

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA NERVUS İSCHİADİCUS HASARINDA KEMİK
İLİĞİ VE DİŞ PULPASI KAYNAKLI MEZENKİMAL KÖK
HÜCRE UYGULAMASI**

Elgin Orçum UZUNLU

DOKTORA TEZİ

VETERİNER CERRAHİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Zeki OĞURTAN

KONYA-2021

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA NERVUS İSCHİADİCUS HASARINDA KEMİK
İLİĞİ VE DİŞ PULPASI KAYNAKLI MEZENKİMAL KÖK
HÜCRE UYGULAMASI**

Elgin Orçum UZUNLU

DOKTORA TEZİ

VETERİNER CERRAHİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Zeki OĞURTAN

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü
tarafından 19102013 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2021

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Elgin Orçum UZUNLU tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Veteriner Cerrahi Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

[Redacted Signature]

Danışman:

[Redacted Signature]

Üye:

[Redacted Signature]

Üye:

[Redacted Signature]

Üye:

[Redacted Signature]

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Çalışmamızın amacı; ratlarda deneysel olarak oluşturulan periferik sinir yaralanması modelinde rat kemik iliği ve diş pulpası kaynaklı mezenkimal kök hücre uygulamasının tek başına ve kombine kullanımının etkilerini belirleyerek sinir yaralanmasına bağlı morbiditeyi en aza indirmek, veteriner hekimlik ve beşerî hekimlikte klinik çalışmalara yön vermektir.

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyelerinin gözetiminde hazırlanmış olup, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Cerrahi doktora programı bitirme tezi olarak sunulmuştur.

Doktora eğitimim ve tez çalışmam sırasında bilgi ve görüşleriyle yanımda olan, yönlendiren, öğrenciliğim sırasında ve tez çalışmam süresince ilgi ve yardımlarıyla bana destek olan, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım doktora danışmanın sayın Prof. Dr. Zeki OĞRUTAN'a,

Ayrıca bana her zaman güvenen, maddi ve manevi desteğini üzerimden hiç eksik etmeyen sevgili annem Türkan UZUNLU'ya, babam Atila UZUNLU'ya ve kardeşim Erdi Orkun UZUNLU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma; S.Ü. Veteriner Fakültesi, Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi Etik Kurulunun 2015/42 karar sayısı ile etik kurul yönergesi ilkelerince uygulanmıştır ve Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından (Proje No: 19102013) desteklenmiştir.

Elgin Orçum UZUNLU
KONYA

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
1.1. Sinir Sistemi.....	1
1.1.1. Nöronlar	2
1.1.2. Aksonal Madde Taşınması (Transport)	4
1.1.3. Nörogliya (Gliya) Hücreleri.....	4
1.1.4. Merkezi Sinir Sistemi	8
1.1.5. Periferik Sinir Sistemi.....	8
1.1.6. Periferik Sinir Yaralanması	17
1.1.7. Ayak İzi/Yürüyüş Yolu Analizi.....	19
1.2. Kök Hücre ve Özellikleri.....	19
1.2.1. Farklılaşma (Plastisite)	22
1.2.2. Köklülük (Stemness).....	23
1.2.3. Kök Hücresinin Kaynağı Olan Dokuya Göre Sınıflama	24
1.2.4. Kök Hücre Çeşitleri	25
1.2.5. Mezenkimal Kök Hücre Kaynağı Olarak Kemik İliği ve Dental Pulpa ...	29
2. GEREÇ ve YÖNTEM.....	31
2.1. Deney Gruplarının Belirlenmesi.....	31
2.2. Kemik İliği Kökenli Mezenkimal Kök Hücre Elde Edilmesi.....	33
2.3. Dental Pulpa Kökenli Mezenkimal Kök Hücre Elde Edilmesi	35
2.4. Nervus İshiaducus'da Hasar Oluşturulması ve Kök Hücre Transplantasyonu.	37
2.5. Değerlendirme Yöntemleri	40
2.5.2. Siyatik Sinir Fonksiyon İndeksinin Hesaplanması	42
2.5.3. İstatistiksel analiz.....	43
3. BULGULAR	44
3.1. Yüzey belirteçleri sonuçları	44
3.2. Genel Değerlendirme Bulguları.....	44
3.3. Genel Histomorfolojik Değerlendirme Bulguları	45
3.4. İmmunohistokimyasal Değerlendirme Bulguları.....	51
3.5. Yürüme Analizi ve Siyatik Fonksiyon İndeksi Bulguları.....	53
4. TARTIŞMA	70
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	84
6. KAYNAKLAR	85
7. EKLER.....	91
EK A: Etik Kurul Kararı.....	91
EK-B: Turnitin Raporu	92

8. ÖZGEÇMİŞ.....	96
-------------------------	-----------



SİMGELER VE KISALTMALAR

AP Aksiyon Potansiyeli

Ark Arkadaşları

BDNF Beyin Kaynaklı Natriüretik Faktör

Ca Kalsiyum

CD Cluster of differentiation

CFU-F Fibroblast Kolonisi Oluşturan Birim

Cl Klor

cm Santimetre

CO₂ Karbondioksit

DMEM Dubecco's Modified Eagle Medium

DMSO Dimethyl Sulfoxide

DNA Deoksiribo Nükleik Asit

D-PBS Dulbecco's Phosphate Buffered Saline

DP-MKH Dental Pulpa Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre

Drg Dorsal Kök Gangliyonlar

EGF Epidermal Büyüme Faktörü (Epidermal Growth Factor)

Egr2 Early Growth Response Protein 2/ Erken Büyüme Yanıt Proteinleri

EITS Experimental Intermediary Toe Spread

EKH Embriyon Kök Hücreleri

EPL Experimental Print Length,

ETS Experimental Toe Spread

FBS Fetal Sığır Serumu

GDNF Gliya Hücre Nörotropik Faktör

İpPK/ iPSCs Uyarılmış Pluripotent Kök Hücre

K Potasyum

Kİ-MKH Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre

K-MEM Kültür Modified Eagle Medium

K-RPMI Kültür Roswell Park Memorial Institute 1640

LTMR düşük eşikli mekanik alıcılar

MEM alfa Modified Eagle Medium

MKH Mezenkimal Kök Hücreler

Mm Milimetre

MSS Merkezi Sinir Sistemi

Na Sodyum
NF Nörofilament
NGF Nöral Growth Factor, Sinir Büyüme Faktörü
NGF Sinir Büyütücü (Nerve Growth) Faktör
NITS Intermediary Toe Spread
NKH Nöral Kök Hücre
NPL Normal Print Lenght
Nrg Neuregulin
NT-3 Nötrofin-3
NT-4 Nötrofin-4
NTS Normal Toe Spread
Oct6 Octamer Transkripsiyon Faktörü
PBS Fosfat Buffer Saline
PGA Poliglikolik Asit
PSS Periferik Sinir Sistemi
RPMI 1640 Roswell Park Memorial Institute 1640
S-100 Schwann hücre işaretleyicisi
SFI Siyatik Fonksiyon İndeksi
TrkA Tropomiyozin reseptör kinaz A
TrkB Tropomiyozin reseptör kinaz B
 α Alfa
 μ m Mikrometre

ÇİZELGE, GRAFİK VE ŞEKİLLER

Birinci Bölüm'ün çizelge, grafik ve şekilleri

Çizelge 1.1. Seddon ve Sunderland sınıflandırılmalarının karşılaştırılması.	18
Çizelge 1.2. Kökenlerine, plastisite etkinliklerine veya plastisite yönlerine göre kök hücre türleri.	23
Çizelge 1.3. Yetişkin kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin elde edildiği doku ve organlar.....	28
Şekil 1.1. Sinir sisteminin anatomik organizasyonuna genel bakış.	1
Şekil 1.2. Tipik çok kutuplu nöron.....	3
Şekil 1.3. Nöron türleri.....	4
Şekil 1.4. Glial hücreler ve görevleri.	6
Şekil 1.5. Bir memeli periferik sinirin enine kesiti.	12
Şekil 1.6. Seddon sınıflaması.	18
Şekil 1.7. Kök hücre bölünme çeşitlerini gösterir şema.....	20

İkinci Bölüm'ün çizelge, grafik ve şekilleri

Çizelge 2.1. Deney grupları.	32
Şekil 2.1. Ratların kemik iliğinden mezenkimal kök hücre elde edilme aşamaları. ..	34
Şekil 2.2. Yıldız ile gösterilen flask yüzeyine adezyon halindeki Mezenkimal kök hücreler	35
Şekil 2.3. Ratları dişlerinden dental pulpa kaynaklı mezenkimal kök hücre elde edilme işlemi.	37
Şekil 2.4. Sinir hasarı oluşturulması ve kök hücre transplantasyonu aşamaları.....	39
Şekil 2.5. Nokta sayım cetveli.....	41
Şekil 2.6. SFI için ratların yürütülmesi.....	42
Şekil 2.7. Siyatik sinir fonksiyonel indeksi ölçümü için ayak tabanlarının izleri.....	43

Üçüncü Bölüm'ün çizelge, grafik ve şekilleri

Çizelge 3.1. Histomorfolojik değerlendirme sonuçları.	49
Çizelge 3.2. İmmunohistokimya S100 boyama sonuçları.....	53
Çizelge 3.3. Siyatik Fonksiyon İndeksi (SFI) bulguları.....	53
Şekil 3.1. CD44(+), CD29(+) ve CD45(-) yüzey belirteçlerine ait flow-sitometri sonuçları.	44
Şekil 3.2. Sinir teli boyuna kesit.	46
Şekil 3.3. Sinir teli boyuna kesit.	47
Şekil 3.4. Sinir teli boyuna kesit..	47

Şekil 3.5. Sinir teli boyuna kesit..	47
Şekil 3.6. Sinir teli boyuna kesit.	48
Şekil 3.7. Gruplara ait sinir teli kesitleri.	52
Şekil 3.8. Tek uygulama yapılan 1., 3., 5. ve 7. grupların haftalık olarak SFİ sonuçları grafiği.	56
Şekil 3.9. Grup 1 Sham tek uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.	57
Şekil 3.10. Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.	58
Şekil 3.11. Grup 5 DP-MKH tek uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.	59
Şekil 3.12. Grup 7 Kİ+DP-MKH tek uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.	60
Şekil 3.13. Çift uygulama yapılan 2., 4., 6. ve 8. grupların haftalık SFİ sonuçları grafiği.	62
Şekil 3.14. Grup 2 Sham çift uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.	63
Şekil 3.15. Grup 4 Kİ-MKH çift uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.	63
Şekil 3.16. Grup 6 DP-MKH çift uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.	64
Şekil 3.17. Grup 8 Kİ+DP-MKH çift uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.	65
Şekil 3.18. Grup 1 Sham tek uygulama ve 2. Grup Sham çift uygulama 1., 2., 3., ve 4. hafta SFİ sonuçları karşılaştırma grafiği.	66
Şekil 3. 19. Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama ve 4. Grup Kİ-MKH çift uygulama 1., 2., 3., ve 4. hafta SFİ sonuçları karşılaştırma grafiği.	67
Şekil 3.20. Grup 5 DP-MKH tek uygulama birinci hafta ve 6. Hafta DP-MKH çift uygulama 1., 2., 3., ve 4. hafta SFİ sonuçları karşılaştırma grafiği.	68
Şekil 3.21. Grup 7 Kİ+DP-MKH tek uygulama birinci hafta ve 8. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama 1., 2., 3., ve 4. hafta SFİ sonuçları karşılaştırma grafiği.	69

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ratlarda Nervus İschadicus Hasarında Kemik İliği Ve Diş Pulpası Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre Uygulaması

Elgin Orçum UZUNLU

Veteriner Cerrahi Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ/ KONYA 2021

Çalışmamızın amacı; ratlarda deneysel olarak oluşturulan periferik sinir yaralanması modelinde rat kemik iliği (Kİ) ve diş pulpası (DP) kaynaklı mezenkimal kök hücre (MKH) uygulamasının tek başına ve kombine kullanımın etkilerini belirleyerek sinir yaralanmasına bağlı morbiditeyi en aza indirmek ve klinik çalışmalara yön vermektir.

Çalışmanın materyalini 76 adet, 250-300 g ağırlığında 12-24 haftalık erkek Wistar Albino ratlar oluşturmuştur. Ratların 4 adedi dental pulpalarından ve kemik iliklerinden mezenkimal kök hücre edilmesi için kullanılmış, 72 adedi ise deney gruplarını oluşturmak için kullanılmıştır.

Çalışmamızın deney gruplarını oluşturmak için kullanılan 72 adet rat rastgele I. Grup Sham tek uygulama, II. Grup Sham çift uygulama, III. Grup Kİ-MKH tek uygulama, IV. Grup Kİ-MKH çift uygulama, V. Grup DP-MKH tek uygulama, VI. Grup DP-MKH çift uygulama, VII. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama, VIII. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama ve IX. Grup Kontrol olmak üzere 8'li 9 grup oluşturacak şekilde ayrılmıştır. Ratların sinir hasarı verilmiş sol ayakları pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

H&E boyama ile sinirin perinöryum, fasikül organizasyonu, vasküler yoğunluk, ödem, inflamatuvar hücre varlığı nekroz-dejenerasyon ve kanama varlığına ışık mikroskop altında bakılmıştır.

S100 immunohistokimsiyal boyama da hücre yoğunluğu kontrol grubunda %100 iken III. Grup Kİ-MKH tek uygulama, IV. Grup Kİ-MKH çift uygulama, V. Grup DP-MKH tek uygulama, VI. Grup DP-MKH çift uygulama, VII. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama ve VIII. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama gruplarında %70 in üzerinde olduğu, I.Grup Sham tek uygulama ve II. Grup Sham çift uygulama da ise %10 un altında olduğu bulunmuştur.

Siyatik Fonksiyon İndeksi gruplar arasında incelendiğinde I. Grup Sham tek uygulama ve II. Grup Sham çift uygulama da istatistiksel olarak iyileşmenin olmadığı, III. Grup Kİ-MKH tek uygulama, V. Grup DP-MKH tek uygulama ve VII. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama gruplarında ve IV. Grup Kİ-MKH çift uygulama, VI. Grup DP-MKH çift uygulama ve VIII. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama gruplarında iyileşmenin ilk haftadan başladığı, ancak, IV. Grup Kİ-MKH çift uygulama, VI. Grup DP-MKH çift uygulama ve VIII. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama gruplarında iyileşmenin ikinci uygulama için yapılan cerrahi işlemde dolayı oluşan travmadan dolayı 4. haftada da, nedeni bilinmeyen, telafi edilmeyen tek uygulama grubu seviyesine ulaşmayan bir iyileşme ile sonuçlanmıştır.

Ratlarda deneysel olarak oluşturulan periferik sinir yaralanmalarında rat kemik iliği ve diş pulpası kaynaklı mezenkimal kök hücre uygulamasının tek başına ve kombine kullanımının rejenerasyonu artırdığı hem siyatik sinir fonksiyon indeksi hem de histopatolojik yöntemlerle tespit edildi.

Anahtar Sözcükler: Dental pulpa, Kemik iliği, Mezenkimal kök hücre, Nervus ishiadicus, Rat.

SUMMARY
REPUBLIC OF TURKEY
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

**Bone Marrow and Dental Pulp Based Mesenchymal Stem Cell Application in
Nervus Ischiadicus Injury in Rats**

Elgin Orçum UZUNLU
Department of Veterinary Surgery
PhD THESIS / KONYA-2021

The aim of our study is to determine the effects of rat bone marrow (BM) and dental pulp (DP)-derived mesenchymal stem cell (MSC) application alone or in combination in the peripheral nerve injury model performed experimentally in rats, to minimize morbidity and to direct clinical studies due to nerve damage.

The material of the study consisted of 76 male Wistar Albino rats weighing 250-300 g, 12-24 weeks old. Four of the rats were used for mesenchymal stem cells from dental pulp and bone marrow, 72 of them were used to form experimental groups. Total of 72 rats randomly used to form 9 experimental groups of which, each having 8 rats in our study as follows, Group I Sham single application, 2nd group Sham double application, 3rd group BM-MSC single application, 4th group BM-MSC double application, 5th group DP-MSC single application, 6th group DP-MSC double application, 7th group BM+DP-MSC single application, 8th group BM+DP-MSC double application and 9th group as a control. Nerve damaged left feet of rats were used as a positive control.

The nerve's perineurium, fascicle organization, vascular density, edema, presence of inflammatory cells, presence of necrosis-degeneration and bleeding were examined under a light microscope with H&E staining.

In S100 immunohistochemical staining, while the cell density was 100% in the control group, it was over 70% in the 3rd BM-MSC single application, the 4th BM-MSC double application, the 5th DP-MSC single application, the 6th DP-MSC double application, the 7th BM+DP-MSC single application and the 8th BM+DP-MSC double application groups, and it was below 10% in the 1st Sham single application and the 2nd Sham double application groups.

When the Sciatic Function Index was examined among the groups, there was no statistically significant improvement in the 1st Sham single application and the 2nd Sham double application groups, on the other hand, recovery started from the first week in the 3rd BM-MSC single application, 5th DP-MSC single application and 7th BM+DP-MSC single administration, and 4th BM-MSC double application, 6th DP-MSC double application and 8th BM+DP-MSC double application groups, however, in the 4th BM-MSC double application, 6th DP-MSC double application and 8th BM+DP-MSC double application groups, the resultant healing which was not compensated with an unknown reason other than the trauma caused by the surgical procedure for the second application, did not reach the level of the single application groups.

The application of mesenchymal stem cells originating from rat bone marrow alone and in combination with dental pulp, increased regeneration in experimentally induced peripheral nerve injuries in rats, determined by both sciatic nerve function index and histopathological methods.

Key words: Bone marrow, Dental pulp, Mesenchymal stem cell, Nervus ishiadicus, Rat.

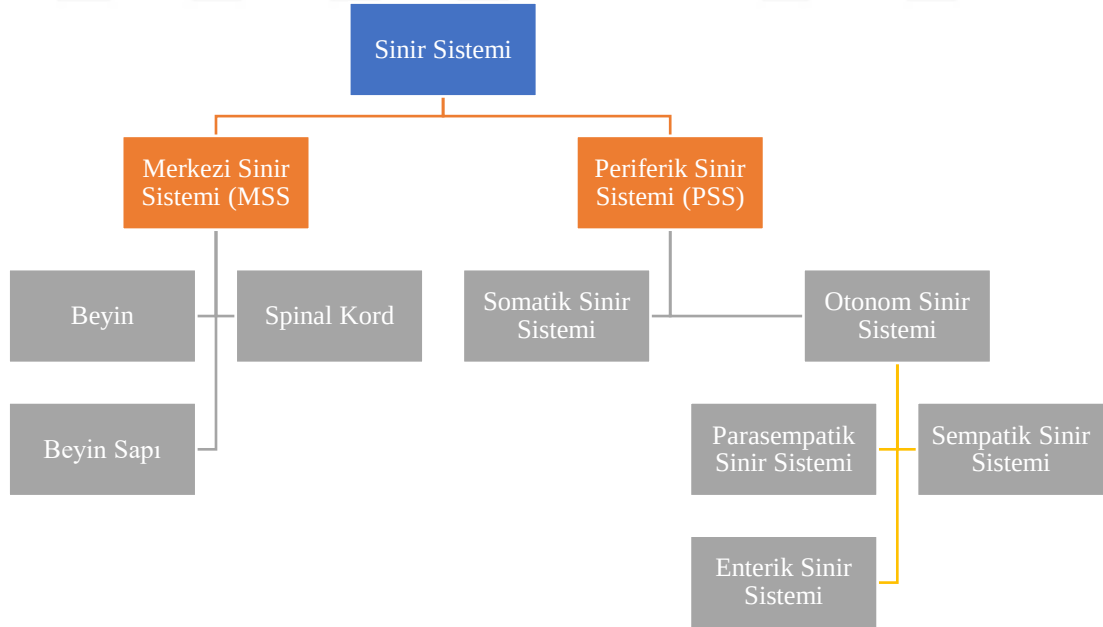
1. GİRİŞ

1.1. Sinir Sistemi

Beyin, omurilik ve periferik sinirlerden oluşan sinir sistemi, oldukça özelleşmiş ve karmaşık bir yapıdır. Organizmanın tüm fizyolojik fonksiyonlarını düzenleyen bir bilgi işlem sistemidir. Ayrıca sinir sistemi, vücuttaki diğer sistemlerden bağımsız olarak çalışan benzersiz işlevleri yerine getirir. Bunlar; bilinç, hafıza, akılcılık, dil ve zihinsel imajımızı zamanda ileri veya geri yansıtma yeteneği olarak tanımlanabilir. Sinir sisteminin dört önemli işlevi vardır;

1. Duyusal (dış çevreden bilgi toplama)
2. Entegratör (değerlendirme tüm kaynaklardan gelen bilgiler için)
3. Efektör (bir motor yanıtı üretmek için)
4. Dahili düzenleyici (homeostaz optimum performans için).

Sinir sistemi; merkezi sinir sistemi (MSS) ve periferik sinir sistemi (PSS) olmak üzere iki ana bölümden oluşur (Şekil 1.1). Motor nöronlar ekstremitelerdeki kasların işlevini kontrol ederken, duyu nöronları çevredeki çeşitli dokunma, ısı ve ağrı reseptörlerinden gelen uyarıları MSS'ye iletir (Micheal-Titus ve ark 2010).



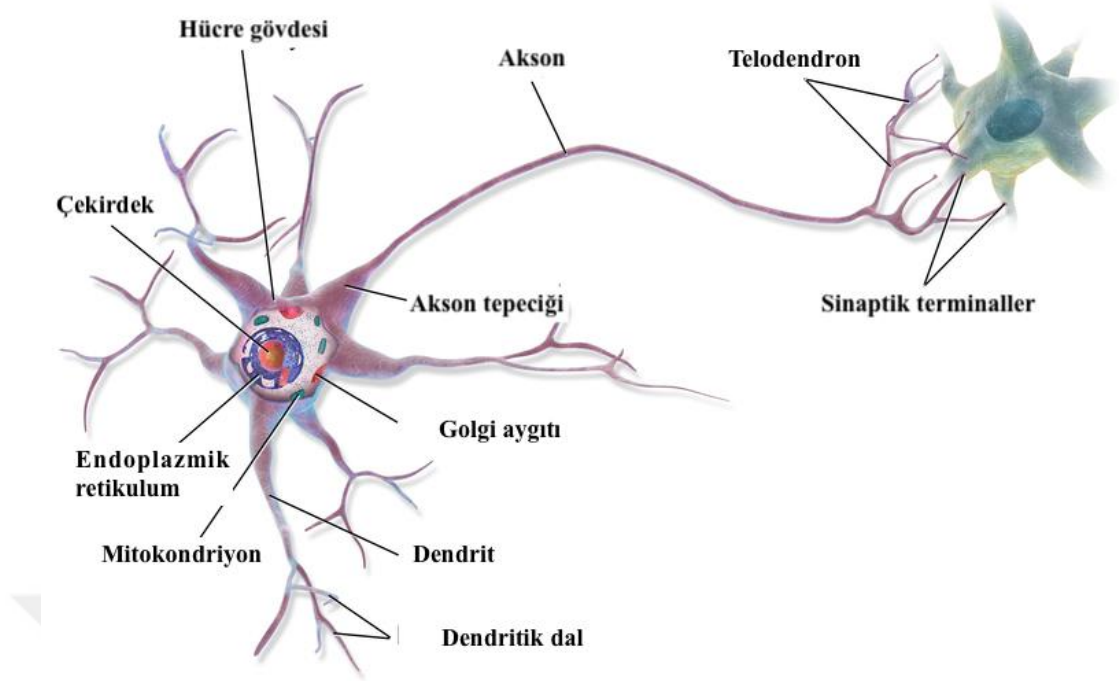
Şekil 1.1. Sinir sisteminin anatomik organizasyonuna genel bakış.

1.1.1. Nöronlar

Nöronlar, sinyalleri alan, onları işleyen ve uygun yanıtı başka bir nörona veya bir salgı hücresi veya kas gibi bir efektöre ileten sinir sistemi hücreleridir. Bu da nöronları sinir sisteminin en önemli yapısal ve işlevsel ünitesi haline getirir. Nöronlar birçok farklı şekil ve boyutta, ancak en temel biçimde üç unsurdan oluşur (Micheal-Titus ve ark 2010):

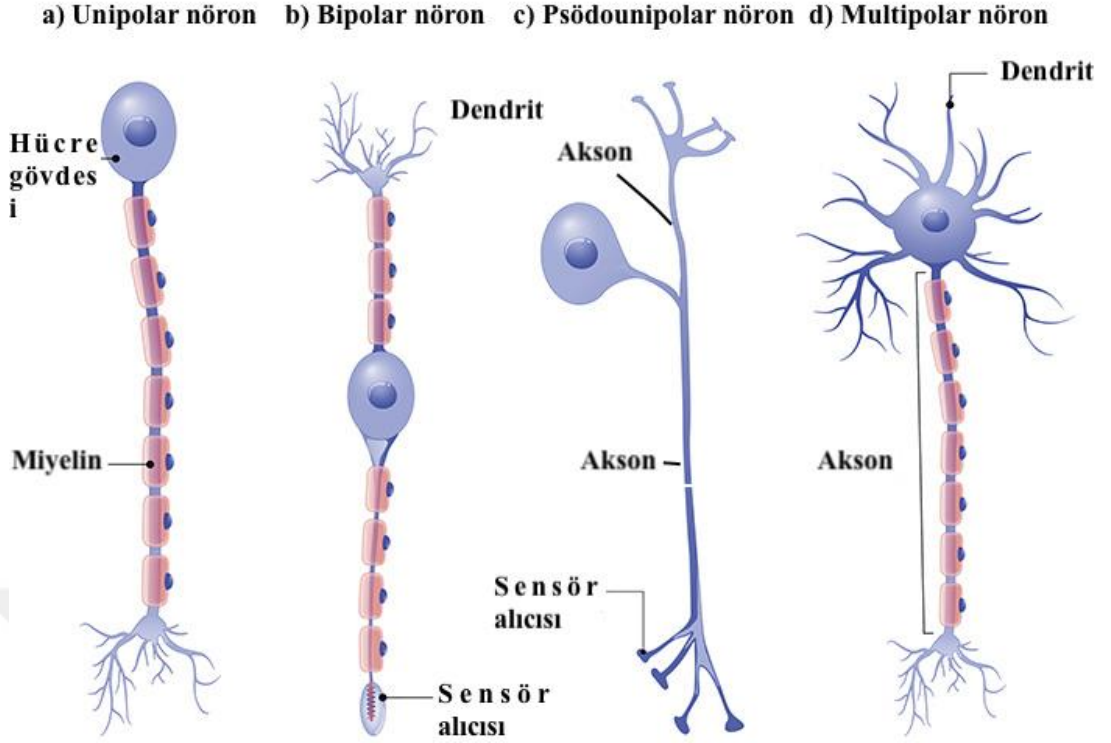
1. Hücre gövdesi: Çekirdek ve ergostoplazmadan oluşmuştur. Ergostoplazma çok sayıda ribozom, granüler endoplazmik retikulum, bağımsız ribozom ve poliribozomlardan oluşmuştur. Işık mikroskopunda görülebilen ve bazofilik boyalarla boyanan bu yapılara “Nissl cisimcikleri” denir (Micheal-Titus ve ark 2010).
2. Dendritler: Çevre ya da sinir hücrelerinden uyarımlar alan nöronal uzantılardır. Aksonlara göre daha kalın çaplıdır, gittikçe inceliyor ve yoğun bir şekilde dendritik dallanmalar şekillendirirler (Micheal-Titus ve ark 2010).
3. Akson: Hücre gövdesinden hedef hücreye uzanan ve her bir nöronda tek olarak bulunan yapılardır. Aksonlar, yakındaki bir hücreye veya omurilikten uzaktaki kasları besleyen motor nöronlara uzanabilir. Aksonun başlangıcında, akson tepesi veya tetikleme bölgesi de denilen ve hücre gövdesinden sentezlenen, moleküllerin taşınması için aksonal transport sistemine katıldığı bir alandır (Micheal-Titus ve ark 2010).

Nöron temel yapısı Şekil 1.2’de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Tipik çok kutuplu nöron (The University of Queensland. Queensland Brain Institute 2021).

Nöronun hücre iskeleti, mikrotübüllerden (tübülün'den oluşur), mikrofilamentlerden (aktin'den oluşur) ve nörofilamentler adı verilen ara liflerden meydana gelir. Bu oluşumlar hücreyi desteklemek ve madde iletimi ile görevlidirler. Bir akson, hedefine ulaşmadan önce daha küçük dallara ayrılarak diğer sinir hücrelerinde, kaslarda veya organlarda sonlanabilirler (The University of Queensland. Queensland Brain Institute 2021). Nöronlar diğer nöronlar ile ya da etkiledikleri hücreler ile sinapslar yolu ilişki kurarlar. Sinyallerin diğer hücelere iletiildiği yer burasıdır. Sinapta, bir presinaptik membran ve bir postsinaptik membran vardır. Presinaptik membran salgı vezikülleri içerir ve çok sayıda mitokondriye sahiptir. Presinaptik zar kalındır ve aktif bölgeler olarak adlandırılan içe doğru çıkıntılara sahiptir. Hem aksonlar hem de dendritler nöritler olarak adlandırılır, ancak morfolojileri, organelleri ve mikrotübüllerinin organizasyonu ile ayırt edilebilirler. Genel olarak nöronlar, büyük ölçüde dendritlerin konumuna ve sayısına bağlı olarak sınıflandırılırlar (Guillery 2005). Çoğu nöron, Şekil 1.2 ve 1.3'te gösterildiği gibi çok kutuplu nöronlardır ve bir akson ve birçok dendritten oluşan yapıya sahiptir. Tetikleme bölgesi, aksonun sonunda ve hücre gövdesine yakındır. Bunlar en yaygın nöron türleridir ve örnekler korteksin piramidal hücreleri ve serebellumun Purkinje hücrelerine aittir.



Şekil 1.3. Nöron türleri. a, Unipolar nöron; b, Bipolar nöron; c, Psödounipolar nöron; d, Multipolar nöron (The University of Queensland. Queensland Brain Institute 2021).

1.1.2. Aksonal Madde Taşınması (Transport)

Hücre gövdesinde üretilen hücre içi organeller, akson boyunca mikrotübüller boyunca hızlı aksonal taşıma (perikaryondan perifer, anterograd taşıma) ile taşınır ve geri dönüşüm için materyal, motor proteinleri kinesin ve dynein kullanılarak sinir sonundan ve dendritlerden perikaryona (retrograd taşıma) geri gönderilir. Taşınan maddelerin oranına göre yavaş aksonal taşıma da yapılabilir (De Vos ve ark 2008).

1.1.3. Nöroglia (Gliya) Hücreleri

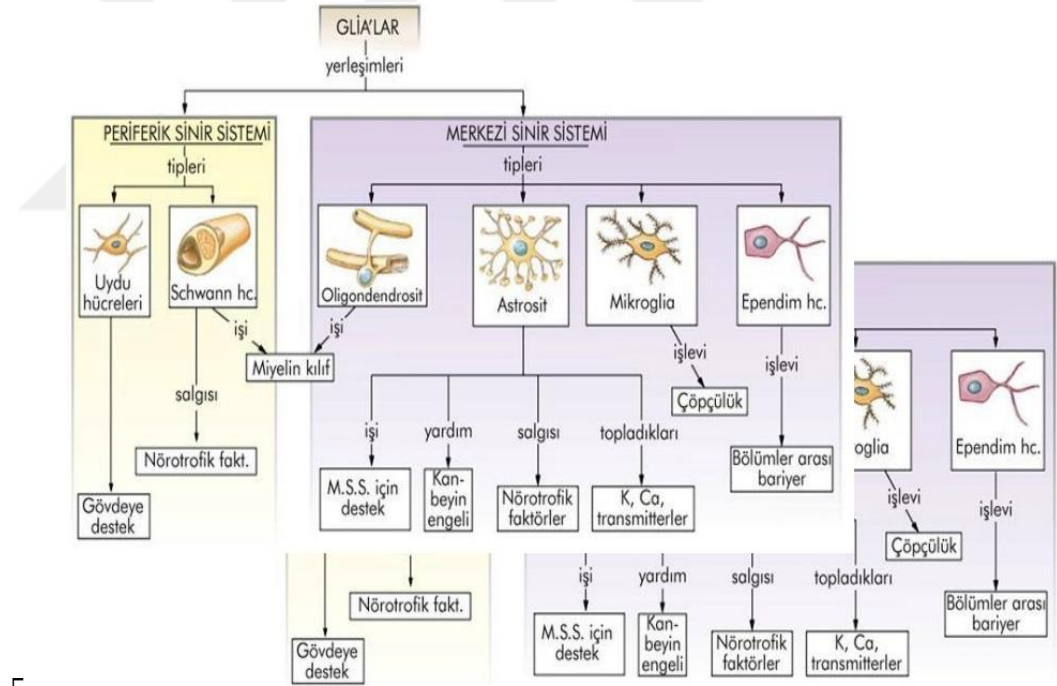
Sinir sistemindeki diğer ana hücre kategorisi içinde gliya hücreleri bulunmaktadır. Beyin kütlelerinin yaklaşık yarısını oluştururlar ve nöronların sayısından yaklaşık 10 kat fazladır. Bu hücrelerin yapısal ve metabolik desteği, bağışıklık fonksiyonları ve aksonların elektriksel izolasyonunu içeren bir dizi işlevi vardır. MSS’de dört farklı tipte gliya hücresi bulunmaktadır. Bunlar; astrositler, oligodentrositler, mikrogliya ve ependim hücreleridir (Barres 2003). Bu hücrelere aynı zamanda merkezi nöroglia hücreleri adı verilmektedir. PSS’de bulunan gliya

hücrelerine ise periferel nöroglia adı da verilmektedir. Bunlar ise; Schwann ve satellit yani uydu hücreleridir (Şekil 1.4) (Ross ve Pawlina 2011).

1. Astrositler, MSS'deki en yaygın gliya hücreleridir (Şekil 1.4). Gliya hücreleri kendilerine özgü gliya fibriler asidik protein (GFAP) varlıkları ile nöronlardan ayırt edilebilirler. Astrositler, Lifli astrositler ve Protoplazmik astrositler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Lifli astrositler çok sayıda iplik içerir ve aksonların Ranvier düğümlerini ve kan damarlarını çevrelerler. Protoplazmik astrositler daha az filamente sahiptir ve beynimizdeki gri maddede bulunurlar (Figley ve Stroman 2011). Astrositler, nöronların etrafındaki hücre dışı ortamdaki K^+ seviyelerini düzenlemede ve gerektiğinde laktat formunda nöronlara sağlanabilecek bir glikojen deposu sağlamada önemli bir rol üstlenirler. Nöronları çevreleyen astrositler, nöronlar tarafından salınan nörotransmitterlerin dağılımını kontrol etmede önemli bir role sahiptir. Bunu iki şekilde yaparlar; birincisi difüzyonu kısıtlayarak ve ikincisi ise nörotransmitterleri metabolize edebilecekleri veya geri dönüştürülebilecekleri astrosite naklederek. Astrositlerin son zamanlarda sinyal verme konusunda potansiyel olarak daha aktif bir rol oynadıkları gösterilmiştir. Astrositler birbirlerine bağlıdır. Nörotransmitterler tarafından uyarıldıklarında, astrositler arasında dalgalar halinde yayılan Ca^{2+} iyonlarının hücre içi seviyelerinde değişiklikler gösterirler. Astrositler ve nöronlar arasında boşluk kavşakları da meydana gelir ve Ca^{2+} 'nin aralarında geçişine izin vererek nöronların davranışını modüle eder (Piet ve ark 2004). Astrositlerin öncüleri, erken gelişim sırasında serebral korteksi yayan radyal gliya hücreleridir ve yeni sinir hücrelerinin varış yerlerine göçü için bir yapı iskelesi oluşturur. Mikroglial hücreler, MSS'de bulunan küçük hücrelerdir. Gelişim sırasında, büyüme faktörlerini serbest bırakırlar. Makrofajlar gibi davranarak, vücudun gelişimi esnasında meydana gelen apoptozisin kalıntılarını temizlerler. Yetişkinlerde nispeten etkisizdirler. Bununla birlikte, sinir sistemine yönelik hemen hemen her türlü yaralanma veya hasar varlığında, reaktif oldukları söylendiğinde fagositik makrofajların rolüne geri dönerler (Figley ve Stroman 2011, Piet ve ark 2004).
2. Oligodendrositler; MSS'de miyelinin üretilmesinden sorumlu hücrelerdir. Aksonların çevresinde miyelin oluşturarak MSS'deki elektriksel sinyallerin iletilmesinde rol oynarlar. Oligodendrositler, birden fazla aksona miyelin yapabilir. MSS'deki hasar görmüş nöronların başarılı bir şekilde yenilenmiyor

gibi görünmesinin sebebi akson büyümesini inhibe eden faktörlerin serbest bırakılmasıdır (Baumann ve Pham-Dinh 2001).

