tezi). Tez Danışmanı: Prof. Dr. Uğursoy Olgun. Kimya Anabilim Dalı, Fizikokimya Bilim Dalı. Eylül 2021.
247. Jafernig K, Ładniak A, Blicharska E, Czarnek K, Ekiert H, Wiącek AE, Szopa A. Chitosan-Based Nanoparticles as Effective Drug Delivery Systems-A review. *Molecules*. 2023 Feb 18;28(4):1963. doi: 10.3390/molecules28041963. PMID: 36838951; PMCID: PMC9959713.
248. Abd El-Hack ME, El-Saadony MT, Shafi ME, Zabermawi NM, Arif M, Batiha GE, Khafaga AF, Abd El-Hakim YM, Al-Sagheer AA. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. *Int J Biol Macromol*. 2020 Dec 1; 164:2726-2744. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.08.153. Epub 2020 Aug 22. PMID: 32841671.
249. Jonassen, H., A.-L. Kjørnsen, and M. Hiorth, Effects of ionic strength on the size and compactness of chitosan nanoparticles. *Colloid and Polymer Science*, 2012. 290: p. 919-929.
250. Sullivan, D.J., et al., Synthesis of monodisperse chitosan nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 2018. 83: p. 355-364.
251. Dołęga, A., et al., Study on the thermal performance of carbamazepine at different temperatures, pressures and atmosphere conditions. *Thermochimica Acta*, 2021. 703: p. 178990.
252. Pinto, M.A.L., et al., Thermoanalytical studies of carbamazepine: hydration/dehydration, thermal decomposition, and solid phase transitions. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2014. 50: p. 877-884.
253. Liu, C., et al., Morphology and characteristics of starch nanoparticles self-assembled via a rapid ultrasonication method for peppermint oil encapsulation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2017. 65(38): p. 8363-8373.
254. da Fonseca Antunes, A.B., et al., Gelucire 44/14 based immediate release formulations for poorly water-soluble drugs. *Drug development and industrial pharmacy*, 2013. 39(5): p. 791-798.
255. Ding, W., You, Z., Shen, S., Yang, J., Lim, G., Doheny, J. T., Chen, L., Zhu, S., & Mao, J. (2017). An Improved Rodent Model of Trigeminal Neuropathic Pain by Unilateral Chronic Constriction Injury of Distal Infraorbital Nerve. *The journal of pain*, 18(8), 899–907. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2017.02.427>
256. Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*. 1988; 33:87–107. [PubMed: 2837713]
257. Barakat, N. S., Omar, S. A., & Ahmed, A. A. (2006). Carbamazepine uptake into rat brain following intra-olfactory transport. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 58(1), 63–72. <https://doi.org/10.1211/jpp.58.1.0008>
258. Wilfrid, J., Dixon, Alexander, M., Mood. (1948). A Method for Obtaining and Analyzing Sensitivity Data. *Journal of the American Statistical Association*, 43(241):109-126. doi: 10.1080/01621459.1948.10483254

259. Chaplan, S. R., Bach, F. W., Pogrel, J. W., Chung, J. M., & Yaksh, T. L. (1994). Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *Journal of neuroscience methods*, 53(1), 55–63. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(94\)90144-9](https://doi.org/10.1016/0165-0270(94)90144-9)
260. Mei XP, Wang W, Wang W, et al. Combining ketamine with astrocytic inhibitor as a potential analgesic strategy for neuropathic pain ketamine, astrocytic inhibitor and pain. *Mol Pain*. 2010; 6:50. Published 2010 Sep 6. doi:10.1186/1744-8069-6-50
261. Harvey, L.O. Efficient estimation of sensory thresholds. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers* 18, 623–632 (1986). <https://doi.org/10.3758/BF03201438>
262. Milligan, E. D., Twining, C., Chacur, M., Biedenkapp, J., O'Connor, K., Poole, S., Tracey, K., Martin, D., Maier, S. F., & Watkins, L. R. (2003). Spinal glia and proinflammatory cytokines mediate mirror-image neuropathic pain in rats. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(3), 1026–1040. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-03-01026.2003>
263. Shahid, N., et al., Synthesis and evaluation of chitosan based controlled release nanoparticles for the delivery of ticagrelor. *Designed Monomers and Polymers*, 2022. 25(1): p. 55-63.
264. Jain, A., et al., Docetaxel loaded chitosan nanoparticles: formulation, characterization and cytotoxicity studies. *International journal of biological macromolecules*, 2014. 69: p. 546-553.
265. Kumar, S. and J. Koh, Physiochemical, optical and biological activity of chitosan-chromone derivative for biomedical applications. *International journal of molecular sciences*, 2012. 13(5): p. 6102-6116.
266. Krstić, M., et al., Application of a mixture experimental design in the optimization of the formulation of solid self-emulsifying drug delivery systems containing carbamazepine. *Lat. Am. J. Pharm*, 2015. 34(5): p. 885-94.
267. Tıǧlı Aydın, R.S. and M. Pulat, 5-Fluorouracil encapsulated chitosan nanoparticles for pH-stimulated drug delivery: Evaluation of controlled release kinetics. *Journal of Nanomaterials*, 2012. 2012(1): p. 313961.
268. Owen A, Pirmohamed M, Tetley JN, Morgan P, Chadwick D, Park BK. Carbamazepine is not a substrate for P-glycoprotein. *Br J Clin Pharmacol*. 2001;51(4):345-349. doi:10.1046/j.1365-2125.2001. 01359.x
269. Vos BP, Strassman AM, Maciewicz RJ. Behavioral evidence of trigeminal neuropathic pain following chronic constriction injury to the rat's infraorbital nerve. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. 1994; 14:2708–2723
270. Henry MA, Fairchild DD, Patil MJ, Hanania T, Hain HS, Davis SF, Malekiani SA, Hu A, Sucholeiki R, Nix D, Sucholeiki I. Effect of a Novel, Orally Active Matrix Metalloproteinase-2 and -9 Inhibitor in Spinal and Trigeminal Rat Models of Neuropathic Pain. *Journal of oral & facial pain and headache*. 2015; 29:286–296.