3. Mikroglialar; MSS'deki fagositik hücrelerdir. Bağışıklık ve homeostazı sürdürmeyle ilişkili olarak birçok farklı görevi yerine getirirler (Ginhoux ve ark 2013).
4. Ependim hücreleri; silli hücreler olup, beyin ve omuriliği çevrelerler. Ependim, bir tür glial hücre olan ependimosit adı verilen ependimal hücrelerden oluşur. Bu hücreler, beyindeki ventrikülleri ve beyin omurilik sıvısı ile dolu hale gelen omuriliğin merkezi kanalında yer alır. Bunlar, bazı mukozal epitel hücrelere çok benzeyen, basit sütunlu şekle sahip sinir dokusu hücreleridir. Erken monosiliatlı ependimal hücreler, dolaşımdaki beyin omurilik sıvısındaki fonksiyonları için multisiliatlı ependimal hücrelere farklılaşır. Bu hücrelerin bazal zarları, astrositlere bağlanan dokunaç benzeri uzantılarla karakterize edilir (Kyrousi ve ark 2017).



5.

Şekil 1.4. Glial hücreler ve görevleri (Pasadena City Colege).

1.1.3.1. Schwann Hücreleri ve Miyelin Kılıf

Schwann hücreleri, krista nöralisten köken alan, PSS'de bulunan ve miyelin kılıfı meydana getiren hücrelerdir (Lobsiger ve ark 2002, Mirsky ve ark 2008). Schwann hücrelerinin oluşumunu sağlayan sinyaller dizisi tam olarak aydınlatılamamıştır, ancak Transkripsiyon Faktörü Sox10 geninin, Schwann hücre soyundaki en erken hücrelerin üretimi için gerekli olan temel bir ana düzenleyici olduğu bulunmuştur (Schreiner ve ark 2007, Mirsky ve ark 2008). Sox10 ekspresyonu, Schwann hücrelerinin miyelin oluşturan hücrelere farklılaşması için de gereklidir (Brennan ve ark 2000, Wakamatsu ve ark 2000).

Sinir liflerinin miyelinleşmesi önemli bir süreçtir. Schwann hücrelerin yalnızca tek bir akson için miyelin yapar. Schwann hücreleri, yaralanmayı takiben periferik aksonların yenilenmesinde de rol oynar. Periferik bir sinirin yeniden büyümesi için akson ucunun bir Schwann hücresi ile temas etmesi gerekir. Bu, Schwann hücresindeki mitozu uyarır ve daha sonraki süreçleri aksonun büyüme konisine doğru genişletir. Böylece akson, miyelinini oluşturan Schwann hücreleri boyunca günde 2- 5 mm yeniden büyür (Simpson ve Young 1945, Weinberg ve Spencer 1975, Aguayo ve ark 1976).

Miyelinasyon, omurgalıların hücresel gelişiminin en uç noktasını temsil eder. Düğümünden düğüme, insan PSS miyelin internodları 2 mm veya daha fazla uzunlukta olabilir ve 100'den fazla miyelin lamelinden oluşabilir. Bu, 1020 mm uzunluk - yükseklik/genişlikteki tipik bir kübik epitel hücresi için yaklaşık 0.01 mm² ile karşılaştırıldığında, 20 mm² miyelin membranının üretimini gerektirir. Geometrik olarak miyelin internodları, kısmen Neuregulin (Nrg) yolağı üzerinden aksonal sinyale bağlı olarak boyutsal sargı sayısı, kalınlık ve internodal uzunluğa sahip ölçeklenebilir yapılardır (Britsch 2007). Bunun bir özelliği, aksonal çap ile toplam fiber çapı arasında yaklaşık olarak doğrusal bir ilişki olmasıdır. "G-oranı" olarak adlandırılan lif popülasyonlarının insanlarda ortalama oranları %60,7'dir ve g oranındaki önemli sapmalar, genellikle Schwann hücrelerinin patolojisine işaret eder (Stadelmann ve ark 2019). Miyelin internodları yapı olarak tek tip değildir, ancak birkaç farklı membran bölgesinden oluşur ve her biri farklı bir işlev için özelleştirilmiştir. Miyelin internodun çoğunluğu, elektron mikroskobu (EM) ile görüntülendiğinde klasik lamel yapıya sahip olan kompakt miyelinden oluşur (Stadelmann ve ark 2019).

1.1.4. Merkezi Sinir Sistemi

MSS; serebral korteks, diensefalon (talamus ve hipotalamus), orta beyin, pons, serebellum, medulla ve omurilik olmak üzere altı anatomik bölgeden oluşur. Kafatasının açılıp içine bakıldığında ilk görülen yapı beyini kaplayan meninks adı verilen zardır. Bu zar MSS'yi çevreler ve korur. Dura mater, araknoid ve pia mater olmak üzere beynin üç katmanı vardır. Dura mater, farklı beyin bölgelerini birbirinden ayıran ve kafatası boşluğu içindeki anatomik sınırları belirleyen kıvrımlar oluşturur (Anthea ve ark 1993). Meninksler çıkarıldığında, MSS'nin tüm anatomisi gözlemlenebilir hale gelir. Anatomik olarak korteks, kafatası kemiklerine göre isimlendirilen loblara göre tanımlanır. Böylece, beyinde dış bakıda görülebilen dört lob vardır; oksipital, temporal, parietal ve frontal loblar. Ek olarak, beynin dışından görülemeyen bir başka lob vardır ki bu da limbik lobdur. Frontal, parietal ve temporal lobların medial kısımlarını içerir ve korpus kallozum (iki kortikal hemisferleri birbirine bağlayan bir lif yolu) etrafında bir kenar oluşturur. Başka bir kortikal alan olan insula, lateral fissürün medial duvarına gömülüdür ve frontal, parietal ve temporal lobların kısımları tarafından üzerini kaplar; fonksiyonel olarak limbik lob ile ilişkilidir. Loblar, belirli işlevlerle ilişkili bölgelere ayrılmıştır (Anthea ve ark 1993).

1.1.5. Periferik Sinir Sistemi

PSS, kafatası ve vertebral kolon dışındaki tüm nöromüsküler yapıları içerir. PSS iskelet kası, deri ve iç organlardan bilgi ileten sinir liflerinden oluşur. PSS, MSS ile çevresindeki hedef organlar arasında iki yönlü dürtü iletimi sağlayan ve bu nedenle motor, duyuşal ve otonom fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir sistemdir (Anthea ve ark 1993). Sistemin afferent kısmı, duyuşların periferik reseptörlerden MSS'ye iletilmesinden, efferent kısmı ise MSS tarafından üretilen motor cevabın çevreye iletilmesinden sorumludur. Üç tür periferik sinir vardır: motor sinirler, duyuşal sinirler ve otonom sinirler (Anthea ve ark 1993, Kent 2001).

Periferik sinirler, kan damarlarına benzeyen ve vücutta genişleyen, gelişim yollarını paylaşan karmaşık bir dallanma oluşturan organlardır. MSS'den çıkan periferik sinirler iki kategoriye ayrılır; kraniyal ve spinal sinirler. Bu ana gövdelerden birden fazla dal çıkar ve terminaller tüm vücut bölgelerine ulaşır. Vücudun çeşitli

bölgelerinde bulunan sinir gövdeleri, lif tipi bileşimine (ve dolayısıyla işlevsel önemi) ve fasiküllerin varlığı ve sayısına göre farklılık gösterse de (Sunderland 1951, Sunderland 1978), bu sinirlerin gövde morfolojisi, tüm bölgelerde nispeten benzerdir. Tek istisna, ilk iki kraniyal sinir, yani koku alma ve optik sinirlerdir. Periferik sinirler, lif tipi bileşime bağlı olarak genellikle üç ana kategoriye ayrılır; (i) duyuşal, (ii) motor ve (iii) karışık sinirler (Williams 1999). Motor sinir lifleri ise MSS’de bulunan somatik ve otonomik motor nöronlardan köken alır. Somatik motor lifler doğrudan hedef iskelet kası liflerine ulaşırken; otonomik motor lifler, ikinci dereceden otonom nöronun bulunduğu ve aksonunun sonunda hedef iç organlara ulaştığı parasempatik bir ganglionda sinapslar oluşturur (Williams 1999).

1.1.5.1. Periferik Sinir Histolojisi

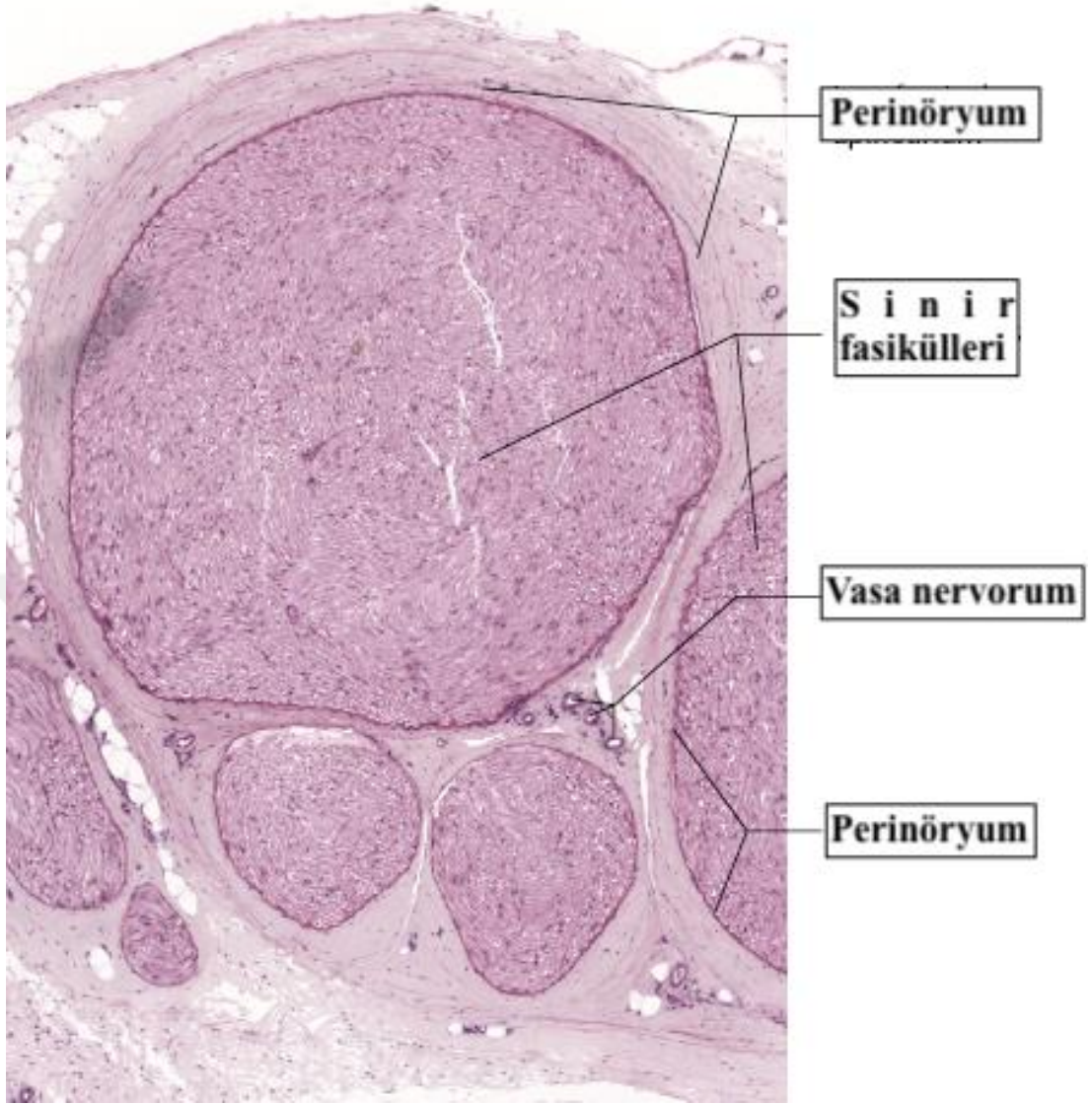
Histolojik olarak, periferik sinir bir fonksiyonel birim ile parankim ve stroma olmak üzere iki ana unsurdan oluşur. Parankim, aksonlar ve çevreleyen Schwann hücreleri tarafından oluşturulan sinir liflerinden meydana gelir. Stroma ise üç katman halinde özelleşmiş bağ dokusundan şekillenir. Stroma bu organların bölümlere ayrılmasını düzenler. PSS’nin enine kesitlerinde, sinir liflerinin endonöral bağ dokusuna nasıl gömüldüğünü ve epinöryum adı verilen vaskülarize bir bağ dokusuna gömülmüş olan tek tek fasiküller oluşturan perinöral tabaka ile çevrili olduğunu gözlemlemek mümkündür (Geuna ve ark 2009, Mills 2007). Diğer parankimatöz organlar gibi periferik sinirde de bir parankim ve bir stroma ayırt edilebildiğinden, bir sinirin bir parankimatöz organın aynı organizasyonunu morfolojik olarak gösterdiğini tahmin etmek mümkündür. Parankim, aksonlar tarafından yapılan sinir lifleri ve sinirin asıl bileşeni olan Schwann hücreleri ile temsil edilirken; stroma (perinöral hücreler) sinire özgü olan birkaç bağlayıcı unsurdan oluşur. Periferik sinirin en küçük fonksiyonel birimi sinir lifidir. PSS sınıflandırılması yapılırken, periferik sinirlerin iletim hızına, fonksiyonuna, lif çapına ve diğer özelliklerine bakılmıştır. Anatomik olarak, Schwann hücrelerinden aksonları çevrelemek için benimsenen stratejiye bağlı olarak, iki alt lif grubunu ayırt etmemiz mümkün olmaktadır. Bunlar; miyelinli ve miyelinsiz sinir lifleridir. Tüm büyük memeli aksonları miyelinlidir; miyelin, periferik sinirlerin ve merkezi beyaz cevherin parlak beyazlığından sorumludur. Çapı 1 mm’den küçük olan aksonlar genellikle miyelinsizdir (Williams 1999).

Miyelinli sinir lifleri, tek bir Schwann hücresi tarafından ayrı ayrı sarılmış tek bir aksondan oluşur. Bu Schwann hücresinin zarı, çok katmanlı bir miyelin kılıfı oluşturmak için sinir lifi etrafını sarar. PSS içinde miyelin, Schwann hücreleri tarafından üretilir. Elektron mikroskobunda, miyelinin sıkıştırılmış dış yüzeyleri, ana yoğun çizgilere karşılık gelen sıkıştırılmış iç sitoplazmik yüzeylerle dönüşümlü küçük yoğun çizgiler olarak görülür. Spiral işlemin iç ve dış oklüzyon bölgeleri küçük yoğun çizgi ile sürekli ve iç/dış mezonlar olarak adlandırılır. Ana yoğun çizgi, sıkıştırmanın kaybolduğu ve oldukça kararlı görüldüğü tüm bölgelerde zarın sitoplazmik yüzü ile sürekli. Buna karşılık, küçük yoğun çizgi kararsız görünmektedir (Blaurock ve ark 1986, Napolitano ve Scallen 1969, Williams ve Hall 1970). Miyelinli liflerde, Schwann hücresinin bölgesi bir internodu tanımlar. İnternodlar arasındaki aralık Ranvier düğümüdür (Williams 1999). İnternodal uzunluk, liflerin çapına göre doğrudan 150 - 1500 mm arasında değişir (Kashef 1966). Miyelin kılıfının dış yüzeyinde yiv açılarak üretilen oluklar, mitokondri açısından zengin olan Schwann hücre sitoplazması ile doldurulur (Berthold 1968, Landon ve Williams 1963). Her miyelinli segment kapalı aksondan, nominal olarak hücre dışı boşluğun bir parçası olmasına rağmen, paranotlarda hücre dışı boşluktan fonksiyonel olarak izole edilen dar bir periaksonal boşlukla (15-20 nm) ayrılır.

Miyelinsiz sinir lifleri, tek bir Schwann hücresi tarafından bir grup olarak sarılmış birkaç sinir aksonundan oluşur. Kutanöz sinirlerde ve dorsal omurga köklerinde, memeli aksonlarının yaklaşık %75'i miyelinsizdir. Kaslara çıkıntı yapan sinir liflerinin yaklaşık %50'sini ve ventral omurga köklerindeki sinir demetlerinin %30'unu oluştururlar. Otonom postganglionik aksonlar neredeyse tamamen miyelinsizdir. Miyelinsiz aksonlar küçüktür (0,15-2,00 mm çapında) ve ardışık bir Schwann hücresi dizisi içinde gruplanmıştır. Olgun sinirlerde, her akson grubunun kuşatma biçimi türler arası farklılıklar gösterir. Aksonlar genellikle Schwann hücre sitoplazmasının dilleri ile birbirinden ayrılır, ancak bu aksonlar bazen perinükleer bölgede birleşen ayrı sitoplazma süreçleri ile daha iyi izole edilir (Gamble ve Eames, 1964). Gelişim sırasındaki istila çizgisi, çift kat Schwann hücre plazma membranı olan mezoakson ile işaretlenir. Schwann hücresinin dışında, katmanlar ayrıdır ve plazma zarı ile sürekli. Bu düzenleme nedeniyle endonöral doku sıvısı mezoaksonal membranlar arasındaki periaksonal boşluklara ulaşır. Bu hücreler arası boşluklar, aksiyon potansiyelleri kapalı akson boyunca iletildiğinde iyonların hareketine izin

verir. Miyelin kılıfı ve düğümlerinin yokluğunda, cevap verici iletim meydana gelmez ve darbelerin kesintiye uğraması yaklaşık 0.5-4.0 m/s hız ile gerçekleşir. Somatik otonom sinirlerin bölümlerinden üç boyutlu bir yeniden yapılanma, aksonlar ve Schwann hücreleri arasındaki uzamsal ilişkilerin her hücre içinde sürekli olarak değiştiğini ortaya koymuştur (Aguayo ve ark 1973). Aksonların Schwann hücreleri arasında transferi genellikle bitişik glial hücrelerin uçlarında meydana gelir ve burada bunların sitoplazmik süreçleri iç içe geçer (Gamble ve ark 1966).

Periferik sinir yapıları hem miyelinli hem miyelinsiz somatik ve otonomik sinir liflerinin değişken bir karışımını içerir. Bir periferik sinir enine kesitte değerlendirildiğinde, anatomi açıktır; bireysel sinir lifleri (miyelinli ve miyelinsiz) fasiküller adı verilen demetler halinde gruplanır (Şekil 1.5). Her fasikül, perinöral hücre ve kollajen katmanlarından oluşan oldukça özelleşmiş bir yapı olan perinöryum tarafından geliştirilmiştir; miyelinli ve miyelinsiz sinir liflerini çevreleyen endonöral sıvının homeostazını sürdürmeye hizmet eder. Fasiküller, dış katmanları sinir kılıfını (epinöryal epinöryum) oluşturmak için yoğunlaştırılan epifasiküler epinöryum olan bağ dokusu içine gömülür. Bir sinir içindeki fasiküllerin sayısı ve boyutları, yalnızca bir sinirden diğerine değil, aynı zamanda aynı sinir içinde seyri boyunca farklı noktalarda önemli ölçüde değişiklik gösterebilir. Bu nedenle sinirler; monofasiküler, oligofasiküler veya polifasiküler olarak tanımlanabilir (Stewart 2003).



Şekil 1.5. Bir memeli periferik sinirin enine kesiti (University of New England 2021).

1.1.5.2. Periferik Sinir Fizyolojisi

Nöronlar, aksiyon potansiyelleri (AP) olarak bilinen membran depolarizasyonunun dalgaları aracılığıyla bilgi iletir. Sodyum kanalları, membran depolarizasyonuna ve AP oluşumuna neden olan güçlü uyaranlardan sonra açılır. Potasyum kanalları, akson zarının repolarizasyonunda rol oynar. Miyelinli aksonlarda hem Na hem de K kanalları Ranvier düğümlerinde yoğunlaşır ve sinir iletimine aracılık eder. Miyelinli aksonlar AP 120 m/s'ye kadar iletirken, miyelinsiz lifler 2-4 m/s hızında iletir (Krarup 1988). Cildin ağrısız dokunuşu, aksiyon potansiyeli iletim hızlarına göre Ab-, Ad- ve C LTMR olarak sınıflandırılan düşük eşikli mekanik alıcılar

(LTMR'ler) tarafından algılanır. Tüysüz ciltte, Ad-afferentleri, dokuyu kodlayan titreşim reseptörleri olan Pacinian ve Meissner'in hücrelerine zarar veren hızlı uyum sağlayan nöronlardır (Anthea ve ark 1993).

1.1.5.3. Rat Periferik Sinir Sistemi ve Siyatik Siniri

Ratların periferik otonom sinir sistemi, diğer memelilerde olduğu gibi bir tarafta MSS'ye (omurilik ve beyin sapı) diğer tarafta iç organlara bağlı geniş bir sinir ve ganglion dizisidir. İç organlar; göğüs, karın ve pelvik boşluklarının organlarını, kan damarlarını, baş ve boyun organlarını ve deri bileşenlerini içerir. Otonom sinir sistemi, tüm memelilerde ortak bir yapısal plana sahiptir. Rat bu konuda kapsamlı olarak incelenen bir türdür. Sistem, vücudun tüm düz kaslarını ve bezleri innerve eden efferent (motor) nöronları ve viseral organlardan gelen refleksleri ve duyuları destekleyen afferent (duyusal) nöronları içerir (Furness 2015). Birçok otonom gangliyon, çıplak gözle sinir gövdeleri boyunca şişme veya çıkıntılar veya bir sinir ağı içindeki düğümler olarak tanınabilir. Bazı gangliyonlar bir dizi veya gangliyonlu zincir (paravertebral sempatik zincir) ile bağlanırken, diğerleri bir pleksus (abdominal pleksus veya pelvik pleksus) oluşturdıkları bir sinir gövdesi ağı ile bağlanır. Sayısız diğer mikroskobik gangliyonlar bir sinir içine veya iç organların duvarına gömülüdür ve sinir gövdeleri boyunca birçok tek nöron vardır. Tersine duyusal bileşen esas olarak dorsal kök gangliyonunda ve vagus sinirinin nodoz ganglionunda bulunan nöronlardan oluşur (Furness 2015).

1.1.5.4. Periferik Sinirde Hasara Reaksiyon

Periferik sinir gövdelerinde meydana gelen travma, çeşitli derecelerde sinir lifi hasarına neden olabilir. Periferik bir sinir, travmatik bir yaralanmaya maruz kaldıktan sonra yaralanma bölgesinde, yaralanma bölgesine yakın ve uzak segmentlerde, sinir hücresi gövdesinde ve hem kas uç plakalarının hem de duyu reseptörlerinin uzak uçlarında karmaşık patofizyolojik değişiklikler meydana gelir. Yaralanma yerindeki sinirlerde değişiklikler hemen başlar. Bir sinir gövdesinin ezilmesi veya kesilmesi ile lezyonun proksimal ve distalinde normal morfolojide ve doku organizasyonunda önemli değişiklikler meydana gelir. Aşağıdaki bölümlerde, yaralanma bölgesinin proksimal ve distal segmentlerinde meydana gelen ana değişiklikler ayrı ayrı analiz edilecektir (Anthea ve ark 1993, Kent 2001).

1.1.5.4.1. Yaralanmaya Hücresel Tepki

Aksonal yaralanma, normal olarak aksonal taşıma ile hücre gövdesine taşınan hedeften türetilmiş trofik faktörlerin bozulmasına neden olur. Akson kesilirse, Na ve Ca yaralı aksoplazmaya yayılır ve aksiyon potansiyellerini tetikler. Bu olayların her ikisi de granüler endoplazmik retikulumu (kromatoliz) etkileyen Nissl cisimciğinin dağılmasına neden olur (Kiryu-Seo ve Kiyama 2011). Bu değişikliklerde Tropomiyozin reseptör kinaz A ve B (TrkA ve TrkB) ifadesinin artmasına neden olur. Tersine, nörofilamentler, nörotransmitterler ve postsinaptik reseptörler aşağı regüle edilir (Patodia ve Raivich 2012).

1.1.5.4.2. Wallerian Dejenerasyonu

Sinirde ciddi yaralanma, miyelin birikintilerini temizleyen, rejenerasyon ve remiyelinasyon için lipid içeriğini yeniden kullanan, yaralanma bölgesine uzaktaki sinir liflerinin dejenerasyon süreci olan Wallerian dejenerasyonu ile sonuçlanır. Schwann hücrelerinde c-Jun'un yukarı regülasyonunun, trofik faktörlerin ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu, endonöral tüplerin veya Büngner bantlarının oluşumunu ve miyelin temizlenmesini teşvik ederek Wallerian dejenerasyonunun anahtar düzenleyicisi olduğu gösterilmiştir (Fawcett ve Keynes 1990).

1.1.5.4.3. Kendiliğinden Aksonal Yeniden Büyüme

Proksimal ve distal kesitler arasındaki boşluğun 1 cm'den daha az olduğu kesilmiş sinirler, proksimalden distal kesite kendiliğinden yenilenir. Kesilen akson şişer, mitokondri ve mikrotübül üretimini artırır ve distal segmentin endonöral tüpleri boyunca 6-10 kollateral dal uzatır. Uzama oranı ezildikten sonra 3-4 mm/gün ve sinir kesildikten sonra 2.5 mm/gün'dür (Fugleholm 1994). Yenilenen aksonlar 1-2 mm çapındadır ve hedeflerini yeniden canlandırdıktan sonra 26 ay içinde genişler (Navarro ve ark 1994). Schwann hücreleri olmadan aksonal rejenerasyonun başarısız veya aksonal büyümenin tehlikeye atıldığı gösterilmiştir.

1.1.5.4.4. Rehberlik Molekülleri

Sinir hasarı, sinir büyüme faktörü (NGF), Beyin Kaynaklı Natriüretik Faktör (BDNF), NT-3 ve NT-4 gibi nörotrofinler de dahil olmak üzere dejenere sinir segmentinde ve denerve uç hedeflerde nörotrofik faktörlerin ve reseptörlerin yukarı düzenlenmesine yol açar (Carroll 1998, Chen 2002). Sinir yenilenmesinin, aksonal

büyümeyi denerve edilmiş hedefe doğru yönlendiren kılavuz moleküllerin konsantrasyon gradyanlarına yanıt verdiği bilinmektedir (Zheng ve Kuffler 2000). Omurilikteki yetişkin motor nöronların ve Dorsal Kök Gangliyonlardaki (Drg) duyu nöronlarının rejeneratif yolu, spesifik büyüme faktörleri tarafından kontrol edilebilir. Spesifik olarak, NGF'nin indüklenen ekspresyonunun, Drg aksonlarının hem omuriliğe hem de çevreye rejeneratif yolunu yönlendirdiği gösterilmiştir (Romero 2001, Hu ve ark 2010). Ek olarak, BNDF ve Glial Hücre Nörotropik Faktör (GDNF) gibi büyüme faktörlerinin verilmesinin, gecikmiş sinir onarımının bir rat modelinde sinir rejenerasyonunu ve fonksiyonel iyileşmeyi arttırdığı gösterilmiştir (Gordon 2009).

1.1.5.4.5. Rejenerasyon Doğruluğu

Yaralanmış sinirler yeniden canlanma yeteneğine sahiptir; ancak bu işlem hatasız değildir. Yenilenen aksonlar genellikle ana tüpleri boyunca büyüdükleri ve doğrudan hedeflerine geri yönlendirildikleri için, ezilme sonrası aksonal rejenerasyon, transeksiyon yaralanmalarına kıyasla daha net ve doğrudur (Brown 1976). Sinir kesilirse yenilenen filizler, anormal hedeflerle biten uzak kısımda uygun olmayan tüplere girebilir. Rejeneratif motor aksonlarda peptit L2/HNK1, NCAM ve polisialik asit ekspresyonunun ve distal kısım tarafından trofik faktörlerin salınımının seçici reinnervasyonu etkilediği ve hatalı hedefleri yeniden canlandıran aksonların kısılmasının sinirlerin yeniden canlanarak eski haline dönmesine katkıda bulunduğu görülmüştür (Madison ve ark 1996; Eberhardt ve ark 2006).

1.1.5.4.6. Remiyelinizasyon

Schwann hücreleri, yaralanmadan sonra miyelinleşmeden rejeneratif tiplere farklılaşır ve sinirlerin yeniden büyümesine ve remiyelinasyona katılır. Remiyelinasyon, Schwann hücrelerine talimat vermek için nörogulin-1 tip III'ün aksonal salınımını gerektirir; bununla birlikte bu işlem miyelin kalınlığını tamamen yaralanma öncesi seviyelere geri getirmez ve aksonlar uzun süreli hipomiyelinize kalır (Schroder 1972). İnternotlar arasındaki mesafe de normalden daha küçüktür, genellikle 400 mm civarındadır ve bu durum rejenere sinir liflerinin daha düşük iletim hızlarını açıklayabilir (Burgess ve Horch 1973, Hildebrand ve ark 1985).

1.1.5.4.7. Sinir Onarımı

Tamamen kopmuş bir periferik sinirin birincil gerilimsiz uçtan-uca bağlanması, kısmi sinir rejenerasyonuna ve fonksiyonel iyileşmeye aracılık ettiği için tercih edilen sinir onarımı yöntemidir. Boşluk, gerilimsiz bir yeniden tutturma için çok uzunsa, önerilen "altın standart" boşluk kusurunu kapatmak için otolog sinir greftlerinin kullanılmasıdır. Bununla birlikte, donör saha morbiditesi, az sayıda kullanılabilir donör sinir ve suboptimal fonksiyonel iyileşme, bu alternatifi büyük ölçüde sınırlar (Zochodne 2012). Allojenik veya ksenojenik sinir greftleri önerilmiştir, ancak greft reddini önlemek için immünosupresyon gerekir. Hücresizleştirilmiş sinir allo-ksenograftları da araştırılmıştır, ancak elde edilen fonksiyonel iyileşme sınırlıdır. Biyosentetik malzemelerden (polilaktik-kopolakton, poliglikolik asit, tip I kollajen) yapılmış basit, içi boş tüpler şeklindeki klinik alternatifler şu anda FDA onaylıdır ve kısa periferik sinir yaralanmalarının rekonstrüksiyonu için yaygın olarak kullanılmaktadır. Sinir onarımında biyosentetik sinir kılavuzlarının işlevsel etkinliğini artırmak için sentetik malzeme geliştirme çalışmaları devam etmektedir (Pfister ve ark 2011). Bununla birlikte, basit tüp sinir onarımları, muhtemelen kanalların endonöral mikro yapılarının eksikliğinden dolayı sinir otogreftlerinden ve hücresizleştirilmiş allogreftlerden daha düşüktür ve bu da yenilenen liflerin kümelenmesine neden olur. Poliamid, kollajen, polyester, poliglaktin ve jelatin fiberler ile çok lümenli mikro kanallar gibi lümen dolgu maddeleri umut verici sonuçlar göstermiştir (Tansey ve ark 2011).

1.1.5.4.8. PSS Rejenerasyonundaki Sınırlamalar

Başarısız onarımın nedenleri arasında, aksotomi sonrası aksonların yenilenememesi ve yanlış hedeflerin innervasyonu yer alır. Aksonlar cildin uygun olmayan bölgelerine bağlandığından, kalitatif olarak anormal ve yetersiz lokalize duyuma yol açar ya da kaslar orijinal olarak farklı kaslara bağlı aksonlardan iletim aldıkça zayıf kas kontrolüne yol açar. Ayrıca, spontan sinir rejenerasyonu kısa fakat uzun olmayan sinir boşluğu defektleri ile ilerler (Hoke ve Brushart 2010).

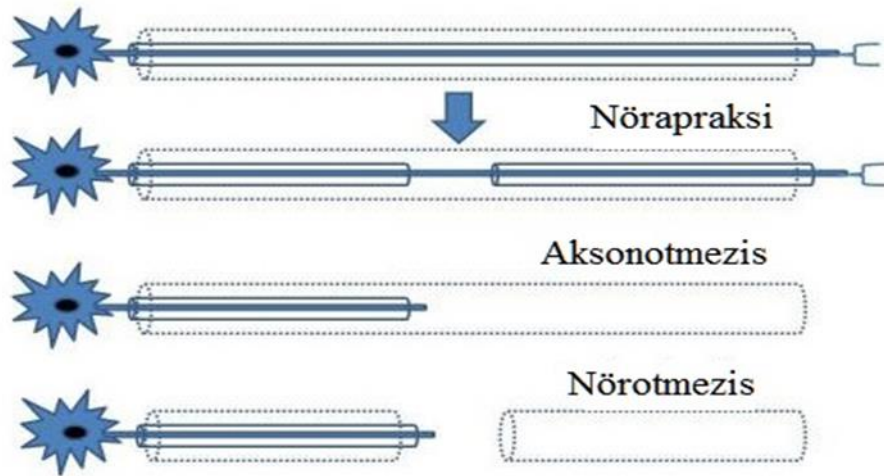
1.1.6. Periferik Sinir Yaralanması

Periferik sinirlere her tür travma (ateşli silah yaralanması, kesici aletle yaralanma, elektrik çarpması, yanıklar, ezilmeler gibi), en hafifinden en ağırına değişik derecelerde sinir hasarına yol açar. Periferik sinir içindeki tüm sinir lifleri aynı derecede hasara uğrayabileceği gibi, hasarın şiddetine ya da tipine göre, aynı sinir içindeki farklı lifler farklı türde hasara da uğrayabilir. Seddon (1942) ve Sunderland (1951) bu tür hasarlar için sınıflamalar önermişlerdir.

Seddon sınıflamasına göre en hafif hasar türü "nörapaksi" olup motor ve duyuşsal kayıp olabilmekle birlikte Waller dejenerasyonu bulgusu yoktur. Hasar distalinde sinir normal iletir. İleti bloğu söz konusudur. Bu duruma örnek olarak bir periferik sinirin hafif kontüzyonu/sıkışması, korunmuş axis silindiri, küçük ödem veya miyelin kılıfının lokal olarak parçalanması verilebilir. İyileşmesi saatler, günler, haftalar veya aylar alabilir. "Aksonotmezis" motorlu taşıt kazalarında veya ateşli silah yaralanmalarında daha yaygın görülen bir hasardır. Akson ve miyelin kılıfı hasarlıdır fakat çevreleyen doku kısmen sağlamdır. Waller dejenerasyonu oluşur fakat düzelme, çevre dokulardaki hasara ve kas dokusuna uzaklığa göre değişir. Sunderland sınıflamasına göre daha ayrıntılı bir prognoz belirlenebilir. "Nörotmezis" ise sinirin ya tümüyle kopması ya da aksonal rejenerasyonu imkânsız kılacak denli bir nedbe dokusu oluşumunu tanımlar. Akson, Schwann hücresi ve endonöryum (endonöral tüp) tamamen bozulmuştur, perinöryum ve epinöryum da çeşitli derecelerde yaralanma ve bozulma mevcuttur (Çizelge 1.1, Şekil 1.6). Cerrahi müdahale olmadıkça iyileşme imkansızdır.

Çizelge 1.1. Seddon ve Sunderland sınıflandırmalarının karşılaştırılması.

Seddon	Sunderlan	Pataloji
Nörapraksi	Birinci derece	Miyelin hasarı.
Aksonotmezis		Akson kaybı. Değişik derecede bağ doku hasarı.
	İkinci derece	Akson kaybı. Endonöral tüpler, Perinöryum ve Epinöryum sağlam
	Üçüncü derece	Akson kaybı. Endonöral tüpler, Perinöryum ve Epinöryum sağlam
	Dördüncü derece	Akson kaybı. Endonöral tüpler ve Perinöryum hasarlı. Epinöryum sağlam.
Nörotmezis	Beşinci derece	Akson kaybı. Endonöral tüpler, Perinöryum ve Epinöryum ağır hasarlı.



Şekil 1.6. Seddon sınıflaması (Hems 2016).

1.1.7. Ayak İzi/Yürüyüş Yolu Analizi

Ratlarda sinir yaralanmasından sonra hedef organların işlevinin değerlendirilmesinde en yaygın kullanılan yöntem yürüme yolu analizidir. De Medinaceli tarafından geliştirilen ve daha sonra Bain ve ark (1989) tarafından uyarlanan siyatik fonksiyon indeksi (SFI), yürüme yolu analizi ile elde edilen arka bacak ayak izlerinin üç ölçüsü kullanılarak hesaplanır.

Kağıt şeritlerdeki en uygun ayak izleri kullanılarak deneysel ayakta 3. parmak ile topuk arası mesafe (Experimental Print Length=EPL), normal ayakta 3. parmak ile topuk arası mesafe (Normal Print Length=NPL), deneysel ayakta 1. ve 5. parmaklar arası mesafe (Experimental Toe Spread=ETS), normal ayakta 1. ve 5 parmaklar arası mesafe (Normal Toe Spread=NTS), deneysel ayakta 2. ve 4. parmaklar arası mesafe (Experimental Intermediary Toe Spread=EITS), normal ayakta 3. ve 4. parmaklar arası mesafe (Normal Intermediary Toe Spread=NITS) ölçülür. Ölçülen bu değerler aşağıda verilen formülde yerlerine koyulduğunda 0 veya 0 ile -100 arasında bir değer ortaya çıkarır ve bu da SFI değerini verir (0: normal fonksiyonu gösterirken, -100 tam fonksiyon kaybına işaret etmektedir (Bain 1987).

$$SFI = -38,8 \times \left(\frac{EPL - NPL}{NPL} \right) + 109,5 \times \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + 13,3 \times \left(\frac{EITS - NITS}{NITS} \right) - 8,8$$

1.2. Kök Hücre ve Özellikleri

Kök hücreler; kendini yenileyebilen, sınırsız bölünebilme yeteneğine sahip ve vücudun ihtiyacı olduğunda kendi kökeni dışındaki birden fazla hücreye dönüşebilen özelleşmemiş hücrelerdir (Vats ve ark 2005).

Hayati organlardaki işlev bozukluklarının bir sonucu olarak ortaya çıkan morbidite ve mortalite, teknolojik olarak en gelişmiş toplumları bile rahatsız etmektedir. Nakledilen organların azlığı nedeniyle kök hücreler, yaşlılıktan yıpranmış veya hastalık nedeniyle tahrip olmuş dokuları iyileştirebilmek için büyük bir potansiyele sahiptir (Vats ve ark 2005).

Kök hücreleri vücudun diğer hücrelerinden ayıran bazı özelliklere sahiptir.

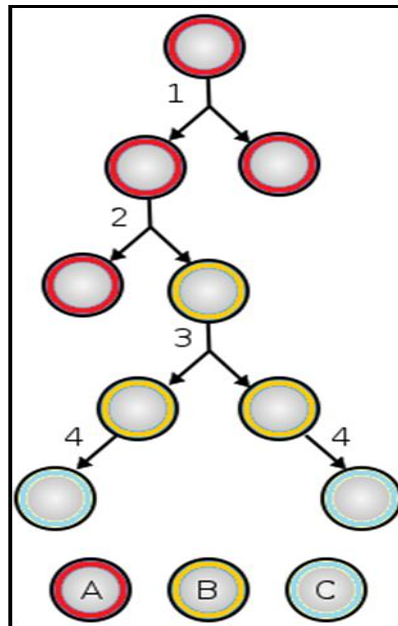
Bunlar;

1) Kök hücrelerin sınırsız bölünebilme yeteneği: Hücrelerin bölünme kapasitesini, yani ömrünü belirleyen faktörlerden biri doğrusal kromozomların ucunda yer alan ve telomer adı verilen DNA zincirleridir. Hücre her çoğalma döngüsü sırasında ve oksidatif DNA hasarı gibi nedenlerden dolayı telomerik DNA'sının bir kısmını kaybeder. Bu kaybı önlemek amacıyla telomerler, telomeraz enzimi tarafından uzatılırlar. Somatik hücrelerin çoğunda telomeraz etkin durumda değildir. İnsan germ, tümör ve embriyonik kök hücre serilerinde ise telomeraz etkinliği vardır. Bu durum, kök hücelere sınırsız bölünme özelliği kazandırır (Verfallie ve ark 2002).

2) Kök hücrelerin kendini yenileyebilme özelliği: Bir kök hücre popülasyonunun var olmasını ve kök hücrenin kendisini yenilemesini sağlayan 2 mekanizma vardır.

a) Asimetrik hücre bölünmesi (zorunlu asimetrik replikasyon) (Şekil 1.7): Bir kök hücre, kendiyle özdeş olan bir ana hücreye bölünür, diğer yavru hücre ise farklılaşır (Majka ve ark 2005).

b) Simetrik hücre bölünmesi (Stokastik farklılaşma) (Şekil 1.7): Bir kök hücre iki farklı oğul hücreye bölündüğünde, başka bir kök hücre mitozda gider ve ana hücreye özdeş iki kök hücreyi üretir (Majka ve ark 2005).



Şekil 1.7. Kök hücre bölünme çeşitlerini gösterir şema. a, Kök Hücre; b, Öncül Hücre; c, Farklılaşmış Hücre; 1, Simetrik kök hücre bölünmesi; 2, Asimetrik kök hücre bölünmesi; 3, Öncül bölünme; 4, Son bölünme

(https://tr.wikipedia.org/wiki/Kök_hücre).

3) Farklılaşma kapasitesi (potensi): Kök hücreler özelleşmiş hücelere kaynaklık ederler.

- a) Totipotent (omnipotent): Bu hücreler, tüm bir yaşayan organizmayı oluşturabilirler (Mitalipov ve Wolf 2009). Zigot ve blastomer totipotenttir (Schöler 2007). Sınırsız farklılaşma ve farklı yönler gidebilme özelliğinde olan kök hücrelerdir. Totipotent bir hücre, anne kaynaklı uygun destekle yeni bir bireye kaynaklık edebilen hücredir (Daley ve ark 2003).
- b) Pluripotent: Totipotent hücrelerin soyundan gelirler (Mitalipov ve Wolf 2009). Erken embriyonik dönemin yaklaşık 5. gününde hücreler, 'blastosist' denilen ortası boşluklu mikroskobik hücre topluluklarına dönüşürler. Blastosist üç yapıdan oluşur; blastosisti çevreleyen hücre tabakası trofoblast, blastosistin içindeki blastosöl boşluğu ve blastosölün sonunda yer alan iç hücre kitlesi (Eridani ve ark 2004). İç hücre kitlesi pluripotent özelliğe sahip olup, üç germ tabakasından meydana gelen, embriyonik membranlar hariç bütün hücre tiplerine farklılaşabilirler (Schöler 2007).
- c) Multipotent: Çok sayıda hücreye farklılaşma potansiyeline sahiptirler. Fetal dönemde hücreler daha özel görevlere sahip olan erişkin kök hücrelerine dönüşürler. Bu hücreler, tipik olarak yer aldıkları dokunun hücre tiplerini üretirler. Örneğin hematopoetik hücreler (Schöler 2007).
- d) Oligopotent: Lenfoit ya da miyeloid hücreler gibi sadece birkaç hücre tipine farklılaşabilirler (Schöler 2007).
- e) Unipotent: Sadece bir çeşit hücre grubuna farklılaşabilme yeteneğine sahiptirler. Bu hücreler erişkin organizmada, tek bir seri boyunca farklılaşabilirler. Ayrıca, doku yenilenmesinde de rol oynarlar. Ancak, daha geniş doku hasarlarında, hasarlı bölgenin tamiri için pluripotent kök hücreler devreye girer (Young ve Black 2004).

4) Kök hücreler özelleşmemişlerdir. Bir kök hücre, bir kalp kasında olduğu gibi kanı vücuda pompalamak için komşu hücrelerle birlikte çalışmaz, eritrositlerde olduğu gibi oksijeni dokulara taşıyamaz. Ancak, özelleşmiş hücelere dönüşmek üzere kaynak oluşturabilirler (Vats ve ark 2005).

1.2.1. Farklılaşma (Plastisite)

Plastisite kavramı, çok hücreli organizmaları meydana getiren hücrelerin uzmanlaşma ve olgunlaşma süreci içerisinde geçirdikleri bir takım değişimi ifade eder. Kök hücre plastisitesi ise bir hücrenin köken aldığı dokunun dışındaki dokulara farklılaşabilme özelliğini tanımlamaktadır (Şahin ve ark 2005). Birden fazla değişik hücre tipine dönüşebilme özelliğine sahip olan kök hücrelerin bu özellikleri elde edildikleri kaynaklara göre farklılık göstermektedir. Yetişkin kök hücrelerin çok sınırlı sayıda hücre tipine dönüşebilmesine karşılık embriyonik kök hücreleri çok daha fazla sayıda değişik hücre tiplerine dönüşebilirler. Diğer hücrelerden farklı olarak kök hücreler herhangi bir dokuya özgü yapıya sahip değildir ve bu nedenle de diğer hücreler gibi ait oldukları dokuya özel görevleri yerine getirmezler. Mesela kök hücreler sinir hücreleri gibi elektrokimyasal sinyaller iletmezler veya çevresindeki benzerleriyle aynı anda kasılan bir kas hücresi gibi davranmazlar. Vücudu oluşturan diğer hücreler bölünmeleri sonucunda kendileriyle özdeş hücreler oluştururlarken kök hücrelerde bu durum çok farklı bir şekilde gelişmektedir. Uygun koşullar altında aldıkları sinyallere göre kök hücreler farklılaşırlar yani farklılaşmamış kök hücreler bu sinyaller vasıtası ile hangi dokuyu oluşturmaları gerekiyorsa o doku hücrelerini meydana getirirler. Bu nedenle organizmanın hem yapım hem de onarımında eksilen hücreler kök hücreler sayesinde yenilenirler (Görkey 2009).

Çizelge 1.2’de görüldüğü üzere kök hücreler değişik hücre tiplerine dönüşebilmektedirler. Bu durumu açıklamak için verilebilecek en uygun örnek embriyonun gelişim aşamasıdır. Döllenmenin ardından mitoz bölünme yoluyla çoğalmaya başlayan ve morula aşamasında totipotent özellik gösteren erken dönem embriyo hücreleri bu özellikleri sayesinde sınırsız farklılaşma özelliğine sahiptirler ve vücudu oluşturan tüm hücrelere dönüşebilirler. Zamanla bu özelliklerini kaybeden hücreler daha sonra pluripotent adı verilen ve totipotentlere nazaran daha sınırlı hücre tiplerine dönüşebilen hücreleri oluştururlar. İlerleyen gelişim süreci ile bu hücreler de multipotent hücre adı verilen ve yalnızca birkaç farklı hücre tipine farklılaşabilen hücrelere dönüşürler (Eridani ve ark 2004).

Çizelge 1.2. Kökenlerine, plastisite etkinliklerine veya plastisite yönlerine göre kök hücre türleri (Prikrylova ve ark 2013).

İsim	Hücre Tipi (Yerleşim)	Farklılaşma Etkinliği	Farklılaşma Yönü
Embriyonal Kök Hücre	Morula Aşamasındaki Hücreler	Totipotent	Embriyo ve Embriyo Dışı Tabakalar
Embriyonal Kök Hücre	Blastosit Aşamasındaki Hücreler	Pluripotent	Embriyo Gövdesi (tüm somatik ve germ hücreleri)
Embriyonal Kök Hücre	Gastrula Aşamasındaki Hücreler	Pluripotent	Endoderm, Mezoderm ve Ektoderm Hücreleri
Embriyonal Kök Hücre	Ektoderm, Endoderm ve Mezoderm Hücreleri	Pluripotent	Tüm Somatik Hücreler
Yetişkin Kök Hücre	Özgün Doku Hücreleri	Multipotent	Hücrenin Bulunduğu Dokuya Göre Bir veya Daha Fazla Türde Hücre (Hemapoetik Kök Hücre)
Yetişkin Kök Hücre	Bir Dokudaki Yerleşik Hücreler	Unipotent	Bir Hücre Tipi (Kas Dokusundaki Uydu Hücreler)

1.2.2. Köklülük (Stemness)

Köklülük kavramı kök hücrelerin sahip oldukları ve onları diğer hücrelerden farklı kılan moleküler ve hücresel özellikleri ifade etmek için kullanılır. Bu özellikler kök hücrelerin moleküler imzası olarak da bilinirler ve özgün gen ifadeleri ya da transkripsiyon ardından gerçekleşen bir dizi değişimlerdir. Bu özellikler sayesinde kök hücreler özgün işlev ve yapılarını farklılaşmadan korurlar (Can 2014).

1.2.3. Kök Hücrenin Kaynağı Olan Dokuya Göre Sınıflama

Kök hücreler elde edildikleri kaynaklara göre temel olarak üçe ayrılırlar.

Bunlar;

1) Embriyonik kök hücreler (EKH): Embriyo, fertilizasyonun 4. veya 5. gününde "blastosist" denilen içi boşluklu hücre topluluklarına dönüşür. Embriyonik kök hücreler, blastosistin iç hücre kitlesindeki hücrelerden (embriyoblastlar) elde edilir ve pluripotent özelliğe sahiptir (Erden 2014).

2) Embriyonik olmayan kök hücreler: Canlının doğumundan sonraki dönemde embriyonik olmayan kaynaklardan elde edilirler. Embriyonik olmayan kök hücreler organizmada birçok doku veya organda bulunabilir. Embriyonik olmayan kök hücrelerin büyüme, çoğalma ve farklılaşma kapasiteleri embriyonik kök hücrelere göre daha düşüktür (Thomson ve ark 1998). Embriyonik olmayan kök hücreler kaynaklarına göre alt sınıflara ayrılırlar:

- a) Erişkin kök hücreler
- b) Fetal kök hücreler
- c) Kadavradan elde edilen kök hücreler
- d) Partonet hücreler
- e) Göbek kordonu ve plasenta kök hücreler

3) İndüklenmiş pluripotent kök hücreler (İpKH): Shinya Yamanaka'nın ekibi, 2006 yılında Kyoto Üniversitesi'nde ilk kez uyarılmış pluripotent kök hücreler ürettirler. Çalışmalarında embriyonik kök hücrelerde önemli olan 24 transkripsiyon faktörünü tek tek deneyerek fare fibroblastlarına retrovirüs yardımıyla gen transfeksiyonu yaptılar. Sonuçta Oct4, Sox2, c-Myc ve Klf4 genlerinin fibroblastlara aktarılması sonucunda somatik bir hücreye pluripotent kök hücre özelliği kazandırdıklarını bildirmişlerdir (Takahashi ve Yamanaka 2006). İndüklenmiş pluripotent kök hücreler, bazı kök hücre genlerinin ve proteinlerinin ekspresyonu, kromatin metilasyon kalıpları, ikiye katlama süresi, embriyoid vücut oluşumu, teratom oluşumu gibi birçok açıdan embriyonik kök (ES) hücreler gibi doğal pluripotent kök hücrelere benzerlerdir. İpKH'ler kimera oluşumu, potens ve farklılaşabilirlik açısından embriyonik kök hücreler benzerlerdir ancak bunların doğal pluripotent kök hücrelerle olan ilişkilerinin tam kapsamı hala değerlendirilmektedir (Takahashi ve Yamanaka 2006).

1.2.4. Kök Hücre Çeşitleri

1.2.4.1. Mezenkimal Kök Hücre

Mezenkimal kök hücreler ilk olarak 1970’te Friedenstein tarafından keşfedildi (Friedenstein ve ark 1970). Mezenkimal kök hücreler, in vitro ve iv vivo olarak, kemik, kıkırdak, tendon, kas gibi mezenkimal doku hücrelerine dönüşebilen multipotent özellik gösteren kök hücreler olarak tanımlanır (Prockop 1997). Mezenkimal kök hücreler tarif edilirken birçok farklı isim kullanılmıştır. Önceleri bu tip hücreler “Koloni oluşturan birim-fibroblast (Colony forming unit-fibroblast/CFU-F)” veya “Kemik iliği stromal fibroblast (MSF)” olarak adlandırılmışlardır (Castro-Malasipina 1980, Kuznetsov 2001). Günümüzde ise en çok tercih edilen kullanımlar “Kemik iliği stromal hücreler”, “Mezenkimal kök hücreler (MKH/Mesenchymal stem cell/MSC)” veya “Mezenkimal öncül kök hücreler (MÖH)” terimleridir (Conget ve Minguell 1999).

Belirtildiği gibi, MKH’ler ilk olarak kemik iliğinde yüksek hücre devri ve rejenerasyon oranına sahip yarı katı bir dokuda bulunmuştur (Friedenstein ve ark 1970). Daha sonra epidermis (Rheinwald ve Green 1975, Huang ve ark 2013, Salerno ve ark 2017) ve bağırsak dokusu (Lanzoni ve ark 2009) gibi hücre döngüsü ve rejenerasyon hızı yüksek olan diğer dokuların da MKH’lere sahip olduğu keşfedildi. Buna bağlı olarak araştırmacılar dokuların MKH’lere sahip olabilmemesinin ön koşullarının yüksek hücre devri ve hızlı rejenerasyon olduğunu bildirdiler. Çok daha sonra, bilim adamları MKH’lerin hücrelerin düşük hücre döngüsüne ve yüksek bir yenilenme oranına sahip olduğu yağ dokusundan da izole edilebileceğini keşfettiler (Zuk ve ark 2002). Son olarak, MKH’ler böbrek gibi düşük hücre devri ve düşük rejenerasyon oranına sahip organların dokularında da bulunmuştur (Bruno ve ark 2009). Bahsedilen dokuların yanı sıra, MKH’lerin izole edilebileceği diğer dokular arasında diş pulpası (Alkhalil ve ark 2015) veya folikül (Haddouti ve ark 2009), periferik kan (Cao ve ark 2005), saç folikülü (Liu ve ark 2010), göbek kordonu (Lee ve ark 2004), Wharton jeli (Wang ve ark 2004), amniyotik sıvı (Steigmann ve Fauza 2007, Moraghebi 2017) gibi birkaç yenidoğan dokusu (da Silva Meirelles ve ark 2006) ve plasentada bulunmaktadır (In’t Anker ve ark 2004). Geniş farklılaşma potansiyeli ve birçok doku ve organdan izole edilebilmeleri MKH’leri rejeneratif tıpta kullanım için değerli bir kök hücre türü haline getirmektedir. Uluslararası Hücresel Terapi

Derneği, Mezenkimal ve Doku Kök Hücre Komitesi MKH'leri tanımlamak için bazı kriterler açıklamıştır. İlk kriter, MKH'lerin plastiğe bağlı kalması gerektiğidir yani uygun kültür koşullarında plastik yüzeye yapışma göstermeleridir, bu da izolasyon prosedürünü basitleştirir. İkinci kriter olarak mezenkimal kök hücrelerin hücre yüzeylerinde CD73, CD90, CD105, CD133 yüzey belirteçlerinin %90'dan fazla ekspresyonu ve CD14, CD34, CD45, CD11b, CD19, CD79 α , antijen-DR (HLA-DR) yüzey belirteçlerinin %10'den daha az ekspresyonu gerekmektedir (Ural 2009).

Üçüncü kriter, MKH'lerin genellikle Alizarin Red S, Oil Red O ve Alcian Blue özel boyamalar ile boyanabilmesi in vitro olarak osteoblastlar, adipositler ve kondrositlere farklılaşma yeteneğine sahip olmasını gerektirir (Horwitz ve ark 2005, Dominici ve ark 2006). Bu özellikler tüm MKH için geçerli olmalıdır, ancak farklı dokulardan izole edilen MKH arasında bazı farklılıklar vardır. MKH, mezenkimal orijinli olmaları ve mezenkimal dokular için progenitör özellik göstermelerinin yanında nonmezenkimal doku hücrelerine de dönüşebilme yeteneğine sahip kök hücreleridir (Kopen ve ark 1999). MKH'nin kolay izole edilebilme ve kültürde çoğaltılması ile ex vivo yayılma potansiyellerinin yüksek olması klinik olarak hem hücresel hem de gen düzeyinde tedavilerde bu hücreleri değerli kılmaktadır (Ashara 2000). Bir kök hücrenin mezenkimal kök hücre olduğunun kesin olarak tanımlamasının nasıl yapılacağı konusu uzun bir süre tartışılmıştır. En sağlıklı ayırımın hücrenin fenotipik belirteçlerine ve fonksiyonel özelliklerine göre yapılabileceği kabul görmüştür. Bu fikirden hareketle mezenkimal kök hücreleri tanımlamak için bazı ölçütler belirlenmiştir (Spitkovsky 2008).

Kemik iliği MKH, immunfenotipik olarak tek bir özellik göstermezler. Mezenkimal öncül hücreler, hematopoietik kaynaklı olan ve olmayan birtakım büyüme unsurları, sitokin, kemokin ve hücre dışı matriks proteinlerini sentezleme ile interlökinleri ve kemokinleri üretme yeteneği gösterirler (Conget ve Minguell 1999) MKH'nin klinik potansiyeli, kaynağı ne olursa olsun MKH'nin MHC sınıf I antijenlerini eksprese etmediği (veya çok düşük seviyelerde) ve MHC sınıf II antijenlerinin yalnızca düşük ekspresyonuna sahip olduğu bulgusuyla beslenmiştir. Ek olarak, bir bağışıklık tepkisi başlatmak için gerekli olan B7 ailesinin ortak uyarıcı moleküllerinden yoksundurlar. Bu benzersiz özellik, MSC preparatlarının MHC

bariyerlerini immünolojik ret endişesi olmadan aşmasına ve MKH'yi evrensel bir kök hücre kaynağı yapan immünosupresyon ihtiya ına izin verir (Friedman ve ark 2007).

MKH farklılaşma yetenekleri fazladır, köken aldıkları konnektif doku hücrelerine ve diğer doku hücrelerine farklılaşma özelliği gösterirler. Hasarlı hücre ile füzyon yeteneğine sahip olmaları bunun yanında immünosupresif özelliklerinin ve stroma desteği sağlayıcı özelliklerinin olması kök hücre ve organ transplantasyonunda kullanımları açısından önemlidir (Pittenger ve ark 1999). Kemik iliğinde bulunan MKH'nın önemli bir başka özelliği kemik iliğinde uygun hematopoetik mikro-çevrenin (niş) oluşumuna katkıda bulunmasıdır. MKH, kemik iliğinde uygun bir mikro- evre sağlayarak hematopoetik kök hücrelerin kendi kendilerini yenileme, proliferasyon ve farklılaşma üzerine negatif ve pozitif düzenleyici etki göstermelerinin yanında VEGF-G, OCCL12, VEGF-A, Angpt-1, M-CSF, Flt-3, Ligand, Angpt-2 gibi çeşitli büyüme faktörlerini ve kemokinleri de salgılayarak hematopoetik kök hücreler üzerindeki kontrol etkisini oluşturur (Valtieri ve ark 2008). MKH, birçok doku ve organdan izole edilebilmektedir ( izelge 1.3).

Çizelge 1.3. Yetişkin kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin elde edildiği doku ve organlar (Can 2014).

Doku/Organ	Kaynaklar (ilk tanımlayanlar)
Fetus ve yenidoğana ait doku ve organlar	
Amniyon sıvısı	In't Anker ve ark 2003
Amniyon zarı	In't Anker ve ark 2003
Dermis	Young ve ark. 2001; Toma ve ark 2005
Göbek kordonu kanı	Erices ve ark 2000
Göbek kordonu stroması	Wank ve ark 2004
Göbek kordon ven duvarı	Cavas ve ark 2003; Romanov ve ark 2003
İskelet kası	Young ve ark 2001
Karaciğer	Campagnoli ve ark 2001
Kemik iliği	Campagnoli ve ark 2001
Pankreas	Hu ve ark 2003
Periferik kan	Campagnoli ve ark 2001
Plasenta	Zhang ve ark 2003
Yetişkin doku ve organları	
Akciğer	Sabatini ve ark 2005
Dalak	Krampera ve ark 2007
Dermis	Young ve ark 2001
Diş pulpası	Gronthos ve ark 2000
Endometrium	Schwab ve Gargett 2007
Fallop tüpleri	Jazedze ve ark 2009
Göz (limbus)	Polisetty ve ark 2008
İntervertebral disk	Rizbud ve ark 2007
İskelet kası	Williams ve ark 1999
Kemik	Bruder ve ark 1997
Kemik iliği	Castro-Malaspina ve ark 1980
Kıkırdak	Alsalamhah ve ark 2004
Kıl folikülü	Jahoda ve ark 2003
Menstüral kan	Cui ve ark 2007

Çizelge 1.3 Devam. Yetişkin kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin elde edildiği doku ve organlar (Can 2014).

Doku/Organ	Kaynaklar (ilk tanımlayanlar)
Yetişkin doku ve organları	
Pankreas adacıkları	Gallo ve ark 2007
Pankreas duktus epiteli	Seeberger ve ark 2006
Periferik kan	Fernandez ve ark 1997
Periost	Nakahara ve ark 1991
Periyodontal ligament	Seo ve ark 2004
Retina	Covas ve ark 2008
Sinoviya zarı ve sıvısı	De Bari ve ark 2001
Süt dişi pulpası	Miura ve ark 2003
Tendon	Young ve ark 1998
Timus	Krampera ve ark 2007
Visseral ligamentler	Cheng ve ark 2009
Yağ dokusu	Zuk ve ark 2001

1.2.5. Mezenkimal Kök Hücre Kaynağı Olarak Kemik İliği ve Dental Pulpa

Klinik öncesi geliştirme ve klinik uygulamalarla ilgili olarak, Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre (Kİ-MKH) elde etmek, ağrılı ve rahatsız edici bir prosedür olan kemik iliği biyopsisini içerir. Dahası Kİ-MKH yaşla birlikte proliferatif kapasitesini kaybetme eğilimindedir ve 20 yaşından sonra farklılaşma yeteneklerinde önemli bir düşüş olduğu görülmektedir. Heidelberg'deki grup (Wagner 2005), bir gen dizisinde, çeşitli MKH kaynakları (BM, CB, AT) arasında genlerin farklı ifadesini ve HS68 fibroblastları karşılaştırdıkları çalışmada 25 genin örtüştüğünü ve yukarı regüle edildiğini ve hepsinin hücre dışı matris, morfojen ve gelişimle ilgili olan fibronektin, ECM2, glipican-4, ID1, NF1B, HOXA5 ve HOXB6'yı içerdiğini tespit etti. Genetik düzeydeki bu farklılıkların, rejeneratif tıp için yetişkin kök hücreler olarak işlevlerine göre herhangi bir önemi olup olmadığı bu noktada belirsizdir. Diş oluşumu sırasında, epitel ve dental papilladan gelen hücreler etkileşime girer ve DP-MKH'nin primer dentin DP-MKH'yi oluşturabilen odontoblastlara farklılaşmasını destekler. İlk çalışmalar, DP-MKH'nin kemik ve nöronlara farklılaşma için bir üstünlüğe sahip olduğunu göstermiştir (Gronthos ve ark 2002, Yu ve ark 2007). DP-MKH, gelişim

sırasında krista nöralis hücrelerinden ve mezenkimal hücrelerden kaynaklanır. Krista nöralis, nöral dokuyu oluşturan ve nöral hücre soylarına farklılaşma potansiyeline sahip progenitör hücreler ile aynı kaynağı paylaşır. DP-MKH, nestin gibi nöral belirteçleri ifade etmek üzere uyarılmıştır ve Parkinson hastalığının yanı sıra ilgili nörodejeneratif hastalıkları ve omurilik yaralanmalarını tedavi etmek için klinik öncesi modellerde aktif olarak araştırılmaktadır (Kolar 2017). Ayrıca ölü sinir hücrelerinin yerini aldıkları ve Alzheimer hastalığı ve felç için terapötik etkileri olabilecek dejenere sinir hücrelerini destekledikleri görülmüştür.



2. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmanın materyalini Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen toplam 76 adet, 250-300 g ağırlığında 12-24 haftalık erkek Wistar Albino ratlar oluşturmuştur. Ratların 4 adedi dental pulpalarından ve kemik iliklerinden MKH elde edilmesi için, 72 adedi ise deney gruplarını oluşturmak için kullanılmıştır.

2.1. Deney Gruplarının Belirlenmesi

Deney gruplarını oluşturmak için kullanılan 72 adet rat rastgele 9'lu 8 grup oluşturacak şekilde gruplara ayrılmıştır (Şekil 2.1). Ratların sinir hasarı verilmemiş sol ayakları pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

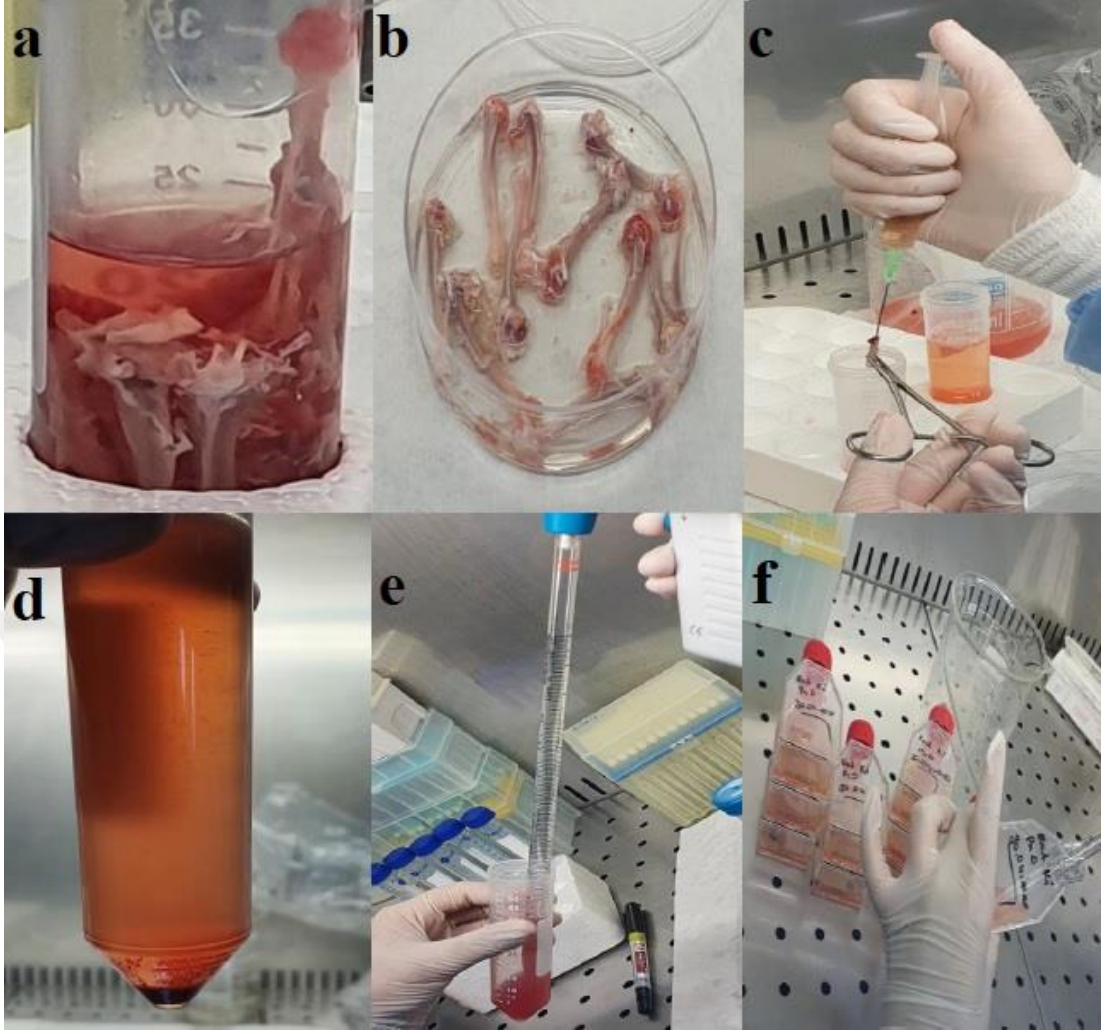


Çizelge 2.1. Deney grupları.

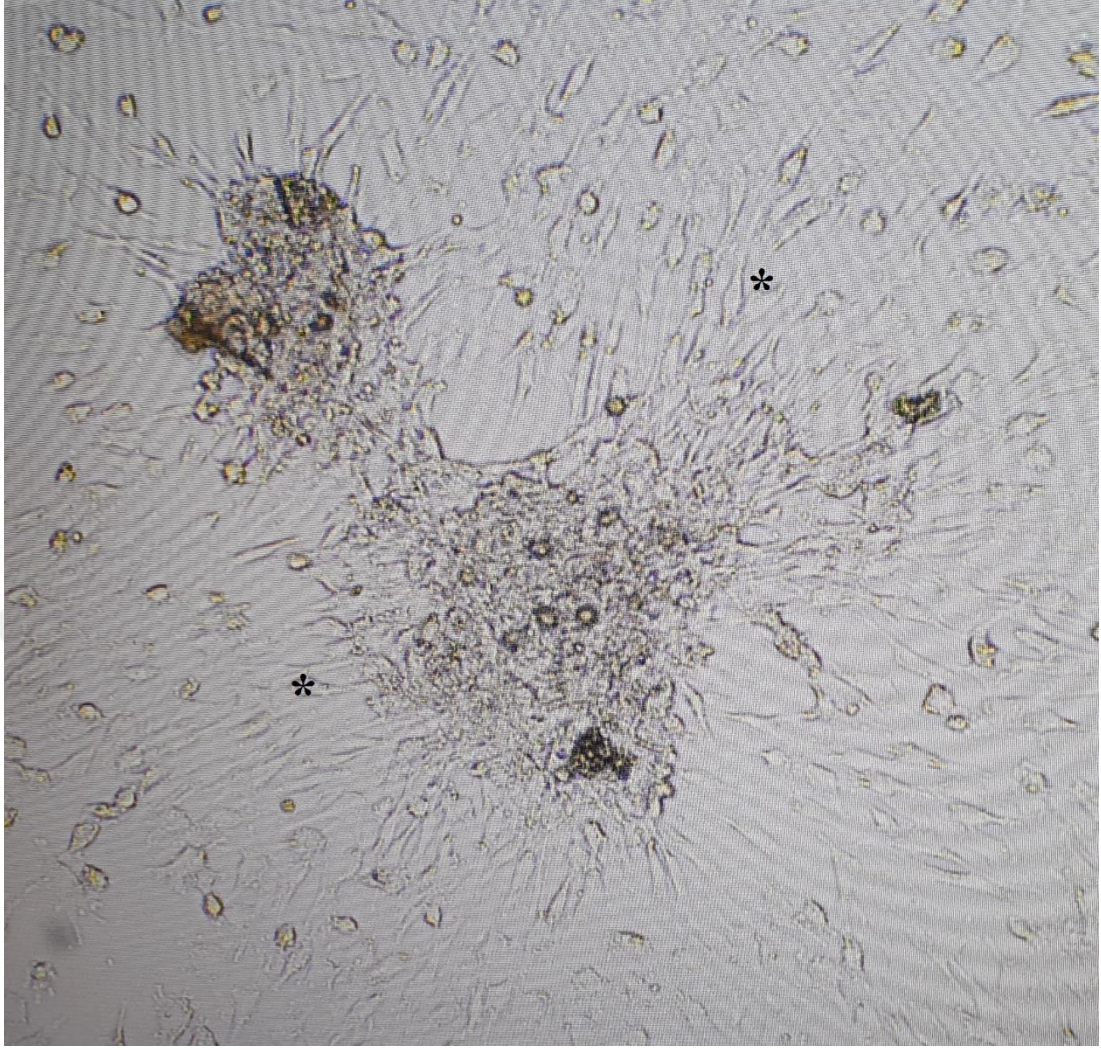
1. GRUP SHAM TEK UYGULAMA	•Hasar sonrası tek doz serum fizyolojik (%0,9 NaCl) uygulandı. Operasyon sonrası 28 gün sonra ötenazi edildi.
2. GRUP SHAM ÇİFT UYGULAMA	•Hasar sonrası serum fizyolojik (%0,9 NaCl) uygulandı. 13 gün sonra ikinci doz serum fizyolojik (%0,9 NaCl) uygulandı. Operasyon sonrası 28 gün sonra ötenazi edildi.
3. GRUP Kİ-MKH TEK UYGULAMA	•Hasar sonrası tek doz 1×10^6 Rat Kemik İliği kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre uygulandı. Operasyon sonrası 28 gün sonra ötenazi edildi.
4. GRUP Kİ-MKH ÇİFT UYGULAMA	•Hasar sonrası 1×10^6 Rat Kemik İliği kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre uygulandı. 13 gün sonra ikinci doz 1×10^6 Rat Kemik İliği kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre uygulandı. Operasyon sonrası 28 gün sonra ötenazi edildi.
5. GRUP DP-MKH TEK UYGULAMA	•Hasar sonrası tek doz 1×10^6 Rat Dental Pulpa kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre uygulandı. Operasyon sonrası 28 gün sonra ötenazi edildi.
6. GRUP DP-MKH ÇİFT UYGULAMA	•Hasar sonrası 1×10^6 Rat Dental Pulpa kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre uygulandı. 13 gün sonra ikinci doz 1×10^6 Rat Dental Pulpa kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre uygulandı. Operasyon sonrası 28 gün sonra ötenazi edildi.
7. GRUP Kİ+DP-MKH TEK UYGULAMA	•Hasar sonrası tek doz $0,5 \times 10^6$ Rat Kemik İliği kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre ve $0,5 \times 10^6$ Rat Dental Pulpa kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre birlikte uygulandı. Operasyon sonrası 28 gün sonra ötenazi edildi.
8. GRUP Kİ+DP-MKH ÇİFT UYGULAMA	•Hasar sonrası $0,5 \times 10^6$ Rat Kemik İliği kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre ve $0,5 \times 10^6$ Rat Dental Pulpa kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre birlikte uygulandı. 13 gün sonra ikinci doz $0,5 \times 10^6$ Rat Kemik İliği kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre ve $0,5 \times 10^6$ Rat Dental Pulpa kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre birlikte uygulandı. Operasyon sonrası 28 gün sonra ötenazi edildi.
9. GRUP KONTROL	•Ratların hiçbir şey yapılmayarak herhangi bir müdahalede bulunulmayan, sol ayakları kontrol grubu olarak alınmıştır. Operasyon sonrası 28 gün sonra ötenazi edildi.

2.2. Kemik İliği Kökenli Mezenkimal Kök Hücre Elde Edilmesi

Kemik iliği kökenli MKH elde edilmesi için 4 rat, uygun dozlarda xylazine HCl (5-13 mg/kg, İM) ve ketamin HCl (40-87 mg/kg, İM) uygulanarak genel anestezi altına alındı ardından servikal dislokasyon yöntemi ile ötenazi edildi. Ratların femur ve tibia kemikleri kas ve bağ dokudan temizlendi (Şekil 2.2). Daha sonra kemikler alkol içerisinde yarım saat bekletildi. Kemikler alkolden alındıktan sonra %1 penisilin streptomisin içeren D-PBS ile yıkandı. Femur ve tibia distalde epifiz bölgesinden, proksimalde metafiz bölgesinde makas ile kesildi. Bir insülin enjektörü yardımıyla RPMI besiyeri kemikten geçirilerek kemik iliği 50 ml santrifüj tüpü içerisine aktarıldı. Kemik iliği besiyeri içinde süspanse edildi ve 70 µm'lik cell stainer süzgeçten geçirilerek 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası supernatant uzaklaştırıldı ve pelet RPMI besiyeri ile süspanse edilerek tekrar 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Oluşan pellet 5 ml K-RPMI (Kültür-RPMI; RPMI 1640, FBS, Amfoterisin-B ve Penisilin-Streptomisin karışımı) ile süspanse edildi ve T25'lik flasklara aktarıldı. Ekim sonrası 3 gün boyunca 37°C'de %5 CO₂ ile inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası doku kalıntılarını kültürden uzaklaştırmak için K-RPMI besiyeri tamamen çekilerek D-PBS ile flask yıkandı. D-PBS ortamdan uzaklaştırılarak tekrar K-RPMI besiyeri eklendi ve inkübatöre kaldırıldı. Hücreler %80 doluluk oranına ulaştıktan sonra üç pasajlama işlemi yapıldı (Şekil 2.3). Üçüncü pasajlamadan sonra MKH varlığının kontrolü için flow sitometri cihazı ile CD44+, CD90+, CD29+ ve CD45- yüzey belirteçlerine bakıldı. Geri kalan hücreler kuru buz üstünde dimethyl sulfoxide (DMSO) ile donduruldu. Çalışmada kullanılan kemik iliği kaynaklı MKH farklılaştırma işlemi uygulanmamıştır.



Şekil 2.1. Ratların Kİ-MKH elde edilme aşamaları. a-b, rat femur ve tibia kemiği; c, kaputları kesilen femurun kemik iliğinin besi yeri yardımıyla santrifüj tüpüne aktarılması; d, santrifüj edilmiş pelet halinde kemik iliği; e, santrifüj sonrası peletin besi yeri ile karıştırılması; f, hücrelerin flasklara ekimi.

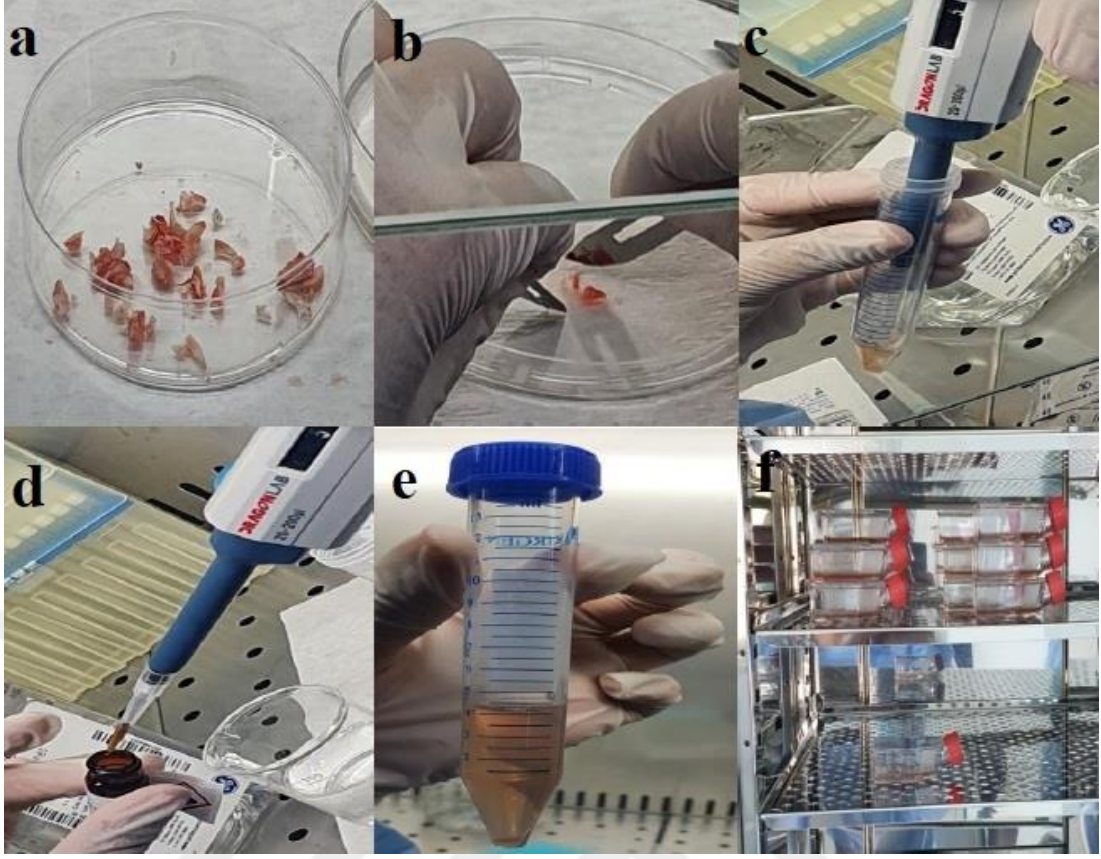


Şekil 2.2. Işık mikroskobu altında MKH kültürü. Flask yüzeyine adezyon halindeki MKH (*) (10x büyütme).

2.3. Dental Pulpa Kökenli Mezenkimal Kök Hücre Elde Edilmesi

Dental pulpa kökenli MKH elde edilmesi için 4 rat, uygun dozlarda xylazine HCl (5-13 mg/kg, İM) ve ketamin HCl (40-87 mg/kg, Richter Pharma AG, Avusturya, İM) uygulanarak genel anestezi altına alındı ardından servikal dislokasyon yöntemi ile ötenazi edildi. Ratların molar dişleri çıkarıldı, dişin etrafını saran dokular ilk olarak %1 penisilin streptomisin içeren DPBS ile yıkandı (Şekil 2.4). Daha sonra diş minesi pens ile dikkatlice kırıldı ve pulpa ortaya çıkarıldı. Pulpa enzimatik tepkime için yüzey alanını arttırmak amacı ile bisturi ile mekanik parçalama işlemine tabi tutuldu. Ardından 15 ml'lik falkon santrifüj tüplerine alındı. Tüp içerisinde 3 mg/ml Kollejenaz Tip 1 HBSS solüsyonu ile doku süspansiyon edilerek, 37°C'de %5 CO₂ ile 60 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrası D-PBS hücre kültür solüsyonu ile enzimatik tepkime sonlandırıldı. Ortaya çıkan süspansiyon, 70 µm'lik filtreden geçirildi. 1500 rpm'de 5

dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant döküldü. Pelet K-MEM alfa (Kültür medium alfa; MEM alfa, FBS, Gluta Max, Amfoterisin-B ve Penisilin-Streptomisin karışımı) ile süspanse edildi. 1500 rpm’de 5 dk’lık yıkama için santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant döküldü, pelet yaklaşık 5 ml K-MEM alfa ile sulandırıldı ve T25’lik flaslara ekildi. Ekim sonrası 3 gün boyunca 37°C’de %5 CO₂ ile inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonrası doku kalıntılarını kültürden uzaklaştırmak için K-MEM alfa besiyeri tamamen çekildi ve D-PBS ile flask yıkandı. D-PBS ortamdan uzaklaştırıldı tekrar K-MEM alfa besiyeri eklendi ve inkübatöre kaldırıldı. Hücreler %80 doluluk oranına ulaştıktan sonra üç pasajlama işlemi yapıldı. Üçüncü pasajlamadan sonra MKH varlığının kontrolü için flow sitometri cihazı ile CD29+, CD44+, CD90+ ve CD45- yüzey belirteçlerine bakıldı. Geri kalan hücreler kuru buz üstünde DMSO ile donduruldu. Çalışmamızda farklılaştırılmamış dental pulpa kaynaklı MKH kullanılmıştır.

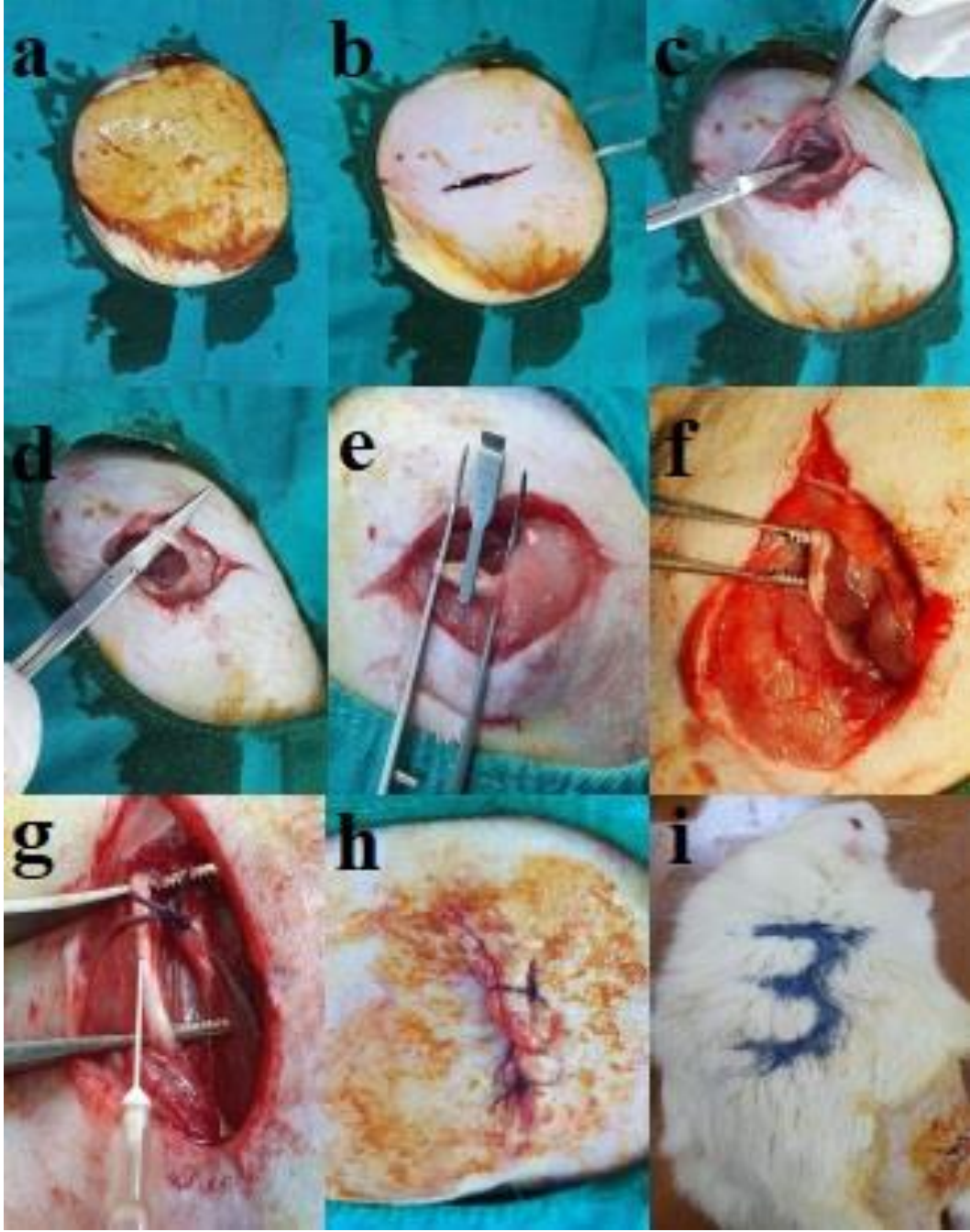


Şekil 2.3. Ratları dişlerinden DP-MKH elde edilme işlemi. a, rat dişleri; b, rat dişlerinden ayıklanan pulpanın bistüri yardımıyla parçalanması; c, dental pulpanın santrifüj tüpüne alınması; d, enzimin dental pulpaya eklenmesi; e, santrifüj sonrası pelet; f, besi yerlerine ekilen hücrelerin inkübatöre alınması.

2.4. Nervus İshiaducus'da Hasar Oluşturulması ve Kök Hücre Transplantasyonu

Nervus ishiaducus hasarı oluşturulacak hayvanlar, uygun dozlarda xylazine HCl (5-13 mg/kg, İM) ve ketamin HCl (40-87 mg/kg, İM) uygulanarak genel anestezi altına alındı (Şekil 2.5). Sterno-abdominal olarak yatırılıp sabitlendikten sonra genel anesteziye ratların sağ uyluk lateral bölgeleri tıraşlandı. Operasyon bölgesinin, povidon-iyot çözeltisi (%10) ve alkol (%70) ile asepsi ve antisepsisi yapıldı. Hasar modeli olarak rastgele seçilen ratlarda sağ femur boyunca yaklaşık 1,5 cm'lik deri ensizyonu yapıldı. Ardından fasya lata ensize edildi ve biceps femoris ve yüzeysel gluteal kaslar ekarte edilerek nervus ishiaducus ortaya çıkarıldı. İnternal obturator kanaldan 1mm uzaklıkta, trifurkasyonun 10 mm proksimalinde nervus ishiaducus'un 2 mm'lik kısmına 1,5 g/mm² basınç-sıkıştırma kuvveti, 20 dk boyunca B-3V damar klemp (S&T Marketing Ltd, Neuhausen, Switzerland) yardımıyla uygulandı ve buna bağlı olarak iskemi oluşturuldu. Hasar oluşturulan bölgenin 1 mm proksimaline

Polipropilen 9-0 ile epinöriumdan işaretleme uygulandı. Ardından deney gruplarına göre ayrılan hayvanlara kemik iliği kaynaklı ve dental pulpa kaynaklı MKH ve serum fizyolojik uygulandı. Tüm ratların deri ve deri altı dokuları homeostasisine dikkat edilerek kapatıldı. Post-operatif analjezik olarak fluniksin meglumin (2,5 mg/kg, SC) uygulandı. Profilaksi amacıyla 5 gün boyunca 24 saatte bir sefazolin (15-25 mg/kg, SC) uygulandı. Hayvanlar 4 hafta $21\pm1^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında, 12 saatlik karanlık aydınlık döngüsü ve ad libidum ile yaşatıldı. Yirmisekiz gün sonra hayvanların yüksek doz genel anestezi xylazine HCl + ketamin HCl; sırasıyla, 10 mg/kg ve 90 mg/kg, İM) altında servikal dislokasyon ile ötenazi işlemi yapıldı ve sağ nervus ishiaducus üzerinde işlem yapılmış olan 10 mm'lik bölüm çıkartıldı. Kontrol grubu oluşturmak için 7 adet ratın sol nervus ishiaducus'u üzerinden 10 mm'lik bölüm çıkartıldı (Carriel ve ark 2013). Çift uygulama yapılacak ratlar 13 gün sonra, xylazin HCl (5-13 mg/kg, İM) ve ketamin HCl (40-87 mg/kg, İM) uygulanarak genel anestezi altına alındı (Şekil 2.5). Sterno-abdominal olarak yatırılıp sabitlendikten sonra anestezi altındaki ratların sağ uyluk lateral bölgeleri tıraşlandı. Operasyon bölgesinin povidon-iyot çözeltisi (%10) ve alkol (%70) ile asepsi ve antisepsisi yapıldı. Hasar modeli olarak rastgele seçilen ratlarda sağ femur boyunca yaklaşık 1,5 cm'lik deri ensizyonu yapıldı. Ardından fasya lata ensize edildi ve biceps femoris ve yüzeysel gluteal kaslar ekarte edilerek nervus ishiaducus ortaya çıkarıldı. Polipropilen 9-0 ile işaretleme uygulanmış olan epinöryum katmanına deney gruplarına göre kemik iliği kaynaklı ve dental pulpa kaynaklı MKH ve serum fizyolojik uygulandı.



Şekil 2.4. Sinir hasarı oluşturulması ve kök hücre transplantasyonu aşamaları. a, anestezi altındaki ratların operasyon bölgesinin asepti antiseptisi; b, cerrahi ensizyon, c, fasya latanın ensizyonu; d, nervus ishiaducus'un ortaya çıkarılması; e, B-3V damar klembinin nervus ishiadicus'a uygulanması; f, iskemi oluşturulmuş sinir; g, epinöryum katmanına kök hücre uygulanması; h, ensizyon hattının kapatılması; i, ratların numara ile işaretlendirilmesi.

2.5. Değerlendirme Yöntemleri

Uygulama etkilerinin değerlendirilmesi açısından; motor iyileşmeyi kontrol için, hayvanlar operasyon sonrası 7, 14, 21 ve 28. günlerde önce foot-print (ayak izi) testine tabi tutuldu (Şekil 2.6). Bu testte ayak altları mürekkep ile boyanan hayvanların kâğıt üzerindeki yürüme hareketlerine göre motor işlevleri değerlendirildi.

Operasyon sonrası 28. günde son yürüme analizi yapıldıktan sonra periferik sinirde morfometrik parametrelerin değerlendirilmesi açısından deney gruplarını oluşturan 72 rat ötenazi edildi ve 72 rata ait hasar verilen sağ nervus ishiaducus ile bu deney gruplarından rastgele seçilen 7 ratın hasar verilmeyen ve herhangi bir uygulama yapılmayan sol nervus ishiaducus'u çıkartıldı ve %10'luk formalde 24 saat tespit edildi. Ardından rutin histolojik yöntemler ile parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklama sonrası 4 µm kalınlığında, longitudinal ve transversal olarak kesitler alındı.

Kesitler parafinden arındırılmak için gece boyunca 37°C'de etüvde bekletildikten sonra ksilol serilerinden geçirilerek deparafinize edildi. Ardından dereceli alkol serilerinden geçirilerek rehidratasyon yapıldı ve hematoksilin eozin boyama yöntemi ile boyandı. Preparatlar ışık mikroskobu altında değerlendirildi ve gerekli görülen bölgeler fotoğraflandırıldı (Olympus E-PL3, Japonya).

Perinöriyum ve Fasikül bütünlüğü: Korunmuş – Bozulmuş şeklinde değerlendirilmiştir. Vasküler yoğunluk ve inflamatuvar hücre yoğunluğu değerlendirmesi: Hafif Derecede Artmış, Orta Derecede Artmış ve Yok şeklinde değerlendirilmiştir. Ödem, Nekroz/Dejenerasyon ve Kanama: Var – Yok şeklinde değerlendirilmiştir.

İmmunohistokimyasal analiz için pozitif yüklü lamlara 4-5 µm kalınlığında parafin kesitler alındı. Kesitler etüvde 60°C'de 30 dakika tutuldu. Kesitler Parafin ekstraksiyonu ve rehidrasyonu yapıldı. Kesitler PBS ile yıkandıktan sonra %3 H₂O₂'de 20 dakika tutularak endojen peroksidaz inaktivasyonu sağlandı. Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak için Sitrat Buffer (pH 6) antijen retrieval solüsyonu ile 20 dk 750 watt'da muamele edildi. Daha sonra 2x5 dk. PBS ile yıkanan kesitler Ultra V blok ile 5 dakika muamele edildi. Kesitlere yıkama işlemi gerçekleştirilmeden S100

Monoclonal Antibody ile 37°C de 1/200 dilusyon oranında 60 dk. süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda 4x5 dk. PBS ile yıkanan dokularda sırasıyla Biotinylated Goat Anti-Polyvalent ve Streptavidin Peroxidase ile işlemler arası 2x5 dk. PBS yıkanarak 10 dk. muamele edildi. Kromojen olarak 3,3 diaminobenzidine (DAB) kullanıldı. Kesitler distile su ile yıkama sonrasında Mayer's hematoksilin ile zıt boyama yapıldı. Kesitler alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek kapatıldı. Preparatlar ışık mikroskobu (Olympus BX51, Tokyo, Japonya) altında incelendi.

İmmünohistokimyasal olarak anti-S100 ile boyanan preparatlarda nokta sayım cetveli ile skorlandı. Nokta sayım cetveli, bir asetat üzerinde eşit aralıklarla işaretlenmiş + işaretlerinden oluşmaktadır. Her bir + kendi etrafındaki birim alanı temsil etmektedir. Dolayısı elde edilen nokta sayısı yüzdeye çevrilerek yüzde oranları belirlendi (Howard ve Reed 1998) (Şekil 2. 6). Dijital mikroskopta preparatlara 40X objektif büyütmesi uygulandıktan sonra elde edilen dijital görüntüler monitör üzerinde nokta sayım cetveli kullanılarak analiz edildi (Şekil 2. 6).



+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Şekil 2. 5. Nokta sayım cetveli: Kare alanlar + işaretinin temsil ettiği birim alanı göstermektedir.

H&E ve anti-S100 immunohistokimyasal yöntemler ile boyandı. Preparatlar ışık mikroskobunda değerlendirildi (Olympus E-EPL3, Japonya) ve gerekli görülen bölgeler fotoğraflandı.

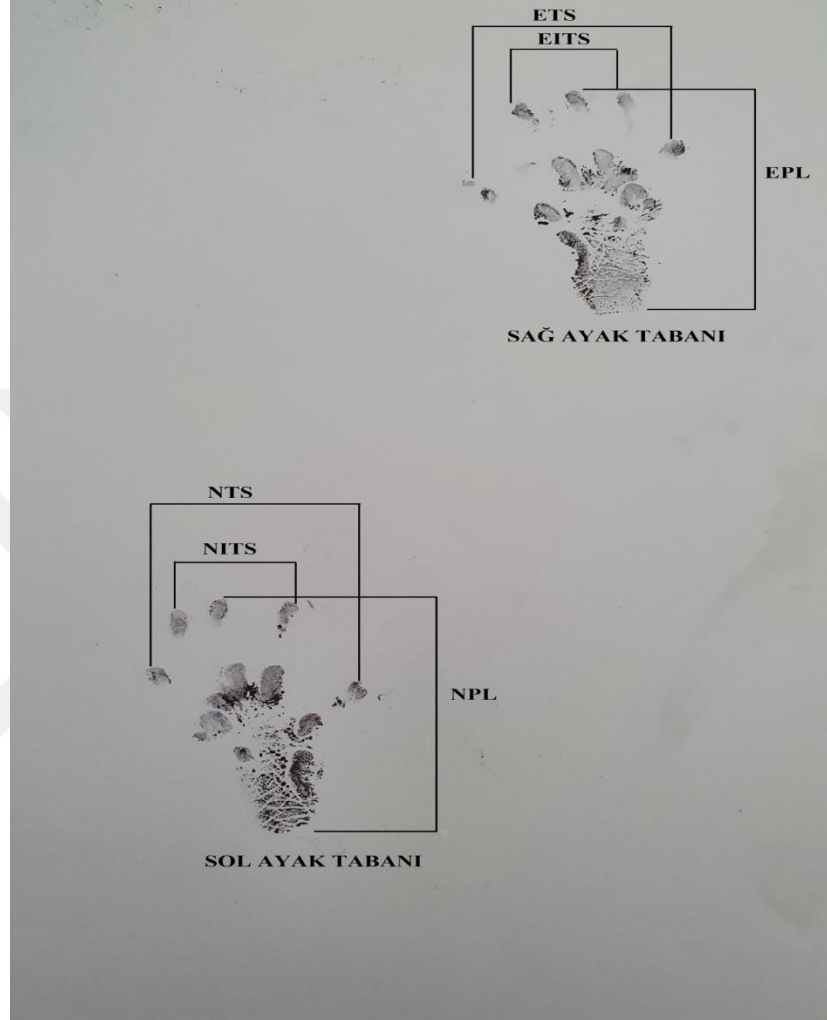


Şekil 2.6. SFI için ratların yürütülmesi. a, ratların ayak altlarının stampa mürekkebi ile boyanması; b, stampa mürekkebi ile boyanma; c, yürüme koridoru; d, yürüme sonrası oluşmuş ayak izleri.

2.5.2. Siyatik Sinir Fonksiyon İndeksinin Hesaplanması

Ratların hasarlı sinirlerin iyileşme kontrolü için siyatik fonksiyonel indeksine (Sciatic functional index=SFI) operasyon sonrası 7, 14, 21, ve 28. günlerde bakıldı. SFI hesaplanmasında ratların arka ayakları siyah mürekkep ile boyandı ardından düz bir doğrultuda yürümeleri için 8 cm eninde 40 cm uzunluğunda kenarları 15 cm yüksekliğinde sonu karanlık bir kutuya çıkan ahşap bir koridordan beyaz kâğıt üzerinde ratlar yürütüldü (Kanaya ve ark 1996, Ozmen ve ark 2002, Varejao ve ark 2004, Varejao ve ark 2001). Operasyon sonrası 7, 14, 21, ve 28. günlerde ayakları

mürekkep ile boyandıktan sonra beyaz kâğıt üzerinde yürütülerek nervus ishiaducus hasarlı ayağın ve normal ayağın kâğıt üzerindeki izlerinin fotoğrafı çekildi (OLYMPUS E-PL3, Japonya) ve her bir denek için SFI değerleri hesaplandı (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. SFI ölçümü için ayak tabanlarının izleri (VII. Grup KI+DP-MKH tek uygulama grubu 4. Hafta 1 numaralı rata ait ayak taban izleri).

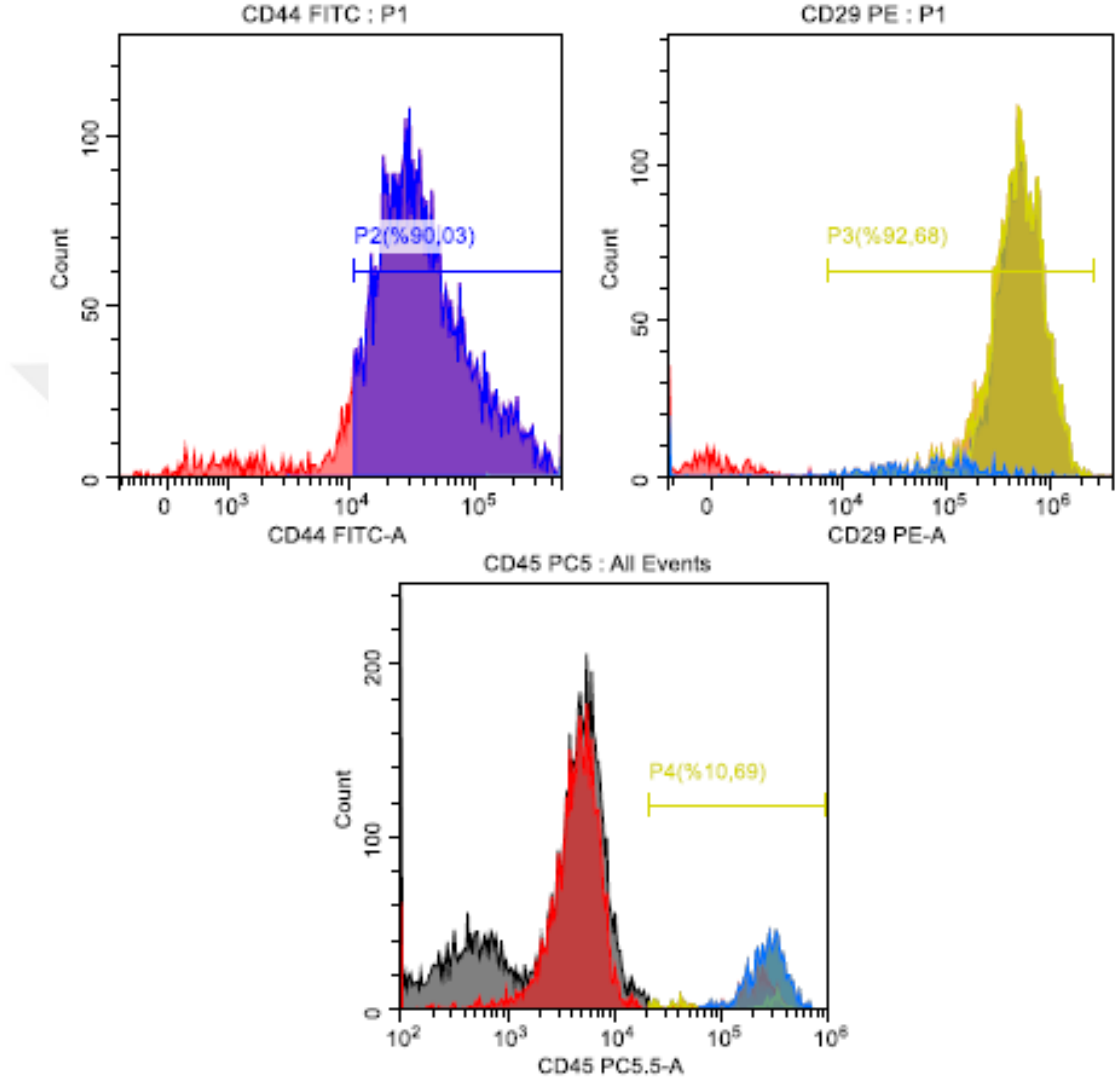
2.5.3. İstatistiksel analiz

Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü varyant analiz (ANOVA) ile yapıldı. Post Hoc Test, Tukey HSD ile ikili karşılaştırmalar yapıldı. Anlamlılık seviyesi 0,05 olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Yüzey belirteçleri sonuçları

Çalışmamızda kemik iliği kaynaklı kök hücreler flow-sitometrik analiz ile CD44+, CD29+ ve CD45- ile karakterize edildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. CD44+, CD29+ ve CD45- yüzey belirteçlerine ait flow-sitometri sonuçları.

3.2. Genel Değerlendirme Bulguları

Çalışma süresince ab-libitum beslenme ve barınma yöntemleriyle bakım yapılırken, ilk hafta günlük ensizyon yarası takibi ve pansumanı yapıldı. Çalışma süresince deney gruplarında kayıp görülmedi, ancak 6 hayvanda (1. Grupta; Rat 1 ikinci ve üçüncü parmak, Rat 6'da ikinci, üçüncü ve dördüncü parmak, 2. Grupta; Rat 1'de ikinci ve üçüncü parmak, Rat 2'de birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü parmak, Rat 5'te ikinci, üçüncü ve dördüncü parmak, 4. Grupta; Rat 3'te üçüncü ve dördüncü parmak) 8 gün

sonra paralize bağı parmak kaybı gözlemlendi, bu hayvanlar 2, 3 ve 4. haftalarda yürüme analizinde değerlendirilmeye alınmadı. Ratların 1. grup Sham tek uygulama ve 2. grup Sham çift uygulama grubunda 3. haftaya kadar topuklarına basarak sonrasında ise ayak tabanına basarak yürüdükleri, diğer gruplarda ise 2. haftadan sonra ayak tabanına basarak yürüdükleri gözlemlendi.

3.3. Genel Histomorfolojik Değerlendirme Bulguları

H&E boyama ile sinirin perinöriyumu, fasikül organizasyonu, vasküler yoğunluk, ödem, konjesyon, inflamatuvar hücre varlığı ile yoğunluğu, nekroz/dejenerasyon ve kanama durumu değerlendirilmiştir (Çizelge 3.1.).

H&E boyama ile yapılan genel değerlendirmede; perinörium yapısı tüm Ratlarda korunmuş olarak izlendi.

Fasiküler organizasyonu; 1. Grup Sham Tek Uygulamada tüm hayvanlarda, 2. Grup Sham Çift Uygulamada 1. ve 2. hayvanda minimal düzensiz, 4. hayvanda bozulmuş, 3. Grup Kİ-MKH Tek uygulama grubundaki tüm hayvanlarda minimal düzensiz, 4. Grup Kİ-MKH Çift uygulamada tüm ratlarda minimal düzensiz, 5. Grup DP-MKH Tek uygulamada tüm ratlarda korunmuş, 6. Grup DP-MKH Çift uygulamada tüm ratlarda minimal düzensiz, 7. Grup Kİ+DP-MKH Tek uygulamada tüm ratlarda korunmuş, 8. Grup Kİ+DP-MKH Çift uygulamada tüm ratlarda minimal düzensiz, 9. Grup Kontrol tüm ratlarda korunmuş olarak gözlemlendi.

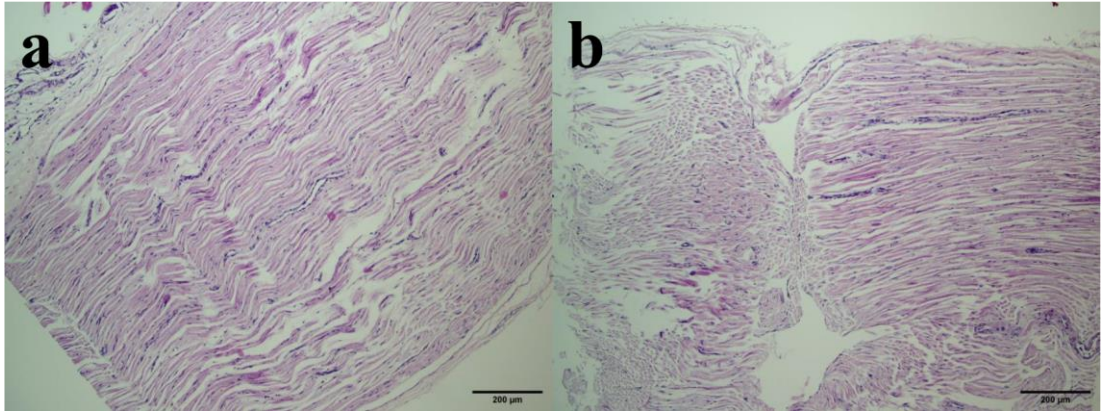
Vasküler Yoğunluk 1. Grup Sham Tek Uygulamada tüm ratlarda normal, 2. Grup Sham Çift Uygulamada Rat 1 ve 2 de normal, Rat 3'te hafif, 3. Grup Kİ-MKH Tek uygulamada tüm ratlarda normal, 4. Grup Kİ-MKH Çift uygulamada Rat 1 ile Rat 2'de hafif, Rat 3'te normal, 5. Grup DP-MKH Tek uygulamada tüm ratlarda normal, 6. Grup DP-MKH Çift uygulamada Rat 1 ve Rat 2'de normal, Rat 3'te hafif, 7. Grup Kİ+DP-MKH Tek uygulamada tüm ratlarda normal, 8. Grup Kİ+DP-MKH Çift uygulamada tüm ratlarda normal, 9. Grup Kontrol tüm ratlarda normal olarak gözlemlendi.

Ödem Kontrol grubunda bulunan ratlar hariç tüm gruplarda gözlemlendi.

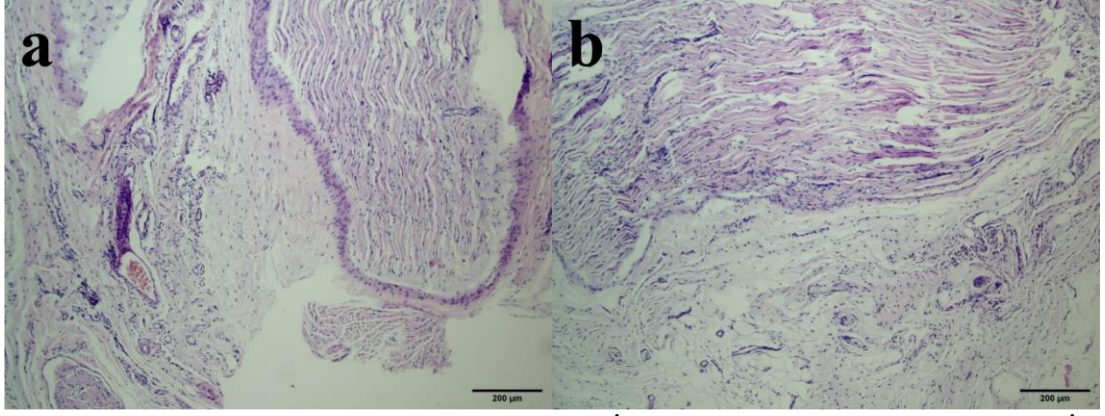
İnflamatuvar Hücre varlığı ve Yoğunluğu 1. Grup Sham Tek Uygulamada tüm ratlarda hafif derecede artmış, 2. Grup Sham Çift Uygulamada Rat 1 ve 2’de hafif derecede artmış, Rat 3’te orta derecede artmış, 3. Grup Kİ-MKH Tek uygulamada tüm ratlarda hafif derecede artmış, 4. Grup Kİ-MKH Çift uygulamada tüm ratlarda hafif derecede artmış, 5. Grup DP-MKH Tek uygulamada Rat 1 ve 2’de yok, Rat 3’te hafif derecede artmış, 6. Grup DP-MKH Çift uygulamada tüm ratlarda hafif derecede artmış, 7. Grup Kİ+DP-MKH Tek uygulamada tüm ratlarda yok, 8. Grup Kİ+DP-MKH Çift uygulamada tüm ratlarda hafif derecede artmış, 9. Grup Kontrol ratlarında görülmedi.

Nekroz/Dejenerasyon 1. Grup Sham Tek Uygulamada tüm ratlarda hafif/fokal dejenerasyon, 2. Grup Sham Çift Uygulamada tüm ratlarda hafif/fokal nekroz, 3. Grup Kİ-MKH Tek uygulamada tüm ratlarda hafif/fokal dejenerasyon, 4. Grup Kİ-MKH Çift uygulamada tüm ratlarda hafif/fokal dejenerasyon, 5. Grup DP-MKH Tek uygulamada tüm ratlarda yok, 6. Grup DP-MKH Çift uygulamada tüm ratlarda hafif/fokal dejenerasyon, 7. Grup Kİ+DP-MKH Tek uygulamada tüm ratlarda yok, 8. Grup Kİ+DP-MKH Çift uygulamada tüm ratlarda hafif/fokal dejenerasyon, 9. Grup Kontrol ratlarında görülmedi.

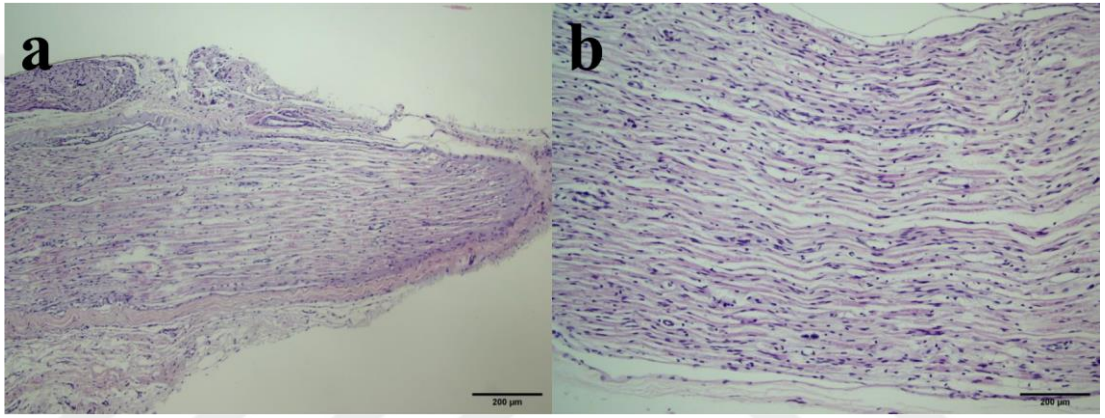
H&E boyama sonuçları Şekil 3.2, Şekil 3.3, Şekil 3.4, Şekil 3.5 ve Şekil 3.6’da gösterilmiştir.



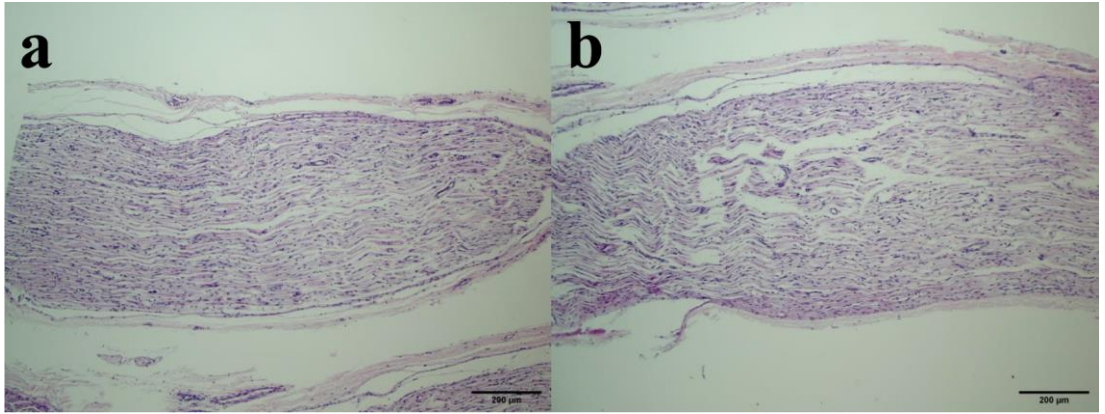
Şekil 3.2. Sinir teli boyuna kesit. a, 1. Grup Sham tek uygulama; b, 2. Grup Sham çift uygulama. H&E boyaması, Bar=200µm.



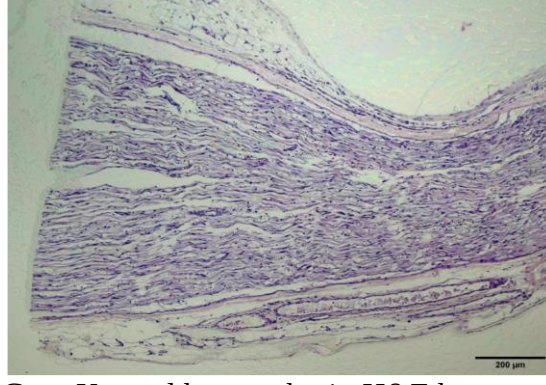
Şekil 3.3. Sinir teli boyuna kesit. a, 3. Grup Kİ-MKH tek uygulama; b, 4. Grup Kİ-MKH çift uygulama. H&E boyaması, Bar=200µm.



Şekil 3.4. Sinir teli boyuna kesit. a, 5. Grup DP-MKH tek uygulama; b, 6. Grup DP-MKH çift uygulama. H&E boyaması, Bar=200µm.



Şekil 3.5. Sinir teli boyuna kesit. a, 7. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama; b, 8. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama. H&E boyaması, Bar=200µm.



Şekil 3.6. IX. Grup Kontrol boyuna kesit. H&E boyaması, Bar=200μm.

Çizelge 3.1. Histomorfolojik değerlendirme sonuçları.

Grup	Denek	Perinöriyum	Fasikül organizasyonu	Vasküler Yoğunluk	Ödem	Konjesyon	İnflamatuvar Hücre Varlığı ve Yoğunluğu	Nekroz/ Dejenerasyon
Grup 1 Sham Tek Uygulama	Rat 1	Korunmuş	Minimal düzensiz	Normal	Var	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
	Rat 2	Korunmuş	Minimal düzensiz	Normal	Var	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
	Rat 3	Korunmuş	Minimal düzensiz	Normal	Var	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
Grup 2 Sham Çift Uygulama	Rat 1	Korunmuş	Minimal düzensiz	Normal	Var	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
	Rat 3	Korunmuş	Minimal düzensiz	Normal	Var	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
	Rat 4	Korunmuş	Bozulmuş	Hafif	Var	Var	Orta	Fokal nekroz
Grup 3 Kİ-MKH Tek Uygulama	Rat 1	Korunmuş	Minimal düzensiz	Normal	Var	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
	Rat 2	Korunmuş	Minimal düzensiz	Normal	Var	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
	Rat 3	Korunmuş	Minimal düzensiz	Normal	Var	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
Grup 4 Kİ-MKH Çift Uygulama	Rat 1	Korunmuş	Minimal düzensiz	Hafif	Var	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
	Rat 2	Korunmuş	Minimal düzensiz	Hafif	Var	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
	Rat 4	Korunmuş	Minimal düzensiz	Normal	Var	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon

* Çizelge 3.1'in devamı bir sonraki sayfada

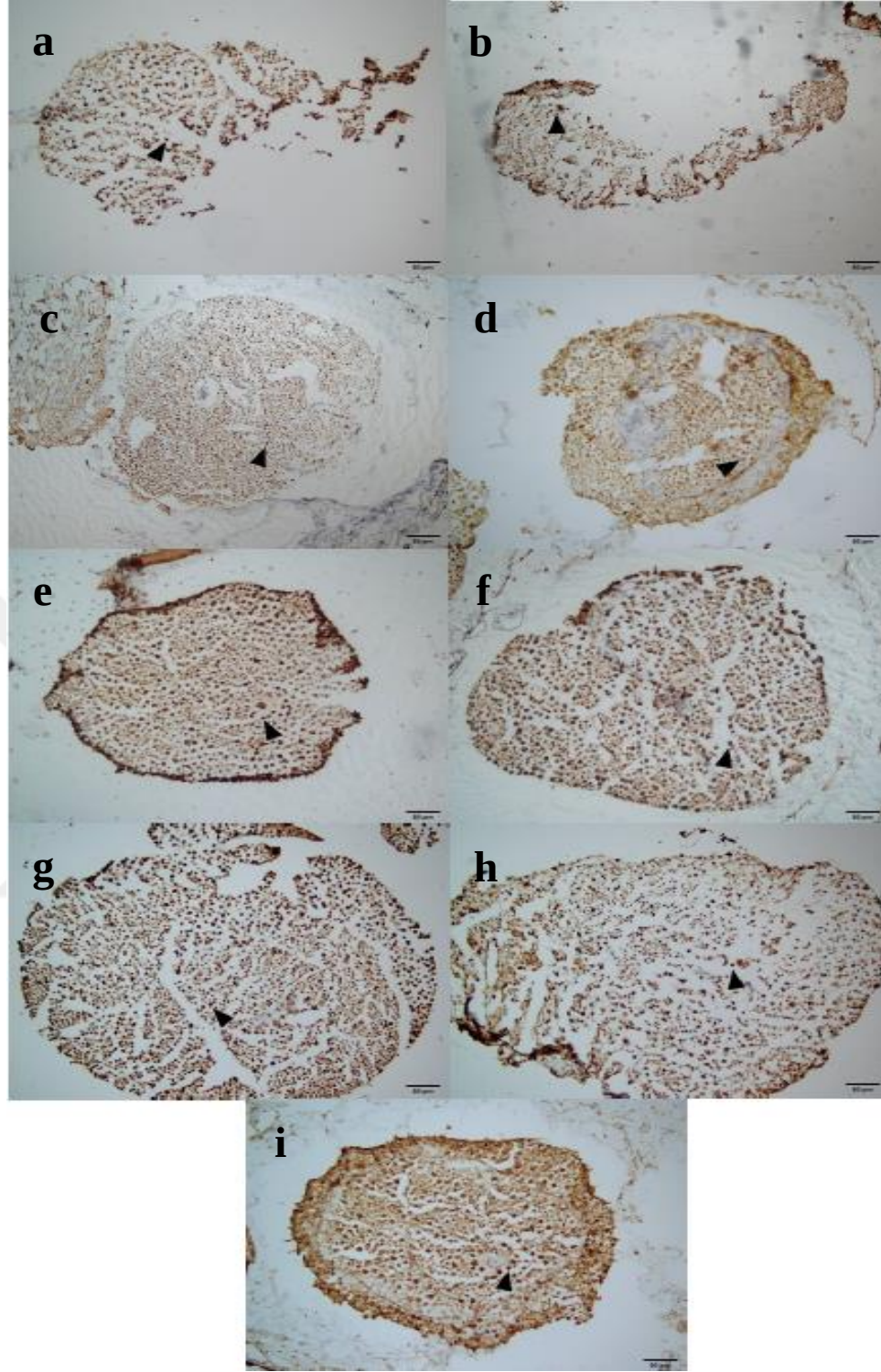
Çizelge 3.1 Devam. Histomorfolojik değerlendirme sonuçları.

Grup	Denek	Perinörium	Fasikül organizasyonu	Vasküler Yoğunluk	Ödem	İnflamatuvar Hücre Varlığı ve Yoğunluğu	Nekroz/ Dejenerasyon
Grup 5 DP-MKH Tek Uygulama	Rat 1	Korunmuş	Korunmuş	Normal	Var	Hafif	Yok
	Rat 2	Korunmuş	Korunmuş	Normal	Var	Hafif	Yok
	Rat 3	Korunmuş	Korunmuş	Normal	Var	Hafif	Yok
Grup 6 DP-MKH Çift Uygulama	Rat 1	Korunmuş	Minimal düzensiz	Normal	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
	Rat 2	Korunmuş	Minimal düzensiz	Normal	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
	Rat 3	Korunmuş	Minimal düzensiz	Hafif	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
Grup 7 Kİ+DP- MKH Tek Uygulama	Rat 1	Korunmuş	Korunmuş	Normal	Yok	Hafif	Yok
	Rat 2	Korunmuş	Korunmuş	Normal	Var	Hafif	Yok
	Rat 3	Korunmuş	Korunmuş	Normal	Yok	Hafif	Yok
Grup 8 Kİ+DP- MKH Çift Uygulama	Rat 1	Korunmuş	Minimal düzensiz	Normal	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
	Rat 2	Korunmuş	Minimal düzensiz	Normal	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
	Rat 3	Korunmuş	Minimal düzensiz	Normal	Var	Hafif	Hafif / fokal dejenerasyon
Grup 9 Kontrol	Rat 1	Korunmuş	Korunmuş	Normal	Yok	Yok	Yok
	Rat 2	Korunmuş	Korunmuş	Normal	Yok	Yok	Yok
	Rat 3	Korunmuş	Korunmuş	Normal	Yok	Yok	Yok

3.4. İmmunohistokimyasal Değerlendirme Bulguları

Gruplarda S100 boyanma yüzdelerine bakıldığında (Çizelge 3.2) S100 Boyanma yüzdesi ve yoğunluğu kontrol vakaları için %100 olarak kabul edilmiş, diğer vakalardaki oran buna göre göreceli olarak değerlendirilmiştir. Grup 1 Sham Tek Uygulama ve 2. Grup Sham Çift Uygulama gruplarındaki hiçbir hayvanda S100 ekspresyonu gözlemlenmedi. Üçüncü Grup Kİ-MKH Tek uygulamada ve 4. Grup Kİ-MKH Çift uygulamada tüm ratlarda %70 oranında, 5. Grup DP-MKH Tek uygulamada, 6. Grup DP-MKH Çift uygulamada, 7. Grup Kİ+DP-MKH Tek uygulamada ve 8. Grup Kİ+DP-MKH Çift uygulamada tüm ratlarda %90 oranında, 9. Grup Kontrol tüm ratlarda %100 olarak gözlemlendi (Şekil 3.7).





Şekil 3.7. Gruplara ait sinir teli kesitleri, I. Grup Sham tek uygulama; b, II. Grup Sham çift uygulama; c, III. Grup Kİ-MKH tek uygulama; d, IV. Grup Kİ-MKH çift uygulama; e, V. Grup DP-MKH tek uygulama; f, VI. Grup DP-MKH çift uygulama; g, VII. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama; h, VIII. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama; i, IX. Grup Kontrol grubu. Ok: Schwann hücresi. S100 immunohistokimyasal boyaması, Bar=50µm.

Çizelge 3.2. İmmunohistokimya S100 boyama sonuçları

GRUP	Denek	S-100 Boyama Yüzdesi	GRUP	Denek	S-100 Boyama Yüzdesi
Grup 1	Rat 5	-	Grup 2	Rat 5	-
	Rat 6	-		Rat 6	-
	Rat 7	-		Rat 7	-
Grup 3	Rat 4	70%	Grup 4	Rat 5	70%
	Rat 5	70%		Rat 6	70%
	Rat 6	70%		Rat 7	70%
Grup 5	Rat 4	90%	Grup 6	Rat 4	90%
	Rat 5	90%		Rat 5	90%
	Rat 6	90%		Rat 6	90%
Grup 7	Rat 4	90%	Grup 8	Rat 4	90%
	Rat 5	90%		Rat 5	90%
	Rat 6	90%		Rat 6	90%
Grup 9	Rat 4	100%			
	Rat 5	100%			
	Rat 6	100%			

3.5. Yürüme Analizi ve Siyatik Fonksiyon İndeksi Bulguları

Operasyon sonrası 28.gün sonuna kadar her 7, 14, 21 ve 28 günlerde hazırlanan bir düzenek yardımı ile bütün gruptaki ratların yürüme analizi yapıldı. 1. Grup Sham tek uygulama grubunda 2 ratda (Rat 1 ve 6), 2. Grup Sham çift uygulama grubunda 3 ratda (Rat 1, 2 ve 5), 4. Grup Kİ-MKH tek uygulama grubunda 1 ratda (Rat 3) birinci haftadan sonra ayak parmaklarının olmaması sebebi ile yürüme testi analizi yapılamadı. Uygulanan yürüme testine göre grupların SFI değerleri gösterilmiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Siyatik Fonksiyon İndeksi (SFİ) bulguları.

1. GRUP SHAM TEK UYG.	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta	2. GRUP SHAM ÇİFT UYG.	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta
Rat 1	-95,286	-	-	-	Rat 1	-92,355	-	-	-
Rat 2	-78,475	-77,898	-76,321	-75,567	Rat 2	-80,656	-	-	-
Rat 3	-67,790	-66,777	-64,324	-63,456	Rat 3	-70,465	-69,456	-70,666	-70,222
Rat 4	-72,251	-71,780	-69,881	-68,546	Rat 4	-76,546	-74,687	-77,545	-75,564
Rat 5	-70,526	-69,356	-67,989	-67,546	Rat 5	-79,511	-	-	-
Rat 6	-93,004	-	-	-	Rat 6	-70,365	-67,989	-70,546	-67,450
Rat 7	-76,236	-75,100	-73,987	-73,111	Rat 7	-73,566	-72,942	-75,546	-72,645
Ortalamlar	-79,081	-72,182	-70,500	-69,645	Ortalamlar	-77,638	-71,268	-73,576	-71,470
3. GRUP Kİ-MKH TEK UYG.	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta	4. GRUP Kİ-MKH ÇİFT UYG.	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta
Rat 1	-35,924	-35,131	-34,464	-30,655	Rat 1	-50,165	-50,456	-48,465	-44,453
Rat 2	-49,464	-46,543	-41,564	-37,012	Rat 2	-49,564	-49,165	-48,565	-43,564
Rat 3	-50,111	-46,456	-41,245	-38,445	Rat 3	-58,911	-	-	-
Rat 4	-47,465	-44,465	-40,545	-37,465	Rat 4	-50,546	-50,123	-47,165	-42,165
Rat 5	-49,999	-46,247	-40,646	-37,647	Rat 5	-48,756	-47,565	-44,642	-38,165
Rat 6	-48,456	-46,765	-42,465	-38,456	Rat 6	-48,457	-48,133	-45,165	-42,384
Rat 7	-48,456	-45,464	-40,546	-37,456	Rat 7	-49,798	-49,043	-48,550	-39,587
Ortalamlar	-47,125	-44,439	-40,211	-36,734	Ortalamlar	-50,885	-49,081	-47,092	-41,720
5. GRUP DP-MKH TEK UYG.	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta	6. GRUP DP-MKH ÇİFT UYG.	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta
Rat 1	-48,132	-42,156	-36,456	-27,547	Rat 1	-44,550	-44,342	-40,465	-38,000
Rat 2	-48,640	-43,789	-37,456	-29,789	Rat 2	-42,880	-41,149	-39,156	-36,456
Rat 3	-48,654	-42,790	-38,456	-32,456	Rat 3	-48,547	-48,156	-44,877	-41,424
Rat 4	-44,654	-38,384	-31,987	-26,456	Rat 4	-46,547	-46,126	-42,465	-40,897
Rat 5	-43,770	-37,457	-32,465	-28,127	Rat 5	-46,740	-45,456	-41,464	-39,456
Rat 6	-45,645	-41,988	-35,456	-29,988	Rat 6	-47,655	-47,183	-43,465	-40,456
Rat 7	-46,957	-37,455	-30,999	-24,547	Rat 7	-46,880	-46,012	-42,464	-40,955
Ortalamlar	-46,636	-40,574	-34,754	-28,416	Ortalamlar	-46,257	-45,489	-42,051	-39,664
7. GRUP Kİ+DP-MKH TEK UYG.	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta	8. GRUP Kİ+DP-MKH ÇİFT UYG.	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta
Rat 1	-34,655	-26,546	-23,456	-11,680	Rat 1	-33,123	-33,456	-30,564	-27,156
Rat 2	-33,227	-27,464	-24,845	-14,521	Rat 2	-35,323	-35,013	-31,544	-29,456
Rat 3	-34,412	-27,123	-25,465	-21,456	Rat 3	-36,712	-35,753	-32,456	-30,547
Rat 4	-31,232	-27,358	-24,465	-19,745	Rat 4	-33,290	-32,786	-30,156	-28,456
Rat 5	-33,152	-27,465	-26,465	-21,870	Rat 5	-32,253	-31,756	-29,465	-27,456
Rat 6	-33,363	-30,655	-25,488	-21,235	Rat 6	-36,969	-35,749	-30,456	-30,130
Rat 7	-34,978	-31,454	-27,421	-22,456	Rat 7	-35,106	-35,745	-31,465	-30,654
Ortalamlar	-33,574	-28,295	-25,372	-18,995	Ortalamlar	-34,682	-34,323	-30,872	-29,122

Tek Uygulama Yapılan Grupların Karşılaştırılması

Birinci hafta SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

İlk hafta sonuçlarına göre (Şekil 3.8.); 7. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama SFİ değerinin diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış olduğu bulundu ($p<0,05$), bu da ilk haftadan bu grupta iyileşmenin diğer gruplara göre başladığını göstermektedir. Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama ve 5. Grup DP-MKH tek uygulama SFİ sonuçları arasında istatistiksel olarak birbirinden anlamlı derecede farklı olmadığı bulundu, bu da iyileşmenin bu gruplarda ilk hafta birbirine paralel olduğunu göstermektedir. Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama ve 5. Grup DP-MKH tek uygulama SFİ değerleri istatistiksel olarak 1. Grup Sham tek uygulamaya göre anlamlı olarak artmış olduğu bulundu ($p<0,05$), bu da iyileşmenin Sham grubuna göre ilk haftadan başladığını göstermektedir.

İkinci hafta SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

İkinci hafta sonuçlarına göre (Şekil 3.8.); 7. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama SFİ değerinin diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış olduğu bulundu ($p<0,05$). Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama ve 5. Grup DP-MKH tek uygulama SFİ sonuçlarının istatistiksel olarak birbirinden farklı olmadığı görülmüş, bu da iyileşmenin bu gruplarda ikinci haftada da birbirine paralel olduğunu göstermektedir. Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama ve 5. Grup DP-MKH tek uygulama SFİ değerleri istatistiksel olarak 1. Grup Sham tek uygulamaya göre anlamlı olarak artmış olduğu bulundu ($p<0,05$), bu da iyileşmenin 1. Grup Sham tek uygulamaya göre ilk haftadan başladığını göstermektedir.

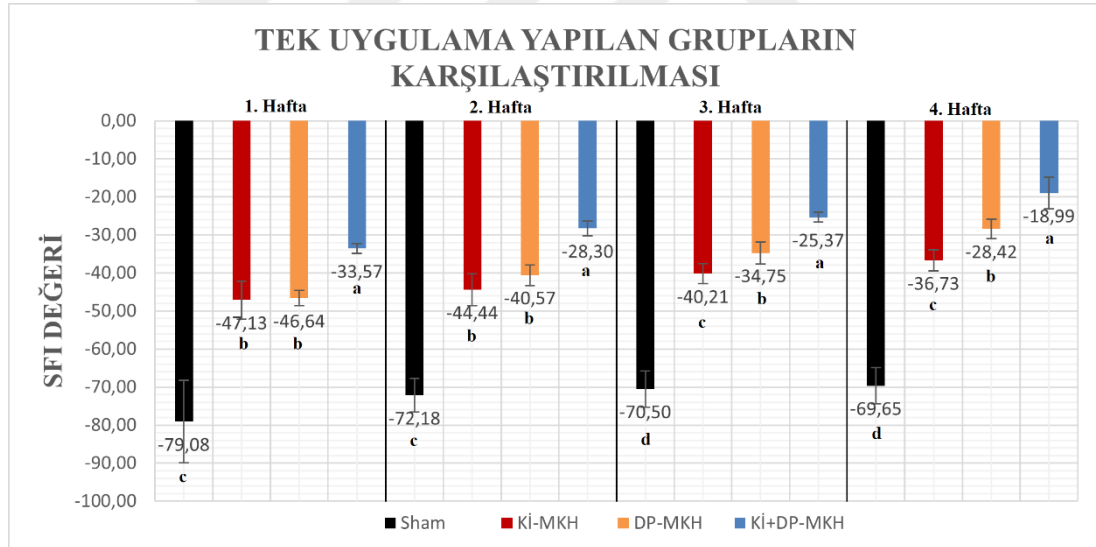
Üçüncü hafta SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

Üçüncü hafta sonuçlarına göre (Şekil 3.8.); 7. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama SFİ değerinin diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulundu, bu durum 3. haftada da bu grupta iyileşmenin diğer gruplara göre daha iyi olduğunu göstermektedir. Grup 5 DP-MKH tek uygulama SFİ değerinin, diğer gruplar olan 3. Grup Kİ-MKH tek uygulama ve 1. Grup Sham tek uygulama SFİ değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulundu, bu da iyileşmenin 5. Grup DP-MKH tek uygulamada bu iki gruba göre daha iyi olduğunu göstermektedir. Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama SFİ değerinin 1. Grup Sham tek uygulama SFİ değerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulundu. Bu sonuçlar 3. Grup Kİ-MKH tek uygulama, 5. Grup

DP-MKH tek uygulama ve 7. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulamada iyileşmenin 1. Grup Sham tek uygulamaya göre daha iyi olduğunu göstermiştir.

Dördüncü hafta SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

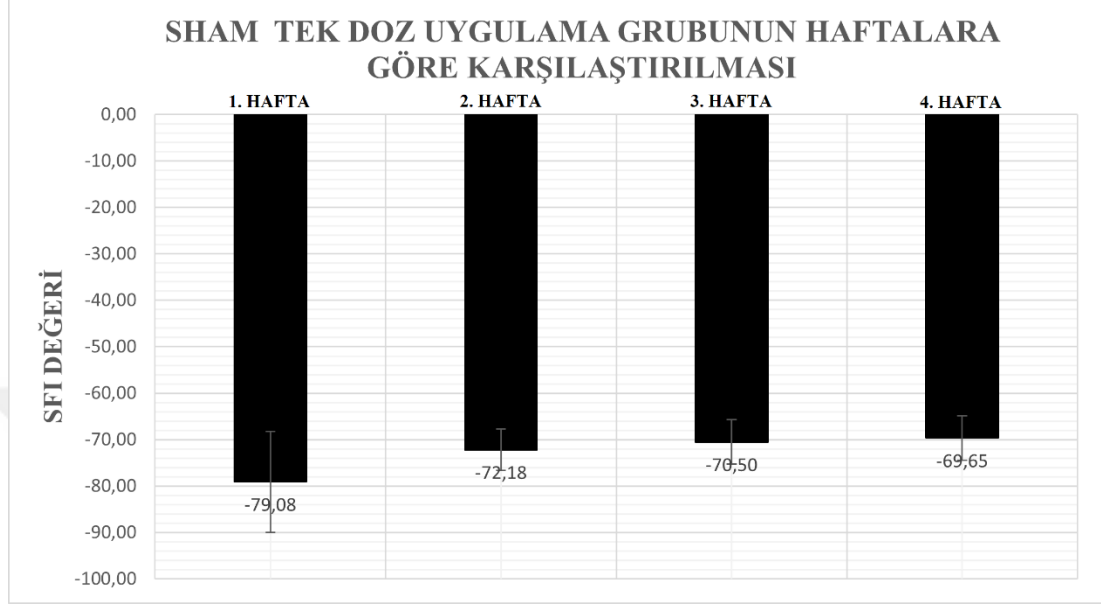
Dördüncü hafta sonuçlarına göre (Şekil 3.8.); 7. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama SFİ değerinin diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğunun bulunması, 3. haftada da bu grupta iyileşmenin diğer gruplara göre daha iyi olduğunu göstermektedir. Grup 5 DP-MKH tek uygulama SFİ değerinin, diğer gruplar olan 3. Grup Kİ-MKH tek uygulama ve 1. Grup Sham tek uygulama SFİ değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulundu, bu da iyileşmenin 5. Grup DP-MKH tek uygulamada bu iki gruba göre daha iyi olduğunu göstermektedir, Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama SFİ değerinin 1. Grup Sham tek uygulama SFİ değerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulundu. Bu sonuçlar 3. Grup Kİ-MKH tek uygulama, 5. Grup DP-MKH tek uygulama ve 7. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulamada iyileşmenin 1. Grup Sham tek uygulamaya göre daha iyi olduğunu göstermiştir.



Şekil 3.8. Tek uygulama yapılan 1., 3., 5. ve 7. grupların haftalık olarak SFİ sonuçları grafiği.

Grup 1 Sham tek uygulama SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

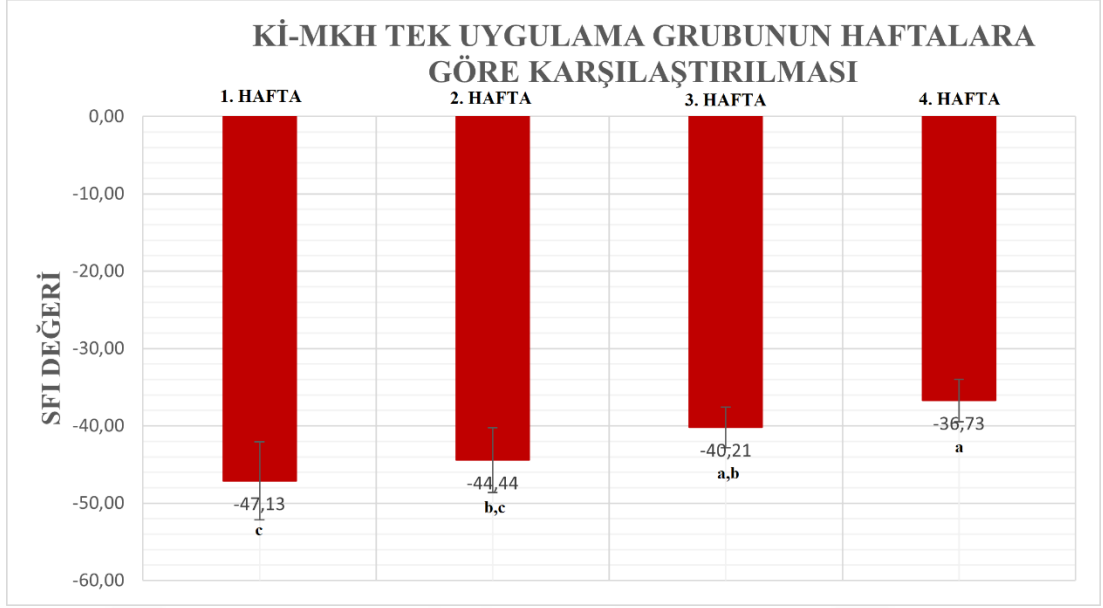
Dört haftanın sonuçları incelendiğinde (Şekil 3.9) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu da bu grupta iyileşmenin olmadığını göstermektedir.



Şekil 3.9. Grup 1 Sham tek uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.

Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

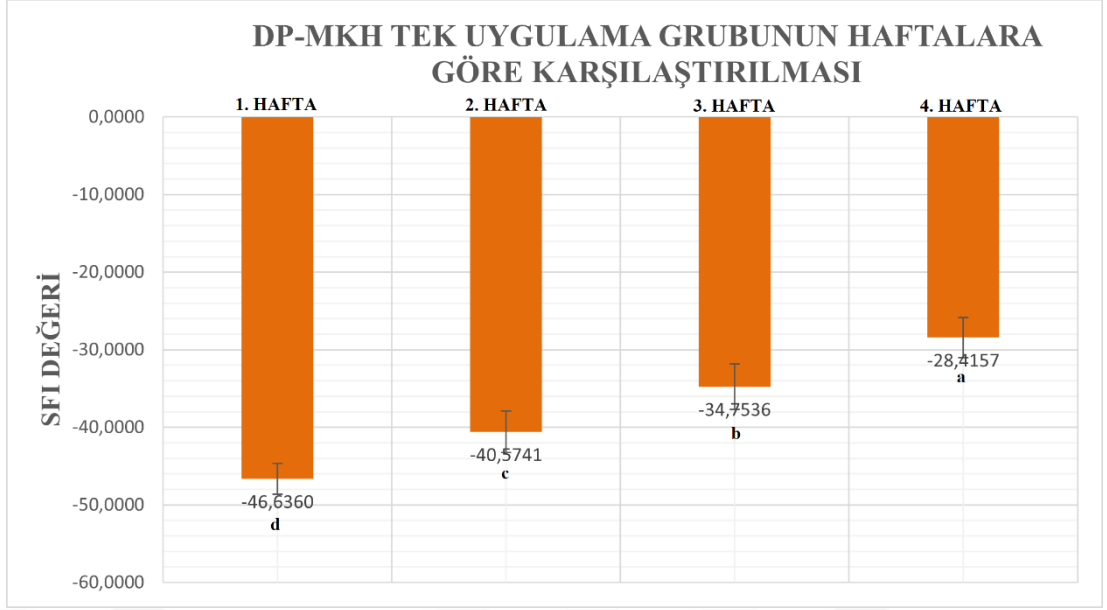
Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama SFİ sonuçları istatistiksel (Şekil 3.10) olarak incelendiğinde 4. hafta sonuçlarının 3. hafta sonuçları ile arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı ama 4. hafta sonuçlarının 1. ve 2. hafta sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulunmuştur. Bu da haftadan haftaya iyileşmenin olduğunu göstermektedir. Üçüncü hafta sonuçlarının 1. hafta sonuçlarına göre SFİ değerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulunmuştur. Ama 3. hafta sonuçları ile 2. hafta sonuçları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. İstatistiksel olarak 2. hafta sonuçları ile 1. hafta sonuçları arasında da anlamlı bir fark yoktur. Grafiğe göre 3. Grup Kİ-MKH tek uygulamada iyileşmenin istatistiksel olarak 3. haftadan sonra daha etkin olduğu görülmüştür.



Şekil 3.10. Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.

Grup 5 DP-MKH tek uygulama SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

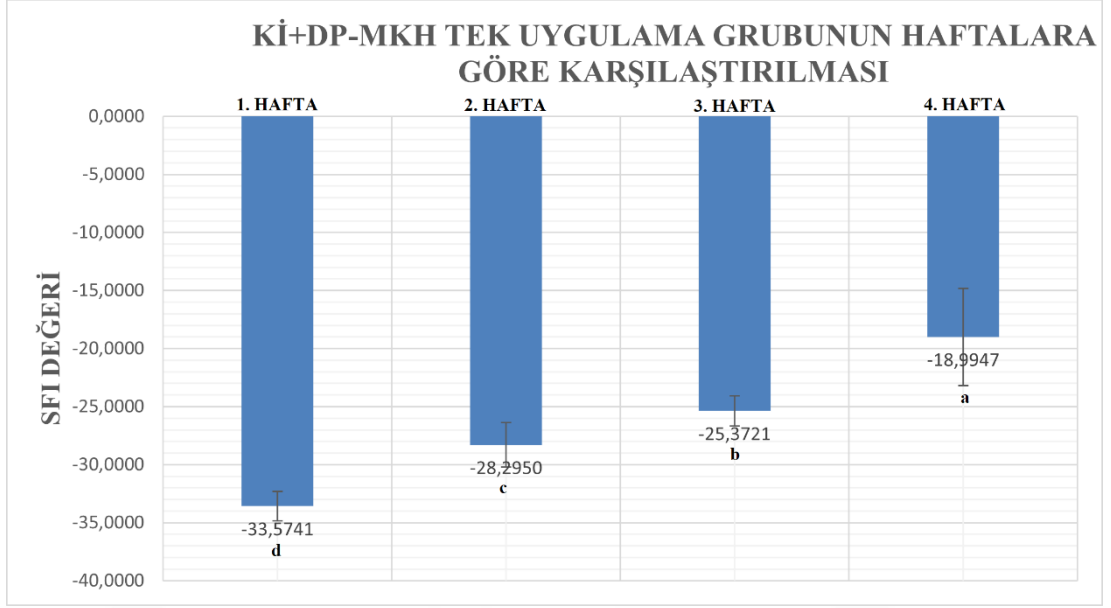
Grup 5 DP-MKH tek uygulama SFİ sonuçları istatistiksel olarak (Şekil 3.11) değerlendirildiğinde, 4. hafta sonuçlarının ilk üç haftaya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulunmuştur. Üçüncü hafta sonuçlarına bakıldığında, 1. ve 2. hafta sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulunmuştur. İkinci hafta sonuçlarına bakıldığında, 1. hafta sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlara göre iyileşmenin ilk haftadan son haftaya doğru artarak devam ettiği görülmüştür.



Şekil 3.11. Grup 5 DP-MKH tek uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.

Grup 7 Kİ+ DP-MKH tek uygulama SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

Grup 7 Kİ+DP-MKH tek uygulama SFİ sonuçları istatistiksel olarak (Şekil 3.12) değerlendirildiğinde, 4. hafta sonuçlarının ilk 3 haftaya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulunmuştur. Üçüncü hafta sonuçlarına bakıldığında birinci ve ikinci hafta sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulunmuştur. İkinci hafta sonuçlarına bakıldığında, birinci hafta sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlara göre iyileşmenin ilk haftadan son haftaya doğru artarak devam ettiği görülmüştür.



Şekil 3.12. Grup 7 Kİ+DP-MKH tek uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.

Çift Uygulama Yapılan Grupların Karşılaştırılması

Birinci hafta SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

İlk hafta sonuçlarına göre (Şekil 3.13); 8. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama SFİ değerinin diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış olduğu bulundu ($p<0,05$). Bu da ilk haftadan bu grupta iyileşmenin diğer gruplara göre başladığını göstermektedir. Grup 4 Kİ-MKH çift uygulama ve 6. Grup DP-MKH çift uygulama SFİ sonuçlarının istatistiksel olarak birbirinden farklı olmadığı bulundu. Bu da iyileşmenin bu gruplarda ilk hafta birbirine paralel olduğunu göstermektedir. Bu son iki grubun SFİ değerlerinin istatistiksel olarak 2. Grup Sham SFİ değerine göre anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulundu. Bu da iyileşmenin 2. Grup Sham çift uygulamaya göre ilk haftadan başladığını göstermektedir.

İkinci hafta SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

İkinci hafta sonuçlarına göre (Şekil 3.13); 8. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama SFİ değerinin diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulundu, bu sonuç 2. haftada da bu grupta iyileşmenin diğer gruplara göre daha iyi olduğunu göstermektedir. Grup 6 DP-MKH çift uygulama SFİ değerinin ise 5. Grup Kİ-MKH çift uygulama ve 2. Grup Sham çift uygulama SFİ değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulundu. Bu da iyileşmenin 6. Grup DP-MKH çift uygulama da 5. Grup Kİ-MKH çift uygulama ve 2. Grup Sham çift uygulamaya göre 2. haftada başladığını göstermektedir. Grup 5 Kİ-MKH çift uygulama SFİ değerinin 2. Grup Sham çift uygulama SFİ değerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulundu. Grup 5 Kİ-MKH çift uygulamada iyileşmenin 2. Grup Sham çift uygulamaya göre daha iyi olduğunu göstermektedir.

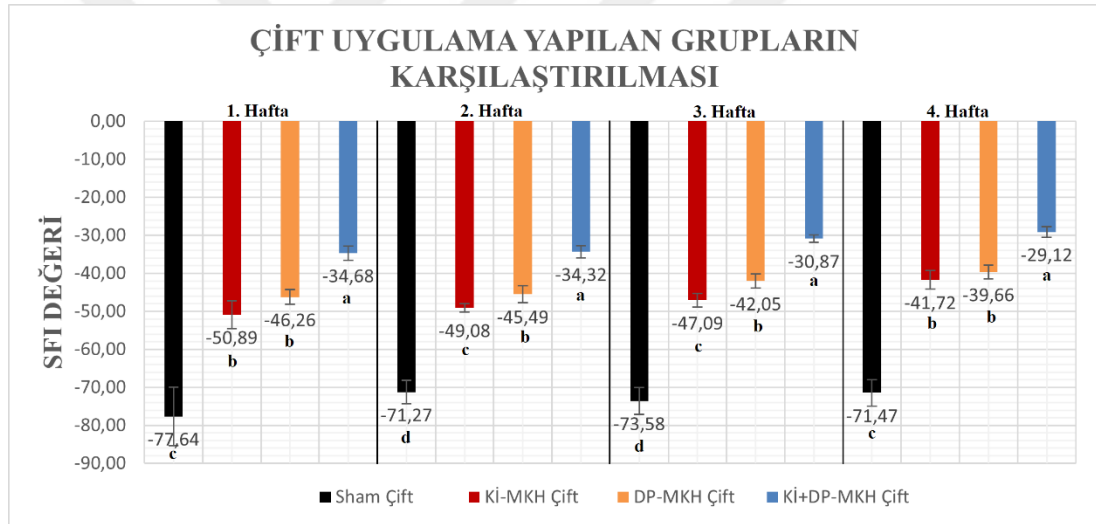
Üçüncü hafta SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

Üçüncü hafta sonuçlarına göre (Şekil 3.13); 8. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama SFİ değerinin diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulundu, 3. haftada da bu grupta iyileşmenin diğer gruplara göre daha iyi olduğunu göstermektedir. Grup 6 DP-MKH çift uygulama SFİ değerinin ise 5. Grup Kİ-MKH çift uygulama ve 2. Grup Sham çift uygulama SFİ değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulundu. Bu durum iyileşmenin 6. Grup DP-MKH çift uygulama da 5. Grup Kİ-MKH çift uygulama ve 2. Grup Sham çift uygulamaya göre 3. haftada da daha iyi olduğunu göstermektedir. Grup 5 Kİ-MKH çift uygulama SFİ değerinin 2. Grup Sham çift uygulama SFİ

değerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulundu. Bu durum 5. Grup Kİ-MKH çift uygulamada iyileşmenin 3. Grup Sham çift uygulamaya göre daha iyi olduğunu göstermektedir.

Dördüncü hafta SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

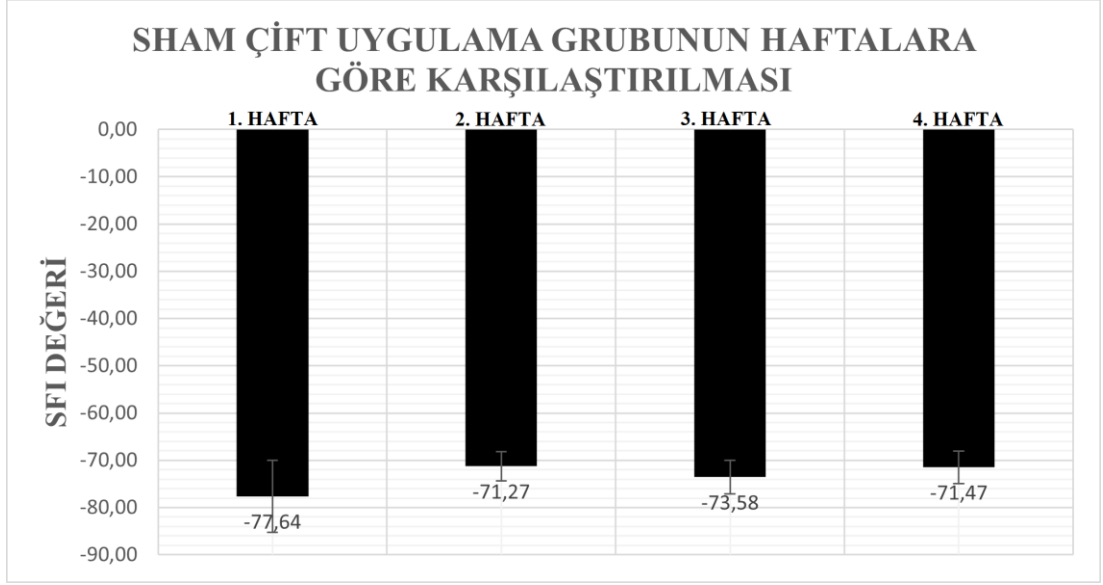
Dördüncü hafta sonuçlarına göre (Şekil 3.13); 8. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama SFİ değerinin diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış olduğu bulundu ($p<0,05$), bu da 4. haftada da iyileşmenin diğer gruplara göre daha iyi olduğunu göstermektedir. Grup 4 Kİ-MKH çift uygulama ve 6. Grup DP-MKH çift uygulama SFİ sonuçlarının istatistiksel olarak birbirinden farklı olmadığı bulundu, bu da iyileşmenin bu gruplarda son hafta birbirine paralel olduğunu göstermektedir. Bu son iki grubun SFİ değerlerinin istatistiksel olarak 2. Grup Sham SFİ değerine göre anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulundu. Bu da iyileşmenin 2. Grup Sham çift uygulamaya göre son haftada da devam ettiğini göstermektedir.



Şekil 3.13. Çift uygulama yapılan 2., 4., 6. ve 8. grupların haftalık SFİ sonuçları grafiği.

Grup 2 Sham çift uygulama SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

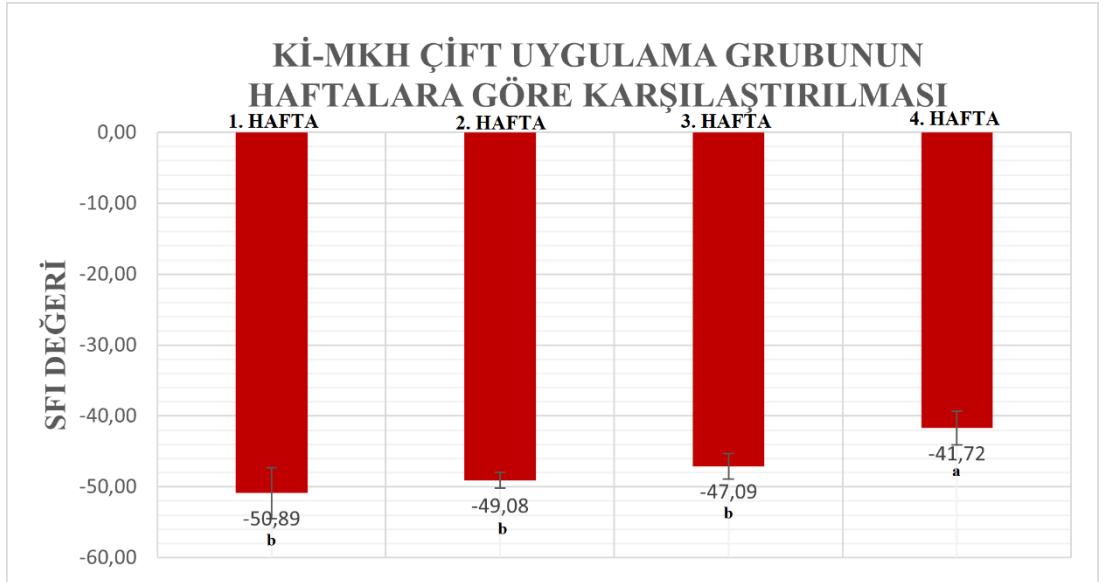
Dört haftanın sonuçları incelendiğinde (Şekil 3.14), istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu da bu grupta iyileşmenin olmadığını göstermektedir.



Şekil 3.14. Grup 2 Sham çift uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.

Grup 4 Kİ-MKH çift uygulama SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

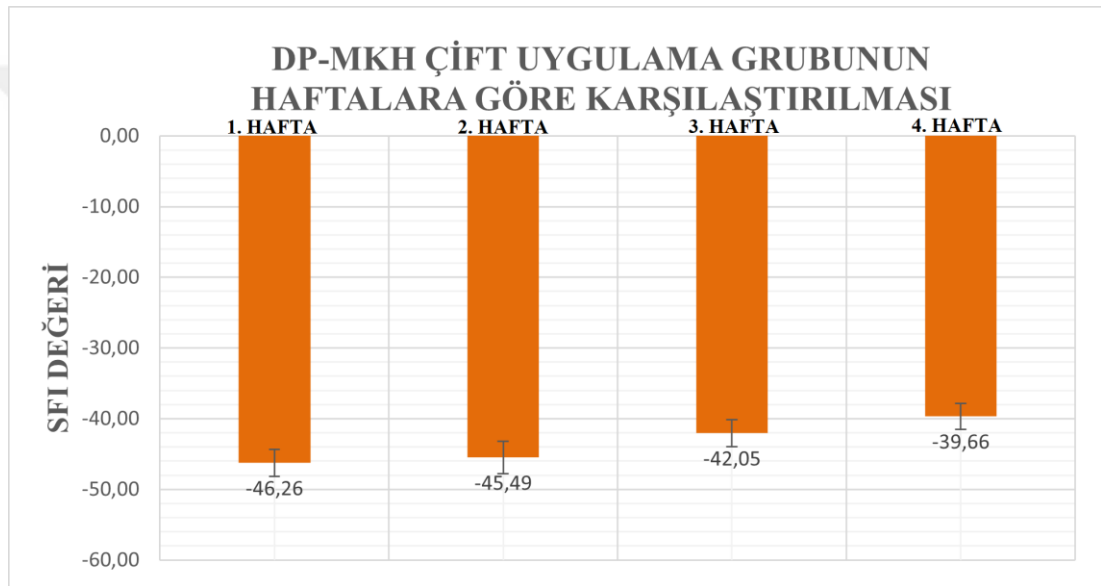
Grup 4 Kİ-MKH çift uygulama SFİ sonuçları istatistiksel olarak (Şekil 3.15) değerlendirildiğinde, 4. hafta sonuçlarının 1., 2., ve 3. hafta sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p < 0,05$) artmış olduğu bulundu. Diğer taraftan 1., 2. ve 3. hafta sonuçları değerlendirildiğinde aralarında anlamlı derecede fark bulunmamıştır. Bu da 4. haftada iyileşmenin ilk üç haftaya göre daha belirgin olduğunu göstermektedir.



Şekil 3.15. Grup 4 Kİ-MKH çift uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.

Grup 6 DP-MKH çift uygulama SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

Grup 6 DP-MKH çift uygulama SFİ sonuçları istatistiksel olarak (Şekil 3.16) değerlendirildiğinde, 3. ve 4. hafta sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmamıştır. Ama 3. ve 4. hafta SFİ değerlerinin, 1. ve 2. hafta SFİ değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulunmuştur. Birinci ve 2. hafta SFİ değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmamıştır. Bu sonuçlara göre ilk iki haftada iyileşme birbirine paralelken 3. haftada 1. ve 2. haftaya göre iyileşmede belirgin bir artış olduğu görülmüştür. İyileşme 4. haftada 3. haftaya ile paraleldir.

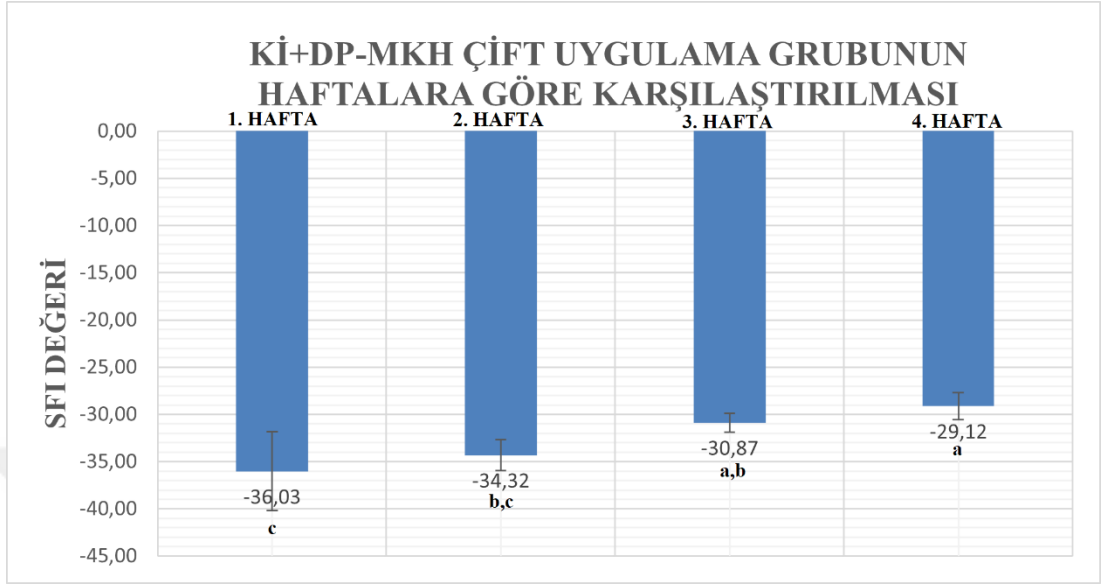


Şekil 3.16. Grup 6 DP-MKH çift uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.

Grup 8 Kİ+ DP-MKH çift uygulama SFİ sonuçlarının karşılaştırılması

Grup 8 Kİ+DP-MKH çift uygulama SFİ sonuçları istatistiksel olarak (Şekil 3.17) değerlendirildiğinde, 4. hafta sonuçlarının 3. hafta sonuçları ile arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı, ama 4. hafta sonuçlarının 1. ve 2. hafta sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulunmuştur. Bu da haftadan haftaya iyileşmenin olduğunu göstermektedir. Üçüncü hafta sonuçlarının 1. hafta sonuçlarına göre SFİ değerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu bulunmuştur. Ama 3. hafta sonuçları ile 2. hafta sonuçları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır, bu da 2. ve 3. haftalarda iyileşmenin paralel olduğunu göstermektedir. İstatistiksel olarak 2. hafta sonuçları ile 1. hafta sonuçları arasında da anlamlı bir fark yoktur, bu da iyileşme bulgusunun 2. ve

1. haftalar arasında fark edilemediğini göstermektedir. Grup 8 Kİ+DP-MKH çift uygulamada iyileşmenin istatistiksel olarak 3. haftadan sonra daha etkin olduğu görülmüştür.

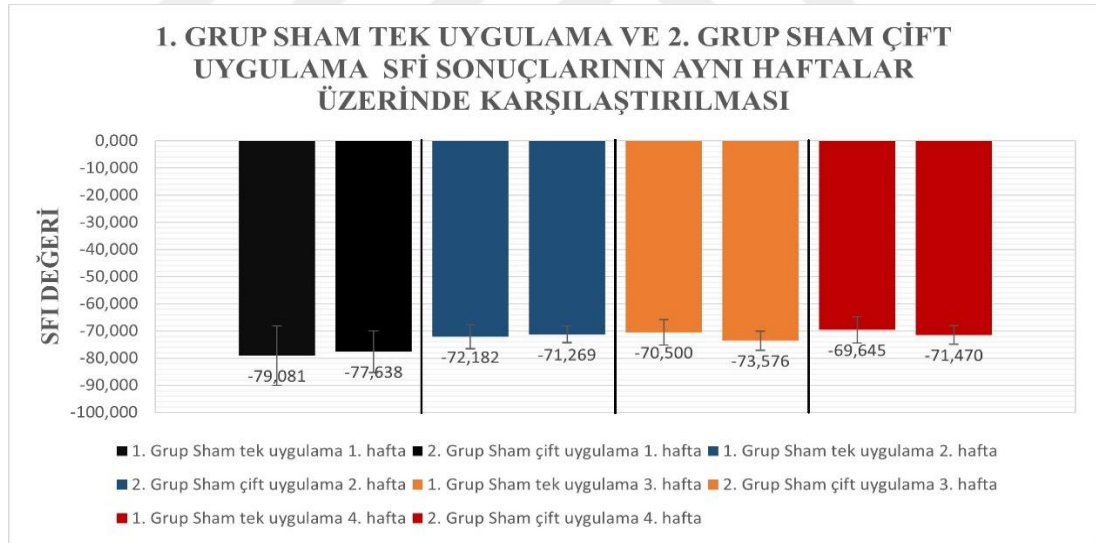


Şekil 3.17. Grup 8 Kİ+DP-MKH çift uygulama 4 haftalık SFİ sonuçları grafiği.

Tek ve Çift uygulama Haftalık Sonuçları Değerlendirilmesi

Grup 1 Sham tek uygulama ve 2. Grup Sham Çift uygulama

Grup 1 Sham tek uygulama 1. hafta ve 2. Grup Sham çift uygulama 1. hafta SFİ sonuçları istatistiksel olarak (Şekil 3.18) değerlendirildiğinde aralarında anlamlı derecede fark olmadığı bulunmuştur. Grup 1 Sham tek uygulama 2. hafta ve 2. Grup Sham çift uygulama 2. hafta SFİ sonuçları istatistiksel olarak (Şekil 3.14) değerlendirildiğinde aralarında anlamlı derecede fark olmadığı bulunmuştur. Grup 1 Sham tek uygulama 3. hafta ve 2. Grup Sham çift uygulama 3. hafta SFİ sonuçları istatistiksel olarak (Şekil 3.14) değerlendirildiğinde aralarında anlamlı derecede fark olmadığı bulunmuştur, bu da iyileşmenin bu haftada iki grupta da aynı olduğunu göstermektedir. Grup 1 Sham tek uygulama 4. hafta ve 2. Grup Sham çift uygulama 4. hafta SFİ sonuçları istatistiksel olarak (Şekil 3.14) değerlendirildiğinde aralarında anlamlı derecede fark olmadığı bulunmuştur, bu da iyileşmenin bu haftada iki grupta da aynı olduğunu göstermektedir.

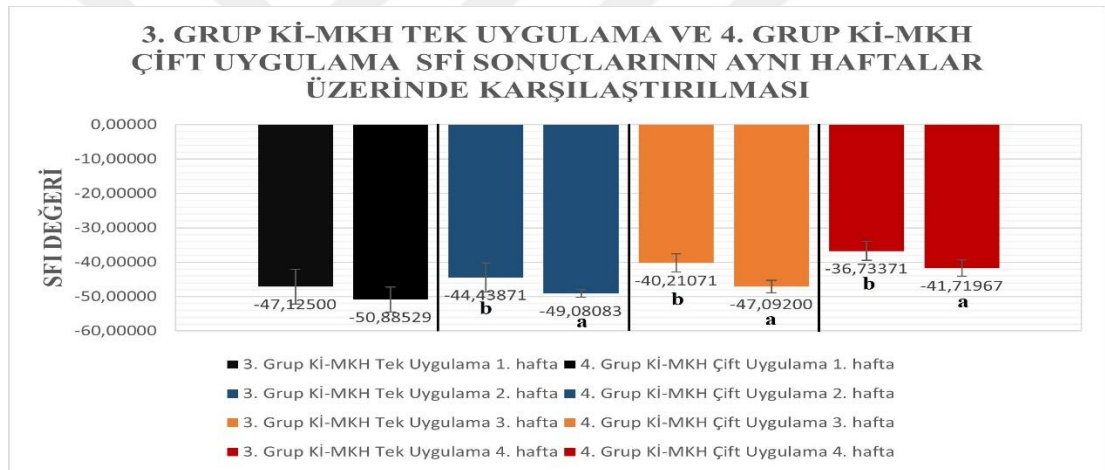


Şekil 3.18. Grup 1 Sham tek uygulama ve 2. Grup Sham çift uygulama 1., 2., 3., ve 4. hafta SFİ sonuçları karşılaştırma grafiği.

Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama ve 4. Grup Kİ-MKH çift uygulama

Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama 1. hafta ve 4. Grup Kİ-MKH çift uygulama 2. hafta SFİ sonuçları istatistiksel olarak (Şekil 3.19) değerlendirildiğinde aralarında anlamlı derecede fark olmadığı bulunmuştur. Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama 2. hafta ve 4. Grup Kİ-MKH çift uygulama 3. hafta sonuçları (Şekil 3.19) değerlendirildiğinde

aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olduğu bulunmuştur. Buna bağlı olarak 3. Grup Kİ-MKH tek uygulama 2. haftada iyileşmenin 4. Grup Kİ-MKH çift uygulama 2 haftaya göre daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama 3. hafta ve 4. Grup Kİ-MKH çift uygulama 3. hafta sonuçları (Şekil 3. 19) değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olduğu bulunmuştur. Buna bağlı olarak 3. Grup Kİ-MKH tek uygulama 3. haftada iyileşmenin 4. Grup Kİ-MKH çift uygulama 3. haftaya göre daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama 4. hafta ve 4. Grup Kİ-MKH çift uygulama 3. hafta sonuçları (Şekil 3. 19) değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olduğu bulunmuştur. Buna bağlı olarak 3. Grup Kİ-MKH tek uygulama 4. haftada iyileşmenin 4. Grup Kİ-MKH çift uygulama 4. haftaya göre daha iyi olduğu gözlemlenmiştir.

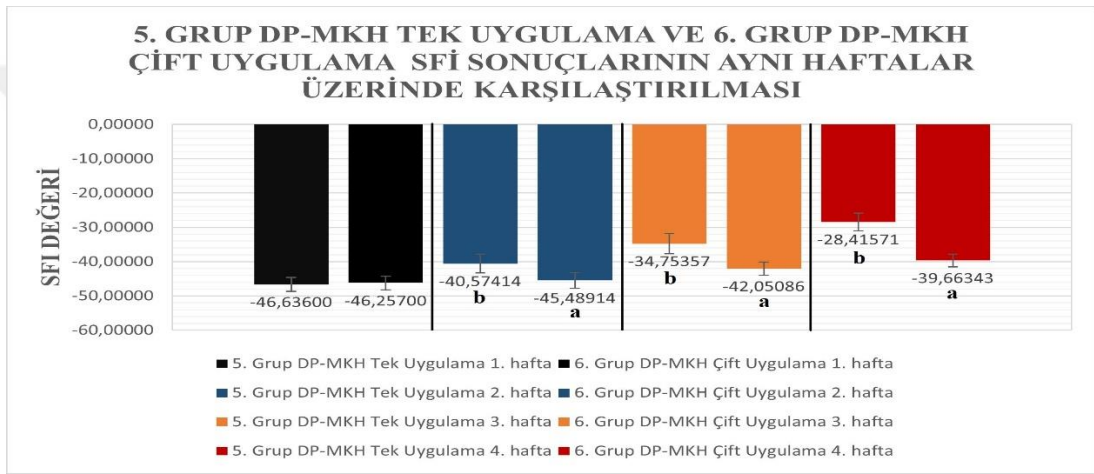


Şekil 3. 19. Grup 3 Kİ-MKH tek uygulama ve 4. Grup Kİ-MKH çift uygulama 1., 2., 3., ve 4. hafta SFİ sonuçları karşılaştırma grafiği.

Grup 5 DP-MKH tek uygulama ve 6. Grup DP-MKH çift uygulama

Grup 5 DP-MKH tek uygulama 1. hafta ve 6. Grup DP-MKH çift uygulama 1. hafta SFİ sonuçları istatistiksel olarak (Şekil 3.20) değerlendirildiğinde aralarında anlamlı derecede fark olmadığı bulunmuştur, bu da iyileşmenin 2 grupta 1. hafta da birbirine paralel olduğunu göstermektedir. Grup 5 DP-MKH tek uygulama 2. hafta ve 6. Grup DP-MKH çift uygulama 2. hafta sonuçları (Şekil 3. 20) değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olduğu bulunmuştur. Buna bağlı olarak 5. Grup DP-MKH tek uygulama 2. haftada iyileşmenin 6. Grup DP-MKH çift uygulama 2. haftaya göre daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Grup 5 DP-MKH tek

uygulama 3. hafta ve 6. Grup DP-MKH çift uygulama 3. hafta sonuçları (Şekil 3. 20) değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olduğu bulunmuştur. Buna bağlı olarak 5. Grup DP-MKH tek uygulama 3. haftada iyileşmenin 6. Grup DP-MKH çift uygulama 3. haftaya göre daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Grup 5 DP-MKH tek uygulama 4. hafta ve 6. Grup DP-MKH çift uygulama 4. hafta sonuçları (Şekil 3.20) değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olduğu bulunmuştur, Buna bağlı olarak 5. Grup DP-MKH tek uygulama 4. haftada iyileşmenin 6. Grup DP-MKH çift uygulama 4. haftaya göre iyi olduğu gözlemlenmiştir.

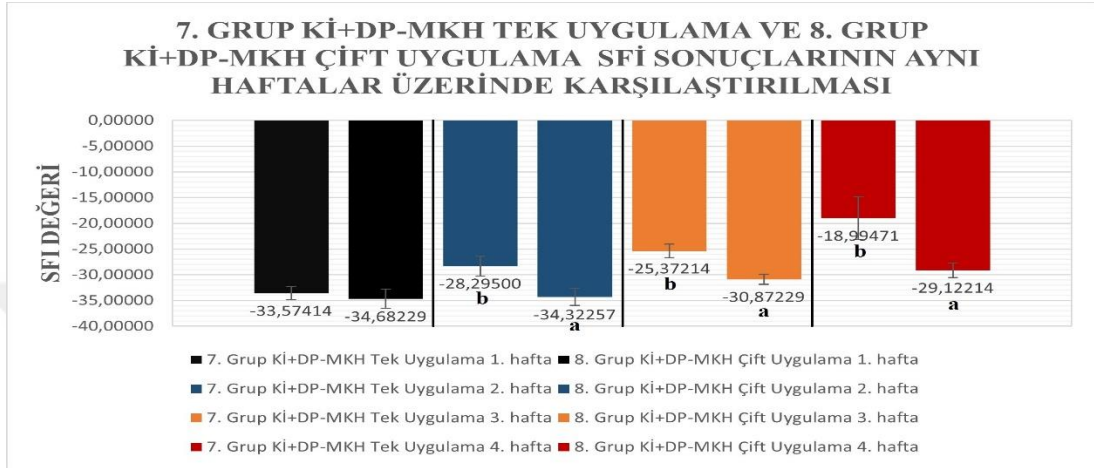


Şekil 3.20. Grup 5 DP-MKH tek uygulama birinci hafta ve 6. Hafta DP-MKH çift uygulama 1., 2., 3., ve 4. hafta SFİ sonuçları karşılaştırma grafiği.

Grup 7 Kİ+DP-MKH tek uygulama ve 8. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama

Grup 7 Kİ+DP-MKH tek uygulama 1. hafta ve 8. Grup DP-MKH çift uygulama 1. hafta SFİ sonuçları istatistiksel olarak (Şekil 3.21) değerlendirildiğinde aralarında anlamlı derecede fark olmadığı bulunmuştur. Grup 7 Kİ+DP-MKH tek uygulama 2. hafta ve 8. Grup DP-MKH çift uygulama 2. hafta sonuçları (Şekil 3. 18) değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olduğu bulunmuştur. Buna bağlı olarak 7. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama 2. haftada iyileşmenin 8. Grup DP-MKH çift uygulama 2. haftaya göre daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Grup 7 Kİ+DP-MKH tek uygulama 3. hafta ve 8. Grup DP-MKH çift uygulama 3. hafta sonuçları (Şekil 3.21) değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olduğu bulunmuştur. Buna bağlı olarak 7. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama 3. haftada iyileşmenin 8. Grup DP-MKH çift uygulama 3. haftaya

göre daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Grup 7 Kİ+DP-MKH tek uygulama 4. hafta ve 8. Grup DP-MKH çift uygulama 4. hafta sonuçları (Şekil 3.21) değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olduğu bulunmuştur. Buna bağlı olarak 7. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama 4. haftada iyileşmenin 8. Grup DP-MKH çift uygulama 4. haftaya göre daha iyi olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 3.21. Grup 7 Kİ+DP-MKH tek uygulama birinci hafta ve 8. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama 1., 2., 3., ve 4. hafta SFI sonuçları karşılaştırma grafiği.

4. TARTIŞMA

Periferik sinir yaralanmaları günlük yaşamı ciddi şekilde etkiler. Bu durum büyük sosyal sorunlara ve yüksek tedavi maliyetlerine neden olan bir sorundur. Ne yazık ki günümüz tedavi yöntemleri istenilen düzeyde sinir iyileşmesini sağlayamamaktadır. Klinikte sinir uçlarını birleştirmek ve periferik sinir sistemi rejenerasyonunu geliştirmek için otogreftler, allogreftler ve sinir kanalları gibi farklı stratejiler kullanılmaktadır (Chiono ve Tonda-Turo, 2015).

Çalışmamızda; genel uygulamalardan farklı olarak, Kİ-MKH, DP-MKH ve bu hücrelerin kombine etkilerini araştırma hedeflenmiş olup; sinir tedavisini kök hücre ile desteklediğimizdeki sonuçların, orta dönemde sinir iyileşmesine etkileri araştırıldı. Çalışmamızda kök hücreler sinirin epinöryum katmanına MEM alfa içerisinde uygulandı. Uygulamada kullandığımız kök hücrelerin büyüme faktörlerinin farklılaşması ve salgılanması nedeniyle periferik sinirlerin onarımı ve çevre dokuların onarımı üzerinde olumlu etkisi olabilir. SFI, fonksiyonel iyileşme göstergelerinin bir testidir. Sinir iyileşmesine ek olarak, çevre dokuların iyileşmesi de bu test sonuçlarına katkıda bulunur. SFI ile morfolojik değerlendirme arasındaki farkın çevre dokulardaki bu olası etkilerden kaynaklandığı düşünülebilir. Bu çalışmalara elektrofizyolojik çalışmalar ve çevre kas dokularının histopatolojik incelemelerini de ekleyerek bir yandan uygulanan kök hücrelerin çevre dokular üzerindeki olası etkisini diğer yandan çevre dokuların iyileşme üzerine olası etkileşimini daha net değerlendirmek mümkündür. Çalışmamızda, operasyon sonrası dört haftalık bir süre sonunda değerlendirmeler yapıldı. Literatürdeki benzer çalışmalardan örnek alınarak dört haftalık sürenin sinir iyileşmesi açısından yeterli olacağı düşünüldü.

Bu çalışmada, nakledilen kök hücrelerin yaralı sinir dokusu üzerindeki etkisini araştırmak için epinöryumu bozulmamış olarak ezilmiş bir sinirin epinöryum içine dental pulpa ve kemik iliği kaynaklı kök hücreleri verildi.

Çalışmamızda tek uygulama ile çift uygulama gruplarında 28. gün SFI değerleri arasında Sham grubu hariç istatistiksel olarak anlamlı fark görülse de histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak anlamlı bir fark görülememiştir. Klinik görünüme 13. gün yapılan çift uygulama etki etse de histopatolojik ve immunohistokimyasal bir fark ortaya koymamıştır. Çift doz uygulamanın

histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak tek uygulamaya göre üstün olmaması bu uygulamanın gerekliliğini veya yöntemini tekrar gözden geçirmeye yönlendirmiştir.

Marconi ve ark (2012) farelerde nervus ishiaducus üzerine 5 numara Dumont Jewellers klembi yardımıyla 30 saniye boyunca baskı uygulayarak sinir hasarı oluşturmuşlardır. Tedavide insan kaynaklı adipoz doku MKH (AD-MKH) kullanmışlardır. Sinir hasarı işleminden 7 gün sonra 1ml PBS içerisinde 2×10^6 insan kaynaklı MKH kuyruk venasından sistemik olarak uygulamışlardır. Marconi ve ark (2012) çalışmamızda kullandığımız kök hücre miktarının 2 katını kullanmışlardır. Sham grubuna ise PBS enjeksiyonu uygulamışlardır. Çalışma sonucunda cerrahi prosedürden 1 hafta önce ve sonra 7, 14, 21, 28 ve 35. günlerde yaptıkları yürüme analizlerine göre kök hücre transplantasyonu sonrası 7. günden itibaren kök hücre grubun Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derece iyileşme gözlemlenmiştir. Marconi ve ark. (2012) çalışmalarında 14 ve 21. günlerde AD-MKH SFI değerinin Sham grubuna göre iyileşmede daha iyi olduğunu göstermişlerdir. Ancak 35. günden sonra MKH grubu ve Sham grubunda tamamen normal bir motor fonksiyona ulaştığını bildirmişlerdir. Çalışmamızdaki gruplardan 1. Grup Sham tek uygulama ve 2. Grup Sham çift uygulamada SFI değerlerinin 1. hafta ile 4. hafta arasında bir fark olmadığı dolayısıyla iyileşmenin olmadığı gözlemlenmiştir, Marconi ve ark (2012) çalışmasında da Sham grubunda 1 ve 4. hafta arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farkın olmaması buna bağlı olarak iyileşmenin olmadığını görülmüştür, elde ettikleri bu sonuç çalışmamız ile paraleldir. Çalışmamızda bulunan 3. Grup Kİ-MKH tek uygulama, 5. Grup DP-MKH tek uygulama, 7. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama gruplarında SFI değerlerinin 7. günden itibaren artarak devam etmesi dolayısıyla iyileşmenin de artarak devam etmesi Marconi ve ark (2012) çalışmasındaki AD-MKH gruplarında iyileşmenin 7. Günden itibaren artarak devam etmesi ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızda bulunan 4. Grup Kİ-MKH çift uygulama, 6. Grup DP-MKH çift uygulama, 8. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama gruplarında SFI değerlerinin 7. Gün SFI sonuçları Marconi ve arkadaşları (2012) ile paralellik gösterse de çalışmamızda 13. günde uygulanan ikinci doz kök hücre uygulamasına bağlı olarak bu gruplarda SFI değerinde artma gözlemlenmemesi çalışmalarında tek uygulama yapan Marconi ve arkadaşlarına (2012) göre farklılık göstermektedir. Çalışmamızda bulunan 4. Grup Kİ-MKH çift uygulama, 6. Grup DP-

MKH çift uygulama, 8. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama gruplarında SFİ değerlerinin 21. gün ve 28. gün sonuçlarının artması ve buna bağlı olarak iyileşmenin gözlemlenmesi, tek uygulama yapan Marconi ve arkadaşlarının (2012) sonuçları ile paralellik göstermektedir. Çalışmamız 28 gün sürdüğü için Marconi ve arkadaşlarının (2012) 35. gün sonuçları ile karşılaştırma yapılamamıştır. Marconi ve ark (2012) çalışmamıza göre 2 kat hücre kullanmasına rağmen sonuçlarımızda uyumluluk gözlemlenmektedir.

Farklılaştırılmamış kök hücre kullanılmasının etkisi, derecesi, bulunduğu niş ve dokunun ihtiyacı doğrultusunda asimetric bölünme ile daha kapsamlı olabileceği düşünüldüğünde, kısıtlı olabileceği bilinen bir hücreye farklılaştırılarak kullanımında kendi potansiyelini düşürebileceği göz önüne alınmalıdır. Bulunduğu nişte en etkili, farklı bir hücreye veya hücrelere dönüşümü söz konusu olduğundan kök hücreyi farklılaştırmadan kullanmak daha etkin ve avantajlı olabilir. Bununda ötesinde farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış kök hücre karşılaştırılmasının yapılması bu konunun aydınlığa kavuşturulmasını sağlamak açısından önemli olacaktır.

Yang ve ark (2015) ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada internal obturator kanaldan 1 mm uzaklıkta, trifurkasyonun 10 mm proksimalinde nervus ishiadicus'un 2 mm'lik kısmına 1,5 g/mm² basınç-sıkıştırma kuvveti, 20 dk. boyunca B-3V damar klembi yardımıyla çalışmamız ile aynı klembi kullanıp aynı ölçüde sıkıştırma kuvvetini uygulayarak ratların siyatik sinirinde iskemi hasarı oluşturmuşlardır. Çalışmalarında ezilme hasarı sonrası rat kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre uygulamasını soğuk suda yüzdürme (ortalama 16,5°C olan su havuzunda yüzdürme) tedavisi ile karşılaştırmışlardır. Gruplarını oluştururken 1. grup olarak hiçbir tedavi uygulanmayan Sham grubu, 2. grup olarak sadece tek doz olarak 0,2 ml kollojen jel medium içerisinde 1x10⁵ rat kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre (Kİ-MKH) uygulanan grup, 3. grup olarak tek doz 0,2 ml kollojen jel medium içerisinde 1x10⁵ rat kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre uygulaması ile beraber 10 gün boyunca soğuk suda yüzdürme (Kİ-MKH+SSY) uygulanan kombine grup ve 10 gün boyunca sadece soğuk suda yüzdürme (SSY) uygulanan grup olmak üzere 4 gruptan oluşturmuşlardır. Kök hücreleri hasarlı sinirin epinöryum katmanına uygulamışlardır. Yang ve ark (2015) çalışmamızda kullandığımız kök hücrenin 10'da birini kullanmışlardır. 10 gün sonra Kİ-MKH, Kİ-MKH+SSY, SSY ve Sham grupları

arasındaki SFİ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulmuşlardır. Kİ-MKH+SSY grubunun SFI değerlerinin Kİ-MKH, SSY ve tedavi edilmeyen Sham grubundan anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir, bu da iyileşmenin Kİ-MKH+SSY grubunda daha olumlu olduğunu göstermektedir. Kİ-MKH, SSY ve Sham grubu arasında SFİ değerleri istatistiksel olarak farklı değildir. Operasyondan dört hafta sonra Kİ-MKH+SSY grubunun SFI değerlerinin Kİ-MKH, SSY ve tedavi edilmeyen gruplardan anlamlı derecede düşük olduğunu bulmuşlardır, buda Kİ-MKH+SSY grubunda iyileşmenin diğer gruplardan önemli derecede iyi olduğunu göstermiştir. SFI değerleri Kİ-MKH ve SSY gruplarında Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ancak Kİ-MKH ve SSY grupları arasında istatistiksel açıdan bir fark gözlemlenmemişlerdir, buna bağlı olarak Kİ-MKH ve SSY gruplarında iyileşmenin Sham grubuna göre daha iyi olduğunu göstermişlerdir. Yang ve arkadaşlarının (2015) elde ettikleri dördüncü hafta SFİ sonuçları değerlendirildiğinde çalışmamız da bulunan tüm kök hücre uygulama grupları ile paralellik göstererek Sham grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede farklı iyileşme göstermiştir. Yang ve arkadaşları (2015) siyatik sinirlerin uzunlamasına kesitlerinde inflamasyon ve S100 ekspresyonunu değerlendirdiği çalışmalarında Kİ-MKH ve Kİ-MKH+SSY uygulanan grupların S100 ekspresyonunun, Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu göstererek iyileşmenin varlığını göstermişlerdir. Tedavi edilmeyen Sham grubunda ezilme yaralanmasından sonra daha az S100 ekspresyonu bildirerek iyileşmenin gerçekleşmediğini göstermişlerdir. Yang ve arkadaşları (2015) ile paralel olarak, çalışmamızda Sham tek ve çift uygulama grupları hariç diğer tüm gruplarda S100 ekspresyonunun yüksek oranda görülmesi, iyileşmenin önemli bir göstergesidir. Yang ve ark (2016) çalışmamızda kullandığımız kök hücrenin hücrenin 10'da 1'ini kullanmalarına rağmen çalışmamız ile uyumlu sonuçlar göstermişlerdir.

Yang ve ark (2016) ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada internal obturator kanaldan 1 mm uzaklıkta, trifurkasyonun 10 mm proksimalinde nervus ishiadicus'un 2 mm'lik kısmına 1,5 g/mm² basınç-sıkıştırma kuvveti, 20 dk. boyunca B-3V damar klembi yardımıyla çalışmamız ile aynı klembi kullanarak aynı ölçüde sıkıştırma kuvvetini uygulayarak ratların siyatik sinirinde iskemi hasarı oluşturmuşlardır. Yang ve arkadaşları (2016) çalışma gruplarını oluştururken birinci grupta tedavi amaçlı tek uygulama olarak 0,2 ml kollojen jel medium içerisinde 1x10⁵ kemik iliği kaynaklı rat

mezenkimal kök hücresi (Kİ-MKH), ikinci grupta tek uygulama olarak 0,2 ml kollojen jel medium içerisinde 1×10^5 kemik iliği kaynaklı rat mezenkimal kök hücresi ve buna ek olarak 7 gün boyunca düşük seviyeli lazer ışınlaması (Kİ-MKH+DSLİ) uygulamışlardır, üçüncü grupta ise 7 gün boyunca sadece düşük seviyeli lazer ışınlama (DSLİ) tedavisini uygulamışlardır. Dördüncü grupları ise sadece iskemi hasarı oluşturdukları Sham grubudur. Kök hücreleri hasarlı sinirin epinöryum katmanına uygulamışlardır. Yang ve ark (2016) çalışmamızda kullandığımız kök hücrenin 10'da birini kullanmışlardır. Tedaviden sonra, dört gruptaki 0. hafta, 1. hafta, 2. hafta ve 3. hafta SFI değerlerini incelemişlerdir. Tedaviden hemen sonra ve 0. hafta zaman noktasında gözlemlenen SFI değerinin hem DSLİ hem de Kİ-MKH+DSLİ gruplarında tedavi edilmeyen kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek olduğunu buna bağlı olarak hem DSLİ hem de Kİ-MKH+DSLİ gruplarında iyileşmenin olduğunu göstermişlerdir. Kİ-MKH ve tedavi edilmeyen Sham grubu arasında veya Kİ-MKH+DSLİ ve DSLİ grupları arasında anlamlı fark olmadığını, ayrıca Kİ-MKH+DSLİ ve Kİ-MKH grupları arasında da belirgin bir farklılık göstermişlerdir. Tedavilerin kesilmesinden 1 hafta sonra yani 1. hafta zaman noktasında gözlemlenen SFI değeri Kİ-MKH ($-74 \pm 5,0$), DSLİ ($-74,5 \pm 8,7$) ve Kİ-MKH+DSLİ ($-37,0 \pm 3,5$), gruplarında tedavi edilmeyen kontrol ($-90,0 \pm 3,9$) grubuna göre önemli ölçüde daha yüksektir buna bağlı olarak Kİ-MKH, DSLİ ve Kİ-MKH+DSLİ gruplarında iyileşmenin olduğunu göstermişlerdir. SFI ayrıca Kİ-MKH veya DSLİ grubuna kıyasla Kİ-MKH+DSLİ grubunda önemli bir artış göstermiştir bu da iyileşmenin Kİ-MKH+DSLİ grubunda diğer gruplara göre daha iyi olduğunu gösterir. Çalışmalarında Kİ-MKH ve DSLİ grupları arasında belirgin bir fark yoktur, bu da iyileşme de iki grup arasında bir ayırım yapılamayacağını göstermektedir. İkinci hafta Kİ-MKH ($-58,4 \pm 5,4$), DSLİ ($-55,3 \pm 4,6$) ve Kİ-MKH+DSLİ ($-29,0 \pm 3,1$), Kontrol ($-75,3 \pm 3,9$) ve 3. hafta zaman noktalarında Kİ-MKH ($-50,4 \pm 4,8$), DSLİ ($-55,3 \pm 4,6$) ve Kİ-MKH+DSLİ ($-24,6 \pm 3,9$), Kontrol ($-69,9 \pm 2,8$) SFI değerleri 1. hafta zaman noktasındakilere göre istatistiksel olarak daha iyi sonuçlar vermiştir. Çalışmamızda kök hücre tek uygulama gruplarının tümünde ilk haftadan itibaren 4. haftaya kadar SFI sonuçlarında artan bir iyileşme görülürken, kök hücre çift uygulama gruplarında 2. doz kök hücre uygulamasına bağlı olarak 2. ve 3. hafta sonuçlarında anlamlı bir farka rastlanamamıştır. Yang ve arkadaşları (2016) siyatik sinirlerin uzunlamasına kesitlerinde inflamasyon, vakuol oluşumu ve S100 ekspresyonlarını değerlendirdikleri çalışmalarında, çekirdek yüzdesinin tüm gruplarda yaygın olarak arttığını ve

yaralanmamış sinirle karşılaştırıldığında sinir ezilmesinden sonra daha fazla iltihaplanma ve hücre infiltrasyonu gösterdiğini bildirmişlerdir, bu da hücre de dejenerasyon değil rejenerasyon olduğunu göstermektedir. Kİ-MKH grubunda Kİ-MKH transplantasyonu almayan DSLI ve tedavi edilmeyen Sham gruplarıyla karşılaştırıldığında, Kİ-MKH transplantasyonu yapılan alan çevresinde bağışıklık hücrelerinin belirgin bir infiltrasyonu tespit etmişlerdir. Bu infiltrasyonun varlığı SFİ değeri ile paralellik arz etmektedir, bu da kök hücre transplantasyonunun etkisinin sadece klinik bulgularda değil hücresel düzeyde de gösterdiğini ifade etmektedir. Çalışmalarındaki iltihaplanma ve hücre infiltrasyonu sonuçları çalışmamız ile uyumludur. Ayrıca, Kİ-MKH+DSLI grubunda, Kİ-MKH grubuna kıyasla bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonunun önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir. Vakuol oluşumu, yaralanmamış sinirle karşılaştırıldığında sinir ezilmesinden sonra da artırmıştır. Ezilme ile indüklenen vakuol oluşumunun sadece Kİ-MKH uygulamasıyla azaldığını göstermişlerdir. SFİ değerlerinde Kİ-MKH grubu ve DSLI grubunda istatistiksel bir fark bulmamaları ile vakuol oluşumu ve SFİ değeri arasında bir korelasyon göstermemektedir. Tedavi edilmeyen Sham grubunda ezilme yaralanmasından sonra daha az S-100 ekspresyonu gözlemlemişlerdir, ancak Kİ-MKH, DSLI ve Kİ-MKH+DSLI gruplarında önemli miktarda S-100 ekspresyonu gözlemişlerdir, çalışmamızda Sham tek ve çift uygulama grupları hariç diğer tüm gruplarda bu sonuçlara paralel olarak önemli miktarda S-100 ekspresyonu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda S100 ekspresyonunun 1. grup Sham tek uygulama ve 2. grup Sham çift uygulama hariç tüm gruplarda kontrole yakın olması Yang ve ark (2016) sonuçları ile uyumludur. Yang ve ark (2016) çalışmalarının sonucunda düşük seviyeli lazer ışınlaması ile beraber mezenkimal kök hücre uygulamasının sadece mezenkimal kök hücre uygulaması ve sadece düşük seviyeli lazer ışınlamasından daha etkin olduğunu göstermişlerdir. Sonuçta çalışmamız Sham tek ve çift uygulama grupları hariç diğer tüm gruplar ile paralel olarak mezenkimal kök hücre uygulamasının siyatik sinir hasarında etkin bir iyileşme oluşturduğunu göstermişlerdir.

Yang ve ark (2015) ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada internal obturator kanaldan 1 mm uzaklıkta, trifurkasyonun 10 mm proksimalinde nervus ishiadicus'un 2 mm'lik kısmına 1,5 g/mm² basınç-sıkıştırma kuvveti, 20 dk. boyunca B-3V damar klembi yardımıyla çalışmamız ile aynı klembi kullanıp aynı ölçüde sıkıştırma kuvvetini uygulayarak ratlarda nervus ishiadicus iskemi hasarı oluşturmuşlardır.

Çalışmalarında ezilme hasarı sonrası rat kemik iliği kaynaklı MKH uygulamasını soğuk suda yüzdürme (ortalama 16,5°C olan su havuzunda yüzdürme) tedavisi ile karşılaştırmışlardır. Gruplarını oluştururken 1. grup olarak hiçbir tedavi uygulanmayan Sham grubu, 2. grup olarak sadece tek doz olarak 0,2 ml kollojen jel medium içerisinde 1×10^5 rat kemik iliği kaynaklı MKH (Kİ-MKH) uygulanan grup, 3. grup olarak tek doz 0,2 ml kollojen jel medium içerisinde 1×10^5 rat kemik iliği kaynaklı MKH uygulaması ile beraber 10 gün boyunca soğuk suda yüzdürme (Kİ-MKH+SSY) uygulanan kombine grup ve 10 gün boyunca sadece soğuk suda yüzdürme (SSY) uygulanan grup olmak üzere 4 gruptan oluşturmuşlardır. Kök hücreleri hasarlı sinirin epinöryum katmanına uygulamışlardır. Yang ve ark (2015) çalışmamızda kullandığımız kök hücrenin 10'da birini kullanmışlardır. 10 gün sonra Kİ-MKH, Kİ-MKH+SSY, SSY ve Sham grupları arasındaki SFI değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulmuşlardır. Kİ-MKH+SSY grubunun SFI değerlerinin Kİ-MKH, SSY ve tedavi edilmeyen Sham grubundan anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir, bu da iyileşmenin Kİ-MKH+SSY grubunda daha olumlu olduğunu göstermektedir. Kİ-MKH, SSY ve Sham grubu arasında SFI değerleri istatistiksel olarak farklı değildir. Operasyondan dört hafta sonra Kİ-MKH+SSY grubunun SFI değerlerinin Kİ-MKH, SSY ve tedavi edilmeyen gruplardan anlamlı derecede düşük olduğunu bulmuşlardır, buda Kİ-MKH+SSY grubunda iyileşmenin diğer gruplardan önemli derecede iyi olduğunu göstermiştir. SFI değerleri Kİ-MKH ve SSY gruplarında Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ancak Kİ-MKH ve SSY grupları arasında istatistiksel açıdan bir fark gözlemlenmemişlerdir, buna bağlı olarak Kİ-MKH ve SSY gruplarında iyileşmenin Sham grubuna göre daha iyi olduğunu göstermişlerdir. Yang ve arkadaşlarının (2015) elde ettikleri dördüncü hafta SFI sonuçları değerlendirildiğinde çalışmamız da bulunan tüm kök hücre uygulama grupları ile paralellik göstererek Sham grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede farklı iyileşme göstermiştir. Yang ve arkadaşları (2015) nervus ishiaducus'un uzunlamasına kesitlerinde inflamasyon ve S100 ekspresyonunu değerlendirdiği çalışmalarında Kİ-MKH ve Kİ-MKH+SSY uygulanan grupların S100 ekspresyonunun, Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu göstererek iyileşmenin varlığını göstermişlerdir. Tedavi edilmeyen Sham grubunda ezilme yaralanmasından sonra daha az S100 ekspresyonu bildirerek iyileşmenin gerçekleşmediğini göstermişlerdir. Yang ve arkadaşları (2015) ile paralel olarak, çalışmamızda Sham tek ve çift uygulama grupları hariç diğer tüm

gruplarda S100 ekspresyonunun yüksek oranda görülmesi, iyileşmenin önemli bir göstergesidir. Yang ve ark (2016) çalışmamızda kullandığımız kök hücrenin 10'da 1'ini kullanmalarına rağmen çalışmamız ile uyumlu sonuçlar göstermişlerdir.

Yang ve ark (2016) ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada internal obturator kanaldan 1 mm uzaklıkta, trifurkasyonun 10 mm proksimalinde nervus ishiadicus'un 2 mm'lik kısmına 1,5 g/mm² basınç-sıkıştırma kuvveti, 20 dk. boyunca B-3V damar klembi yardımıyla çalışmamız ile aynı klembi kullanarak aynı ölçüde sıkıştırma kuvvetini uygulayarak ratların nervus ishiadicus'u üzerinde iskemi hasarı oluşturmuşlardır. Yang ve arkadaşları (2016) çalışma gruplarını oluştururken birinci grupta tedavi amaçlı tek uygulama olarak 0,2 ml kollojen jel medium içerisinde 1x10⁵ kemik iliği kaynaklı rat MKH (Kİ-MKH), ikinci grupta tek uygulama olarak 0,2 ml kollojen jel medium içerisinde 1x10⁵ kemik iliği kaynaklı rat MKH ve buna ek olarak 7 gün boyunca düşük seviyeli lazer ışınlaması (Kİ-MKH+DSLİ) uygulamışlardır, üçüncü grupta ise 7 gün boyunca sadece düşük seviyeli lazer ışınlama (DSLİ) tedavisini uygulamışlardır. Dördüncü grupları ise sadece iskemi hasarı oluşturdukları Sham grubudur. Kök hücreleri hasarlı sinirin epinöryum katmanına uygulamışlardır. Yang ve ark (2016) çalışmamızda kullandığımız kök hücrenin 10'da birini kullanmışlardır. Tedaviden sonra, dört gruptaki 0, 1, 2 ve 3. hafta SFI değerlerini incelemişlerdir. Tedaviden hemen sonra ve 0. hafta zaman noktasında gözlemlenen SFI değerinin hem DSLİ hem de Kİ-MKH+DSLİ gruplarında tedavi edilmeyen kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek olduğunu buna bağlı olarak hem DSLİ hem de Kİ-MKH+DSLİ gruplarında iyileşmenin olduğunu göstermişlerdir. Kİ-MKH ve tedavi edilmeyen Sham grubu arasında veya Kİ-MKH+DSLİ ve DSLİ grupları arasında anlamlı fark olmadığını, ayrıca Kİ-MKH+DSLİ ve Kİ-MKH grupları arasında da belirgin bir farklılık göstermişlerdir. Tedavilerin kesilmesinden 1 hafta sonra yani 1. hafta zaman noktasında gözlemlenen SFI değeri Kİ-MKH (-74±5,0), DSLİ (-74,5±8,7) ve Kİ-MKH+DSLİ (-37,0±3,5), gruplarında tedavi edilmeyen kontrol (-90,0±3,9) grubuna göre önemli ölçüde daha yüksektir buna bağlı olarak Kİ-MKH, DSLİ ve Kİ-MKH+DSLİ gruplarında iyileşmenin olduğunu göstermişlerdir. SFI ayrıca Kİ-MKH veya DSLİ grubuna kıyasla Kİ-MKH+DSLİ grubunda önemli bir artış göstermiştir bu da iyileşmenin Kİ-MKH+DSLİ grubunda diğer gruplara göre daha iyi olduğunu gösterir. Çalışmalarında Kİ-MKH ve DSLİ grupları arasında belirgin bir fark yoktur, bu da iyileşme de iki grup arasında bir ayrım yapılamayacağını

göstermektedir. İkinci hafta Kİ-MKH (-58,4±5,4), DSLI (-55,3±4,6) ve Kİ-MKH+DSLI (-29,0±3,1), Kontrol (-75,3±3,9) ve 3. hafta zaman noktalarında Kİ-MKH (-50,4±4,8), DSLI (-55,3±4,6) ve Kİ-MKH+DSLI (-24,6±3,1), Kontrol (-69,9±2,8) SFI değerleri 1. hafta zaman noktasındakilere göre istatistiksel olarak daha iyi sonuçlar vermiştir. Çalışmamızda kök hücre tek uygulama gruplarının tümünde ilk haftadan itibaren 4. haftaya kadar SFI sonuçlarında artan bir iyileşme görülürken, kök hücre çift uygulama gruplarında 2. doz kök hücre uygulamasına bağlı olarak 2. ve 3. hafta sonuçlarında anlamlı bir farka rastlanamamıştır. Yang ve arkadaşları (2016) nervus ishiaducus'un uzunlamasına kesitlerinde inflamasyon, vakuol oluşumu ve S100 ekspresyonlarını değerlendirdikleri çalışmalarında, çekirdek yüzdesinin tüm gruplarda yaygın olarak arttığını ve yaralanmamış sinirle karşılaştırıldığında sinir ezilmesinden sonra daha fazla iltihaplanma ve hücre infiltrasyonu gösterdiğini bildirmişlerdir, bu da hücre de dejenerasyon değil rejenerasyon olduğunu göstermektedir. Kİ-MKH grubunda Kİ-MKH transplantasyonu almayan DSLI ve tedavi edilmeyen Sham gruplarıyla karşılaştırıldığında, Kİ-MKH transplantasyonu yapılan alan çevresinde bağışıklık hücrelerinin belirgin bir infiltrasyonu tespit etmişlerdir. Bu infiltrasyonun varlığı SFI değeri ile paralellik arz etmektedir, bu da kök hücre transplantasyonunun etkisinin sadece klinik bulgularda değil hücresel düzeyde de gösterdiğini ifade etmektedir. Çalışmalarındaki iltihaplanma ve hücre infiltrasyonu sonuçları çalışmamız ile uyumludur. Ayrıca, Kİ-MKH+DSLI grubunda, Kİ-MKH grubuna kıyasla bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonunun önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir. Vakuol oluşumu, yaralanmamış sinirle karşılaştırıldığında sinir ezilmesinden sonra da artmıştır. Ezilme ile indüklenen vakuol oluşumunun sadece Kİ-MKH uygulamasıyla azaldığını göstermişlerdir. SFI değerlerinde Kİ-MKH grubu ve DSLI grubunda istatistiksel bir fark bulmamaları ile vakuol oluşumu ve SFI değeri arasında bir korelasyon göstermemektedir. Tedavi edilmeyen Sham grubunda ezilme yaralanmasından sonra daha az S-100 ekspresyonu gözlemlemişlerdir, ancak Kİ-MKH, DSLI ve Kİ-MKH+DSLI gruplarında önemli miktarda S-100 ekspresyonu gözlemişlerdir, çalışmamızda Sham tek ve çift uygulama grupları hariç diğer tüm gruplarda bu sonuçlara paralel olarak önemli miktarda S-100 ekspresyonu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda S100 ekspresyonunun 1. grup Sham tek uygulama ve 2. grup Sham çift uygulama hariç tüm gruplarda kontrole yakın olması Yang ve ark (2016) sonuçları ile uyumludur. Yang ve ark (2016) çalışmalarının sonucunda düşük seviyeli lazer ışınlaması ile beraber MKH uygulamasının sadece MKH uygulaması ve

sadece düşük seviyeli lazer ışınlamasından daha etkin olduğunu göstermişlerdir. Sonuçta çalışmamız Sham tek ve çift uygulama grupları hariç diğer tüm gruplar ile paralel olarak MKH uygulamasının nervus ishiaducus hasarında etkin bir iyileşme oluşturduğunu göstermişlerdir.

Yang ve ark (2016) kombine uygulama dışı tek başına Kİ-MKH çalışmalarında elde ettikleri SFI değerlerinin bizim tek ve çift Kİ-MKH, DP-MKH ve Kİ+DP-MKH uygulamalarına göre daha düşük değerler elde etmeleri, dolayısıyla klinik bakımdan yürüme performanslarının daha düşük olması, bizim çalışmamızda kullandığımız kök hücre sayısının 10 kat daha fazla kullanılmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Bunun yansıra, diğer taraftan bizim çalışmamızda kullandığımız kök hücre sayısının, Yang ve ark (2015; 2016) kombine uygulamalarda tek başlarına ayrı ayrı uygulamalara göre istatistiksel olarak daha başarılı oldukları çalışmalarda kullanılan 10 misli daha fazla olması ve onlarınki ile aynı sonuçların elde edilmesi, kullanılan kök hücre sayısını artırarak (bizim çalışmamızda 10 misli) kombine uygulamada ekstra olarak kullanılan yüzdürme (Yang ve ark 2015) ve düşük seviyeli lazer (Yang ve ark 2016) gibi 2. araçlara olan gereksinimi ortadan kaldırarak uygulamayı daha kolay ve basit hale getireceği açıktır.

Ma ve ark (2017) ratlarda nervus ishiaducus'un trifurkasyonun 10 mm proksimalinde 5 numara Dumont Jewelers klembi yardımıyla 30 sn. boyunca tutulması ile 3 mm genişliğinde ezilme hasarı oluşturdukları ezilme hasarını rat kemik iliği kaynaklı MKH ekstrasellular veziküllere (MKH-EV) farklılaştırarak tedavi etmişlerdir. Çalışmalarında karşılaştırma için bir grup rata hiçbir müdahalede bulunmayarak Sham grubu oluşturmuşlardır. Nervus ishiaducus ezilmesinden sonra, tüm ratlarda siyatik sinir fonksiyonunun tamamen kaybı sonucu ortalama SFI -100'e düştüğünü göstermişlerdir. Yaralanmadan sonraki bir hafta içinde, MKH-EV grubu ile Sham grubu arasında anlamlı bir fark gözlemlenmiştir. İkinci haftadan 4. haftaya kadar MKH-EV grubunda SFI değerinin, Sham grubuna kıyasla önemli ölçüde iyileştiğini bildirmişlerdir. Bu sonuçlar, MSC-EV'lerin ratı ciddi nervus ishiaducus hasarından koruyabileceğini göstermektedir. Yaptıkları SFI analizinde 3. haftadan sonra iyileşmenin istatistiksel olarak başladığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda farklılaştırılmamış kemik iliği kaynaklı ve dental pulpa kaynaklı MKH ayrı ayrı ve birlikte kombine kullanılmış olup, daha birinci haftadan itibaren çalışmamızdaki 3.

Grup Kİ-MKH tek uygulama, 5. Grup DP-MKH tek uygulama ve 7. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama gruplarında istatistiksel olarak iyileşmenin başladığı gözlemlenmiştir. Çalışmamızda birlikte kombine kullanımın ayrı ayrı kullanıma göre daha etkin olduğu istatistiksel olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda 4. Grup Kİ-MKH çift uygulama, 6. Grup DP-MKH çift uygulama ve 8. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama yapılan gruplarda 13. gün 2. doz kök hücre uygulanmasına bağlı olarak 14. günde yapılan SFI değerleri 1. hafta değerleri ile istatistiksel fark göstermemiştir. Çift uygulama yaptığımız gruplarda buna bağlı 2. haftada iyileşmenin olmaması Ma ve ark (2017) ile uyumlu sonuç göstermiştir. Ancak bunun lokal çift uygulamanın travmaya yol açması neticesinde olduğu göz önüne alınmalıdır.

Okuwa ve ark (2018) ratlarda nervus ishiaducus bir klemp yardımıyla 0.59 N basınç-sıkıştırma kuvvetini 30 dk. boyunca baskı uygulayarak sinir hasarı oluşturdukları, tedavide rat yerine insan molar dişinden elde ettikleri dental pulpa MKH kullandıkları çalışma sonucunda 7, 10 ve 14. günlerde yaptıkları yürüme analizlerine göre 7. günden itibaren kontrol grubuna göre istatistiksel olarak iyileşme gözlemlenmişlerdir. Elde ettikleri verilere göre çalışmamızda bulunan 3. Grup Kİ-MKH tek uygulama, 5. Grup DP-MKH tek uygulama, 7. Grup Kİ+DP-MKH tek uygulama grupları SFI değerleri 7. gün sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. Bizim çalışmamızda bulunan bu üç grup ilk haftadan itibaren artarak devam eden iyileşme göstermektedir. Ancak 5. Grup Kİ-MKH çift uygulama, 7. Grup DP-MKH çift uygulama ve 8. Grup Kİ+DP-MKH çift uygulama yapılan gruplarda 13. gün 2. doz kök hücre uygulanmasına bağlı olarak 14. günde yapılan SFI değerleri, ilk hafta sonuçlarımızla istatistiksel olarak fark oluşturmadığı için için Okuwa ve ark (2018) 14. gün SFI sonuçları ile farklılık göstermektedir. Bu farklılığın nedeni 13. gün 2. doz uygulama yapılırken tekrarlanan travmadır. Okuwa ve ark (2018) 2. hafta sonunda çalışmayı sonlandırmaları, çalışmamızdaki çift uygulama grupları ile kıyaslama yapılmasına elverişli olmamaktadır.

Wang ve ark (2020) ratlarda nervus ishiaducus'a bir damar klipsi yerleştirdikleri ve 2 dakika boyunca 30 g'lık bir ezme kuvvetine tabi tuttıkları tedavi amaçlı hasar sonrası insan dental pulpa MKH (DP-MKH) bir grupta farklılaştırma işlemine maruz bırakılmadan, diğer bir grupta ise nörojenik farklılaştırma uygulayarak (N+DP-MKH) kullanmışlardır. Tedavi başlangıcından iki hafta sonra hem DP-MKH

grubu hem de N+DP-MKH ($-38,73 \pm 14,22$) grubunun Sham ($-68,53 \pm 11,61$) grubuna göre iyileşme belirtileri gösterdiğini SFI analizi yaparak bildirmişlerdir. Sham grubunun SFI değerlerinin ise ilk haftadan itibaren ilerleyen haftalarda daha da kötüleştiğini ortaya koymuşlardır. Wang ve ark (2020) elde ettikleri bu 2. hafta sonuçları çalışmamızda yer alan Sham grubu hariç tüm gruplarımız ile aynı zaman diliminde paralellik göstermiştir. Ancak operasyondan 3 hafta sonra, N-DP-MKH ($-40,08 \pm 13,73$) grubundaki ratların motor fonksiyonunun, tedaviden 2 hafta sonra stabil olma eğiliminde olan DP-MKH grubundaki ve Sham ($-67,23 \pm 19,91$) grubundaki ratlarınkine kıyasla sürekli bir iyileşme gösterdiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda ise 5. Grup DP-MKH tek uygulama grubundaki ratların iyileşmesinin 3. Grup Kİ-MKH tek uygulama ve Sham grubuna göre artarak devam ettiği gözlemlenmiştir. Wang ve ark (2020) birlikte ele alındığında, implante edilen DP-MKH'lerin ve N+DP-MKH'lerin hücre tabakasının, sinir ezilme yaralanmasından sonra lokomotor iyileşmesine yardımcı olabileceğini göstermişlerdir. Çalışmamızda aynı ırk ve türe ait kök hücre kullanılmış olmasına rağmen Wang ve ark (2020)'nın ratlar da insana ait dental pulpa kullanması ve başarılı sonuç elde etmesi dikkat çekmektedir. Bu durum farklı türler arasında kök hücre nakli yapılması ile ilgili çalışmaların önünü açma potansiyeli oluşturmuştur.

Çalışmamızda elde edilen veriler doğrultusunda 13. gününde lokal 2. doz uygulama nedeniyle iyileşme tek uygulama gruplarına göre daha geç görülmüştür. Lokal çift uygulamanın travmaya yol açması neticesinde iyileşmeye engel olucu olumsuz etkisinin, kök hücrelerin venöz uygulama yoluyla verilmesi (Marconi ve ark 2012) sayesinde giderilebileceği düşünülmekte ve tek doz uygulamaya ilave bir tetikleyici iyileştirme etkisi oluşturabileceği dikkate alınmalıdır. Bu uygulamanın tekrar travmaya yol açmaması tek uygulama kök hücre grupları ile kıyaslamada sonuçları daha objektif yapacağı düşünülmektedir. Burada dikkat edici bir nokta şudur ki 2. hafta ortalama SFI değerlerinin çift uygulama grubunda iyileşmenin olumsuz olduğunu göstermesinin 4. haftada da aynı şekilde devam etmesine neyin sebep olduğu anlaşılamamıştır. Başka bir deyişle 2. hafta da oluşturulan travmatik etkinin neticesinde elde edildiğini sandığımız olumsuz etkinin gerçekte 4. haftada düzelmesi veya en azından tek uygulama grubuna yetişmesi beklenirken, 4. haftada da olumsuz gelişmenin devam etmesinin gerçek nedeni bilinmemektedir. Tek uygulama kök hücre uygulamasının tek seferde uygulanması ve istatistiksel olarak çift uygulamaya göre

daha iyi sonuçlar vermesi pratikte daha kolay gelmektedir. Bu durum ve bugüne kadar yapılan çalışmalarda da uygun doz yoğunluğunun ne olduğu veya olması gerektiği hakkında herhangi bir bilgi bulunmaması, hücre tiplerine ve aynı zamanda yapılan operatif veya nonoperatif işleme göre uygun performans etkinliği açısından minimum ve maksimum doz miktarının belirlenmesi gereksiniminin önemini ortaya koymaktadır.

Kemik iliği MKH (ilik stromal hücreleri) normal olarak hemopoez için yapısal ve fonksiyonel destek sağlar. Kemik, kıkırdak ve yağ dokusuna farklılaşma potansiyeline sahip oldukları bilinmektedir (Shimizu ve ark 2007). Kemik iliği MKH aynı zamanda nöral belirteçleri de ifade ettiği gösterilmiştir (Blondheim 2006). Dezawa ve ark (2001) kemik iliği MKH'den türetilen Schwann hücrelerini yetişkin ratların kesilmiş nervus ishiaducus'una naklederek miyelin sentezinin eşlik ettiği güçlü sinir rejenerasyonunu ortaya çıkarmıştır. Dezawa ve ark (2001) kemik iliği MKH'nin, sinir lifinin yeniden büyümesini destekleyebilen miyelin hücrelerine farklılaşabileceğini ve bu nedenle sinir rejenerasyonunu indüklemek için terapötik olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir. Fathi ve ark (2019) Kİ-MKH'lerin nöronlar ve Schwann hücresi benzeri hücreler dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerine farklılaşma yeteneğini göstermişlerdir.

Dental pulpa kök hücreleri (DP-MKH'ler), diş pulpasında bulunan multipotent kök hücrelerdir. Diş eti dokusunun yaralanmadan sonra çok hızlı iyileştiği bilinmektedir ve işlevleri nedeniyle skar oluşumu nadirdir. Bu hücrelerin homojen olmaları, tümörojenik olmamaları, kolayca ayrılmalrı ve fenotipik olarak stabil olmaları gibi birçok avantajı vardır (Cao ve ark 2017). Nöral hücre belirteçlerini ifade etme ve nörotrofik faktör salgılama yetenekleri göz önüne alındığında, sinir hasarında en uygun kök hücre kaynaklarından biri oldukları düşünülmektedir. Bu alandaki az sayıda çalışma, yaralanma sonrası sinir rejenerasyonunu artırmak için DP-MKH'lerin kullanılmasının etkinliğini göstermiştir. DP-MKH'lerin kemo-çekici özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. In vitro olarak, Schwann hücrelerine başarılı bir şekilde farklılaşmayı başardıkları ve dorsal kök ganglion (Drg) nöronlarından nörit büyümesini destekledikleri ortaya konmuştur (Martens ve ark 2014). DP-MKH'lerin olgun oligodendrositlere farklılaşarak kayıp hücrelerin değiştirilmesi, nöronlar, astrositler ve gliya hücreleri üzerindeki antiapoptotik etki ve nöronal progenitör

hücrelerin göçünün ve farklılaşmasının hızlanması gibi sinir rejenerasyonu üzerindeki teşvik edici etkileri, merkezi sinir lezyonunda (spinal) gösterilmiştir (Sakai ve ark 2012, Sugiyama ve ark 2011).

Araştırmacıların verdiği bilgiler doğrultusunda ve elde ettiğimiz istatistiksel sonuçlar gözden geçirildiğinde daha az acı verici yöntem olarak özellikle süt dişleri ve 20'lik dişlerden elde edilebilen dental pulpa kaynaklı kök hücreler, ağırlı bir aspirasyon sürecine sahip kemik iliğine göre daha etkin sonuçlar ortaya koymuştur. Dental pulpadan elde edilen kök hücrelerin sinir hücrelerine dönüşüm potansiyelinin kemik iliğinden elde edilen MKH'ye göre daha yüksek olduğu daha önceki araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (Martens ve ark 2014, Sakai ve ark 2012, Sugiyama ve ark 2011).

Kaynaklar incelendiğinde ratların nervus ishiaducus'unda iskemi ile oluşturulan yaralanmalarda çalışmamızdaki gibi kemik iliği kaynaklı ve dental pulpa kaynaklı MKH'nin çift doz uygulanmasına dair herhangi bir bilgi ya da uygulama yoktur. Daha önceki yapılan çalışmalarda ratların siyatik sinirinde iskemi ile oluşturulan yaralanmalarda çalışmamızdaki gibi iki farklı kaynaktan elde edilmiş MKH'nin kombine kullanımına dair bir bulgu bulunamamıştır. Bu araştırmada elde ettiğimiz bulgulara göre kombine kullanımın iyileşmeye etkisi göze alındığında daha sonraki çalışmalarda işaretlenmiş hücreler ile hangi kaynaklı kök hücrenin daha yoğun olduğu ve etkinliğinin hangisinden kaynaklandığı araştırılabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dental pulpa'dan elde edilen MKH yakın gelecekte dental pulpa kök hücre transplantasyonunun periferik sinir onarımı ve rejenerasyonunda otolog sinir greftlerinin yerini almak için olası bir aday olabileceğini tahmin ediyoruz.

Yapılacak çalışmalarda immunflorasan boyalar ile işaretlenmiş kök hücreler kullanılarak sinir hasarından sonra uygulanan kök hücrelerin ilerleyen haftalardaki yoğunlukları daha ayrıntılı incelenebilecektir. Dental pulpa'dan kök hücre izolasyonunda rat dişlerindeki dental pulpa miktarının az olması göz önünde bulundurulmalıdır.



6. KAYNAKLAR

- Aguayo AJ, Charron L, Bray GM, 1976. Potential of Schwann cells from unmyelinated nerves to produce myelin: a quantitative ultrastructural and radiographic study. *J. Neurocytol*, 5, 565-573.
- Alkhalil M, Smajilagić A, Redžić A, 2015. Human dental pulp mesenchymal stem cells isolation and osteoblast differentiation. *Medicinski Glasnik*, 12, 27-32.
- Anthea M, Hopkins J, McLaughlin CW, Johnson S, Warner MQ, LaHart D, Wright JD, 1993. *Human Biology and Health*. Englewood Cliffs, New Jersey, USA: Prentice Hall. pp. 132-144.
- Bain JR, Mackinnon SE, Hudson AR, Wade J, Evans P, Makino A, Hunter D, 1992. The peripheral nerve allograft in the primate immunosuppressed with Cyclosporin A: I. Histologic and electrophysiologic assessment. *Plast Reconstr Surg*, 90, 1036-1046.
- Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA, 1989. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg*, 83, 129-138.
- Barres BA, 2003. What is a glial cell? *Glia* 43, 4-5
- Baumann N, Pham-Dinh D, 2001. Biology of Oligodendrocyte and Myelin in the Mammalian Central Nervous System. *Physiological Reviews*, 81, 871-927.
- Bermingham JR, Scherer SS, O'Connell S, et al., 1996. Tst-1/Oct-6/ SCIP regulates a unique step in peripheral myelination and is required for normal respiration. *Genes and Development*, 10, 1751-1762.
- Berthold CH, 1968. Ultrastructure of the node-paranode region of mature feline ventral lumbar spinal-root fibres. *Acta Soc Med*, 73, 37-70.
- Blaurock AE, Yale JL, Roots BI 1986. Ca-controlled, reversible structural transition in myelin. *Neurochem Res*, 11, 1103-1129.
- Blondheim NR, Levy YS, Ben-Tzur T, et al., 2006. Human mesenchymal stem cells express neuronal genes, suggesting a neural predisposition. *Stem Cells Dev*, 15, 141-64.
- Brennan A, Dean CH, Zhang AL, Cass DT, Mirsky R, Jessen KR, 2000. Endothelins control the timing of Schwann cell generation in vitro and in vivo. *Developmental Biology* 227, 545-557.
- Britsch S, 2007. The neuregulin-I/ErbB signaling system in development and disease. *Adv Anat Embryol Cell Biol*, 190, 1-65.
- Brown MC, Butler RG, 1976. Regeneration of afferent and efferent fibres to muscle spindles after nerve injury in adults cats. *J Physiol*, 260, 253-266.
- Bruno S, Bussolati B, Grange C, et al., 2009. Isolation and characterization of resident mesenchymal stem cells in human glomeruli. *Stem Cells and Development*, 18, 867-880.
- Burgess PR, Horch KW, 1973. Specific regeneration of cutaneous fibers in the cat. *J Neurophysiol*, 36, 101-114.
- Can A, 2014. *Kök hücre biyolojisi ve klinik uygulamaları*. 1th ed. Ankara, Akademi yayınları.
- Cao C, Dong Y, Dong Y, 2005. Study on culture and in vitro osteogenesis of blood-derived human mesenchymal stem cells. *Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 19, 642-647.
- Carroll P, Lewin GR, Koltzenburg M, Toyka KV, Thoenen H, 1998. A role for BDNF in mechanosensation. *Nat Neurosci*, 1, 42-46.
- Castro-Malaspina H, Gay RE, Resnick G, Kapoor N, Meyers P, Chiarieri D, McKenzie S, Broxmeyer HE, Moore MA, 1980. Characterization of human bone marrow fibroblast colony-forming cells (CFU-F) and their progeny. *Blood*, 56, 289-301.
- Chen HH, Tourtellotte WG, Frank E, 2002. Muscle spindle-derived neurotrophin 3 regulates synaptic connectivity between muscle sensory and motor neurons. *J Neurosci*, 22, 3512-3519.
- Chen X, Wang XD, Chen G, et al., 2006. Study of in vivo differentiation of rat bone marrow stromal cells into Schwann cell like cells. *Microsurgery*, 26, 111-15.
- Chiono V, Tonda-Turo C, 2015. Trends in the design of nerve guidance channels in peripheral nerve tissue engineering. *Prog Neurobiol*, 131, 87-104.
- Conget PA, Minguell JJ, 1999. Phenotypical and functional properties of human bone marrow mesenchymal progenitor cells. *J Cell Physiol*, 181, 67- 73.
- Cuevas P, Carceller F, Garcia- Gomez I, et al., 2004. Bone marrow stromal cell implantation for peripheral nerve repair. *Neurol Res*, 26, 230-232.
- da Silva ML, Chagastelles PC, Nardi NB, 2006. Mesenchymal stem cells reside in virtually all postnatal organs and tissues. *Journal of Cell Science*, 119, 2204-2213.
- Daley GQ, Goodell MA, Synder EY, 2003. Realistic prospects for stem cell therapeutics. *Am Soc Hematol*, 34, 398-418.
- De Vos KJ, Grierson AJ, Ackerley S, Miller CC, 2008. Role of axonal transport in neurodegenerative diseases. *Annu Rev Neurosci*, 31, 151-173.

- Decker L, Desmarquet-Trin-Dinh, C, Taillebourg E, Ghislain J, Vallat JM, Charnay P, 2006. Peripheral myelin maintenance is a dynamic process requiring constant Krox20 expression. *Journal of Neuroscience*, 26, 9771–9779.
- Dezawa M, Takahashi I, Esaki M, et al., 2001. Sciatic nerve regeneration in rats induced by transplantation of in vitro differentiated bone marrow stromal cells. *Eur J Neurosci*, 14, 1771–6.
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al., 2006. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8, 315–317.
- Eberhardt KA, Irintchev A, Al-Majed AA, Simova O, Brushart TM, Gordon T, Schachner M, 2006. BDNF/TrkB signaling regulates HNK-1 carbohydrate expression in regenerating motor nerves and promotes functional recovery after peripheral nerve repair. *Exp Neurol*, 198, 500–10.
- Eridani S, Sgaramella V, Cova L, 2004. Stem cells: From embryology to cellular therapy? An appraisal of the present state of art. *Cytotechnology*, 44, 125–41.
- Fathi SS, Nasiri E, Zaminy A, 2019. Advances in stem cell treatment for sciatic nerve injury. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 19, 301–311.
- Fawcett JW, Keynes RJ, 1990. Peripheral nerve regeneration. *Annu Rev Neurosci*, 13, 43–60.
- Figley CR, Stroman PW, 2011. The role(s) of astrocytes and astrocyte activity in neurometabolism, neurovascular coupling, and the production of functional neuroimaging signals. *The European Journal of Neuroscience*, 33, 577–88.
- Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS, 1970. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell and Tissue Kinetics*, 3, 393–403.
- Friedman R, Betancur M, Tuncer H, Boissel L, Klingemann H, 2007. Umbilical cord mesenchymal stem cells: adjuvants for human cell transplantation, *Biol Blood Marrow Transplant*, 13, 1477–86.
- Fugleholm K, Schmalbruch H, Krarup C, 1994. Early peripheral nerve regeneration after crushing, sectioning, and freeze studied by implanted electrodes in the cat. *J Neurosci*, 14, 2659–2673.
- Furness JB, 2015. Peripheral Autonomic Nervous System, In: *The Rat Nervous System*, Paxinos G, 4th, Online, Academic Press, p. 61–76.
- Gamble HJ, 1966. Further electron microscope studies of human foetal peripheral nerves. *J Anat*, 100, 487–502.
- Gamble HJ, Eames RA, 1964. An electron microscope study of the connective tissues of human peripheral nerve. *J Anat*, 98, 655–663.
- Geuna S, Raimondo S, Ronchi G, Di Scipio F, Tos P, Fornaro M, 2009. Histology of the peripheral nerve and changes occurring during nerve regeneration. *Int Rev Neurobiol*, 87, 27–46.
- Ginhoux F, Lim S, Hoeffel G, Low D, Huber T, 2013. Origin and differentiation of microglia. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 7, 45.
- Goel RK, Suri V, Suri A, et al., 2009. Effect of bone marrow-derived mononuclear cells on nerve regeneration in the transection model of the rat sciatic nerve. *J Clin Neurosci*, 16, 1211–17.
- Gordon T, 2009. The role of neurotrophic factors in nerve regeneration. *Neurosurg Focus*, 26, E3.
- Görkey Ş, 2009. Kök Hücre Araştırmalarının Etik ve Hukuk Boyutu. Türkiye Biyoetik Derneği Kök Hücre Araştırmaları ve Uygulamaları Kurulu, Ankara.
- Gronthos S, Brahimi J, Li W, et al., 2002. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res*, 81, 531–5.
- Guillery RW, 2005. Observations of synaptic structures: origins of the neuron doctrine and its current status. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 360, 1281–307.
- Haddouti EM, Skroch M, Zippel N, et al., 2009. Human dental follicle precursor cells of wisdom teeth. Isolation and differentiation towards osteoblasts for implants with and without scaffolds. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik*, 40, 732–737.
- Hellmann MA, Panet H, Barhum Y, et al., 2006. Increased survival and migration of engrafted mesenchymal bone marrow stem cells in 6-hydroxydopamine lesioned rodents. *Neurosci Lett*, 395, 124–8.
- Hems T, 2016. Erişim tarihi 4 Haziran 2021. Erişim adresi https://books.publisso.de/en/publisso_gold/publishing/books/overview/49/43
- Hildebrand C, Kocsis JD, Berglund S, Waxman SG, 1985. Myelin sheath remodelling in regenerated rat sciatic nerve. *Brain Res*, 358, 163–170.
- Hoke A, Brushart T, 2010. Introduction to special issue: challenges and opportunities for regeneration in the peripheral nervous system. *Exp Neurol*, 223, 1–4.
- Horwitz EM, Le Blanc K, Dominici M, et al., 2005. Clarification of the nomenclature for MSC. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 7, 393–395.

- Howard CV. 1998. Unbiased Stereology: Three-Dimensional Measurement in Microscopy. *Journal of Microscopy*, 193, 89–93.
- Hu X, Cai J, Yang J, Smith GM, 2010. Sensory axon targeting is increased by NGF gene therapy within the lesioned adult femoral nerve. *Exp Neurol*, 223, 153–165.
- Huang B, Li K, Yu J, et al., 2013. Generation of human epidermis-derived mesenchymal stem cell like pluripotent cells (hEMSCPCs). *Scientific Reports*, 3, 1933.
- In 't Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, Noort WA, Claas FH, Willemze R, Fibbe WE, Kanhai HH, 2003. Amniotic fluid as a novel source of mesenchymal stem cells for therapeutic transplantation. *Blood*, 102, 1548-9.
- Jaegle M, Mandemakers W, Broos L, et al., 1996. The POU factor Oct-6 and Schwann cell differentiation. *Science*, 273, 507–510.
- Karusis D, Kasis I, Kurkalli BG, Slavin S, 2008. Immunomodulation and neuroprotection with mesenchymal bone marrow stem cells (MSCs): a proposed treatment for multiple sclerosis and other neuroimmunological/neurodegenerative diseases. *J Neurol Sci*, 265, 131-5.
- Kashef R, 1966. The node of Ranvier. PhD thesis. University of London.
- Kent GC, Robert KC, 2001. Comparative Anatomy of the Vertebrates: Ninth Edition. New York, McGraw-Hill Higher Education. p. 409.
- Kiryu-Seo S, Kiyama H, 2011. The nuclear events guiding successful nerve regeneration. *Front Mol Neurosci*, 4, 53.
- Kolar MK, Itte VN, Kingham PJ, Novikov LN, Wiberg M, Kelk P, 2017. The neurotrophic effects of different human dental mesenchymal stem cells. *Scientific reports*, 7, 12605.
- Kopen G, Prockop D, Phinney D, 1999. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal Mouse brains. *Proc Natl Acad Sci*, 96, 10711–10716.
- Krarup C, Loeb GE, Pezeshkpour GH, 1988. Conduction studies in peripheral cat nerve using implanted electrodes: II. The effects of prolonged constriction on regeneration of crushed nerve fibers. *Muscle Nerve*, 11, 933–944.
- Kuznetsov SA, Mankam MH, Gronthos S, et al. 2001. Circulating skeletal stem cells. *Journal of Cell Biology*, 153, 1133–1140.
- Kyrousi C, Lygerou Z, Taraviras S, 2017. How a radial glial cell decides to become a multiciliated ependymal cell. *Glia*, 65, 1032–1042.
- Landon DN, Williams PL, 1963. Ultrastructure of the node of Ranvier. *Nature*, 199, 575–577.
- Lanzoni G, Alviano F, Marchionni C, et al., 2009. Isolation of stem cell populations with trophic and immunoregulatory functions from human intestinal tissues. Potential for cell therapy in inflammatory bowel disease. *Cytherapy*, 11, 1020–1031.
- Lee OK, Kuo TK, Chen WM, et al., 2004. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood*, 103, 1669–1675.
- Liu JY, Peng HF, Gopinath S, et al., 2010. Derivation of functional smooth muscle cells from multipotent human hair follicle mesenchymal stem cells. *Tissue Engineering Part A*, 16, 2553-2564.
- Lobsigner CS, Taylor V, Suter U, 2002. The early life of a Schwann cell. *Biological Chemistry* 383, 245-253.
- Ma Y, Ge S, Zhang J, et al., 2017. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles promote nerve regeneration after sciatic nerve crush injury in rats. *Int J Clin Exp Pathol*, 10, 10032-10039.
- Madison RD, Archibald SJ, Brushart TM, 1996. Reinnervation accuracy of the rat femoral nerve by motor and sensory neurons. *J Neurosci*, 16, 5698–5703.
- Majka M, Kucia M, Ratajczak MZ, 2005. Stem cell biology a never ending quest for understanding. *Acta biochimica Polonica*, 52, 353-358.
- Marconi S, Castiglione G, Turano E, Bissolotti G, Angiari S, Farinazzo A, Constantin G, Bedogni G, Bedogni A, Bonetti B, 2012. Human adiposederived mesenchymal stem cells systemically injected promote peripheral nerve regeneration in the mouse model of sciatic crush. *Tissue Eng Part A*, 18, 1264–72.
- Martens W, Sanen K, Georgiou M, Struys T, Bronckaers A, Ameloot M, et al., 2014. Human dental pulp stem cells can differentiate into Schwann cells and promote and guide neurite outgrowth in an aligned tissue-engineered collagen construct in vitro. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 28, 1634-43.
- Micheal-Titus AD, Revest P, Shortland P, 2010. Organization of the nervous system. In: *The Nervous System*, Ed: Horne T, 2nd Ed. Online, Elsevier, p.2-30.
- Mills SE. 2007. *Histology for pathologists*. 3rd ed. Philadelphia, Lippincott & Wilkins.
- Mimura T, Dezawa M, Kanno H, et al., 2004. Peripheral nerve regeneration by transplantation of bone marrow stromal cells derived Schwann cells in adult rats. *J Neurosurg*, 101, 806-12.

- Mirsky R, Woodhoo A, Parkinson DB, Arthur-Farraj P, Bhaskaran A, Jessen KR, 2008. Novel signals controlling embryonic Schwann cell development, myelination and dedifferentiation. *Journal of the Peripheral Nervous System*. JPNS, 13, 122-135.
- Mitalipov S, Wolf D, 2009. Totipotency, pluripotency and nuclear reprogramming. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 114, 185-99.
- Monuki ES, Weinmaster G, Kuhn R, Lemke G, 1989. SCIP: A glial POU domain gene regulated by cyclic AMP. *Neuron*, 3, 783-793.
- Moraghebi R, Kirkeby A, Chaves P, et al., 2017. Term amniotic fluid: An unexploited reserve of mesenchymal stromal cells for reprogramming and potential cell therapy applications. *Stem Cell Research & Therapy*, 8, 190.
- Murakami T, Fujimoto Y, 2003. Transplanted neuronal progenitor cells in a peripheral nerve gap promote nerve repair. *Brain Res*, 4, 17-24.
- Murinson BB, Hoffman PN, Banihashemi MR, et al., 2005. C-fibre (Remak) bundles contain both isolectin B4-binding and calcitonin gene-related peptide-positive axons. *J Comp Neurol*, 484, 392-402.
- Nagarajan R, Svaren J, Le N, Araki T, Watson M, Milbrandt J, 2001. EGR2 mutations in inherited neuropathies dominant-negatively inhibit myelin gene expression. *Neuron*, 30, 355-368.
- Napolitano L M, Scallen TJ, 1969. Observations on the fine structure of peripheral nerve myelin. *Anat Rec*, 163, 1-6.
- Navarro X, Verdu E, Buti M, 1994. Comparison of regenerative and reinnervating capabilities of different functional types of nerve fibers. *Exp Neurol*, 129, 217-224.
- University of New England. Erişim tarihi 4 Haziran 2021. Erişim adresi http://biodrawing.com/Neurology_modules/NervousSystemSite/Neuroanatomy/Neurohistology/peripheral_nerve.html.
- Okuwa Y, Toriumi T, Nakayama H, Ito T, Otake K, Kurita K, Honda M, 2018. Transplantation effects of dental pulp-derived cells on peripheral nerve regeneration in crushed sciatic nerve injury. *Journal of oral science*, 60, 526-535.
- Parkinson DB, Bhaskaran A, Droggiti A, et al., 2004. Krox-20 inhibits Jun-NH2-terminal kinase/c Jun to control Schwann cell proliferation and death. *The Journal of Cell Biology*, 164, 385-394.
- Pasadena City Collage. Erişim tarihi 04 Haziran 2021. Erişim adresi; http://faculty.pasadena.edu/dkwon/chap%208_files/images/image22.png
- Patodia S, Raivich G, 2012. Role of transcription factors in peripheral nerve regeneration. *Front Mol Neurosci*, 5, 8.
- Pfister BJ, Gordon T, Loverde JR, Kochar AS, Mackinnon SE, Cullen DK, 2011. Biomedical engineering strategies for peripheral nerve repair: surgical applications, state of the art, and future challenges. *Crit Rev Biomed Eng*, 39, 81-124.
- Piet R, Vargová L, Syková E, Poulain DA, Oliet SH, 2004. Physiological contribution of the astrocytic environment of neurons to intersynaptic crosstalk. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 2151-5.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al., 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 284, 143-147.
- Prikrylova T, Pachernik J, Kozubek S, Bartova E, 2013. Epigenetics and chromatin plasticity in embryonic stem cells. *World Journal of Stem Cells*, 5, 73-85.
- Rheinwald JG, Green H, 1975. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes. The formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell*, 6, 331-343.
- Romero MI, Rangappa N, Garry MG, Smith GM, 2001. Functional regeneration of chronically injured sensory afferents into adult spinal cord after neurotrophin gene therapy. *J Neurosci*, 21, 8408-8416.
- Ross MH, Pawlina W, 2011. *Histology a Text and Atlas*. 6th ed, Online, Wolter Kluwer Health Lippincott Williams & Wilkins, p. 368.
- Sakai K, Yamamoto A, Matsubara K, Nakamura S, Naruse M, Yamagata M, Sakamoto K, Tauchi R, Wakao N, Imagama S, Hibi H, Kadomatsu K, Ishiguro N, Ueda M, 2012. Human dental pulp derived stem cells promote locomotor recovery after complete transection of the rat spinal cord by multiple neuro-regenerative mechanisms. *J, Clin, Invest*, 122, 80-90.
- Salerno S, Messina A, Giordano F, et al., 2017. Dermal-epidermal membrane systems by using human keratinocytes and mesenchymal stem cells isolated from dermis. *Materials Science & Engineering, C: Materials for Biological Applications*, 71, 943-953.
- Schöler HR, 2007. The Potential of Stem Cells: An Inventory, In: *Human biotechnology as Social Challenge*, Eds: Knoepffler N, Schipanski D, Sorgner SL, 1th ed. London: Ashgate Publishing Ltd. p. 28.

- Schreiner S, Cossais F, Fisher K, et al., 2007. Hypomorphic Sox10 alleles reveal novel protein functions and unrevealed developmental differences in glial lineages. *Development*, 134, 3271-3281.
- Schroder JM, 1972. Altered ratio between axon diameter and myelin sheath thickness in regenerated nerve fibers. *Brain Res*, 45, 49-65.
- Seddon HJ, 1942. A classification of nerve injuries. *Brit Med J*, ii, 237-239.
- Shimizu S, Kitada M, Ishikawa H, et al., 2007. Peripheral nerve regeneration by in vitro differentiated human bone marrow stromal cells with Schwann cell property. *Biochem Biophys Res Commun*, 359, 915-20.
- Simpson SA, And Young JZ, 1945. Regeneration of fibre diameter after cross-unions of visceral and somatic nerves. *Journal of Anatomy*, 79, 48-65.
- Stadelmann C, Timmler S, Barrantes-Freer A, Simons M, 2019. Myelin in the Central Nervous System: Structure, Function, and Pathology. *Physiological Reviews*, 99, 1381-1431.
- Steigmann SA, Fauza DO, 2007. Isolation of mesenchymal stem cells from amniotic fluid and placenta. *Current Protocols in Stem Cell Biology*, 1, 1E.2.1-1E.212.
- Stewart JD, 2003. Peripheral nerve fascicles: anatomy and clinical relevance. *Muscle Nerve*, 28, 525-541.
- Sugiyama M, Iohara K, Wakita H, Hattori H, Ueda M, Matsushita K, Nakashima M, 2011. Dental pulp derived CD31-/CD146- side population stem/progenitor cells enhance recovery of focal cerebral ischemia in rats. *Tissue Eng. Part A*, 17, 1303-1311.
- Sunderland S, 1951. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain*, 4, 491-516.
- Sunderland S, 1978. *Nerves and nerve injuries*. 2nd ed. New York, Churchill Livingstone, p. 133-141.
- Svaren J, Meijer D, 2008. The molecular machinery of myelin gene transcription in Schwann cells. *Glia* 56, 1541-1551.
- Şahin F, Saydam G, Omay SB, 2005. Kök Hücre Plastisitesi ve Klinik Pratikte Kök Hücre Tedavisi, 1, 15.
- Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006; 126, 4: 663-76.
- Tang Y, Yasuhara T, Hara K, et al., 2007. Transplantation of bone marrow derived stem cells: a promising therapy for stroke. *Cell Transplant*, 16, 159-69.
- Tansey KE, Seifert JL, Botterman B, Delgado MR, Romero MI, 2011. Peripheral nerve repair through multi-luminal biosynthetic implants. *Ann Biomed Eng*, 39, 1815-1828.
- The University of Queensland. Queensland Brain Institute. Erişim tarihi 04 Haziran 2021. Erişim adresi <https://qbi.uq.edu.au/brain/brain-anatomy/axons-cable-transmission-neurons>.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor S, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al., 1998. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 282, 1145-1147.
- Topilko P, Schneider MS, Levi G, et al., 1994. Krox-20 controls myelination in the peripheral nervous system. *Nature*, 371, 796-799.
- Valtieri M, Schiro R, Chelucci C, Masella B, Testa U, Casella I, Montesoro E, Mariani G, Hassan HJ, Peschle C, 1994. Efficient transfer of selectable and membrane reporter genes in hematopoietic progenitor and stem cells purified from human peripheral blood. *Cancer Res*, 54, 4398-4404.
- Vats A, Bielby RC, Tolley NS, Nerem R, Polak JM, 2005. Stem cells. *Lancet*, 366, 592-602.
- Verfaillie CM, Pera MF, Lansdorp PM, 2002. Stem cells: hype and reality. *Hematology*; 1, 369-391.
- Wagner W, Wein F, Seckinger A, et al., 2005. Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood. *Exp Hematol*, 33, 1402-16.
- Wakamatsu Y, Maynard TM, Weston JA, 2000. Fate determination of neural crest cells by NOTCH mediated lateral inhibition and asymmetrical cell division during gangliogenesis. *Development*, 127, 2811-2821.
- Wang DR, Wang YH, Pan J, Tian WD, 2020. Neurotrophic effects of dental pulp stem cells in repair of peripheral nerve after crush injury. *World J Stem Cells*, 12, 1196-1213.
- Wang HS, Hung SC, Peng ST, et al., 2004. Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem Cells*, 22, 1330-1337.
- Webster HD, 1971. The geometry of peripheral myelin sheaths during their formation and growth in rat sciatic nerves. *Journal of Cell Biology*, 48, 348-67.
- Weinberg HJ, Spencer PS, 1975. Studies on the control of myelinogenesis. I. Myelination of regenerating axons after entry into a foreign unmyelinated nerve. *J Neurocytol*, 4, 395-418.
- Weinstein DE, Burrola PG, Lamke G, 1995. Premature Schwann cell differentiation and hypermyelination in mice expressing a targeted antagonist of the POU transcription factor SCIP. *Mol Cell Neurosci*, 6, 212-229.
- Wikipedia. Erişim tarihi 4 Haziran 2012. Erişim adresi https://tr.wikipedia.org/wiki/Kök_hücre

- Williams PL, 1999. Gray's Anatomy. Churchill livingstone, london
- Williams PL, Hall SM, 1970. In vivo observations on mature myelinated nerve fibres of the mouse. *Journal of Anatomy*, 107, 31–38.
- Yang CC, Wang J, Chen SC, Hsieh YL, 2016. Synergistic effects of low-level laser and mesenchymal stem cells on functional recovery in rats with crushed sciatic nerves. *J Tissue Eng Regen Med* 10, 120–31.
- Yang CC, Wang J, Chen SC, Jan YM, Hsieh YL, 2015. Enhanced functional recovery from sciatic nerve crush injury through a combined treatment of cold-water swimming and mesenchymal stem cell transplantation. *Neurol Res* 37, 816–26
- Young HE, Black AC Jr, 2004. Adult stem cells. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 276, 75–102.
- Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al., 2007. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 318, 1917–1920.
- Zhang B, Wu X., Zhang X., et al., 2015. Human umbilical cord mesenchymal stem cell exosomes enhance angiogenesis through the Wnt 4/ β -catenin pathway. *Stem Cells Translational Medicine*, 4, 513–522.
- Zheng M, Kuffler DP, 2000. Guidance of regenerating motor axons in vivo by gradients of diffusible peripheral nerve-derived factors. *J Neurobiol*, 42, 212–219.
- Zochodne DW, 2012. The challenges and beauty of peripheral nerve regrowth. *J Peripher Nerv Syst*, 17, 1–18.
- Zorick TS, Syroid DE, Brown A, Gridley T, Lemke G, 1999. Krox-20 controls SCIP expression, cell cycle exit and susceptibility to apoptosis in developing myelinating Schwann cells. *Development*, 126, 1397–1406.
- Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al., 2002. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Molecular Biology of the Cell*, 13, 4279–4295.

7. EKLER

EK A: Etik Kurul Kararı



EK-B: Turnitin Raporu

RATLARDA NERVUS İSCHİADİCUS HASARINDA KEMİK İLİĞİ VE DİŞ PULPASİ KAYNAKLI MEZENKİMAL KÖK HÜCRE UYGULAMASI

ORJİNALLİK RAPORU

%**9**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**9**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**3**

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

%**3**

2

acikerisim.akdeniz.edu.tr

İnternet Kaynağı

%**1**

3

www.sifamarket.com

İnternet Kaynağı

%**1**

4

ÖZGÖNÜL, Ali Mert and KONYALIOĞLU, Sibel.
"Omurilik hasarında embriyonik nöral kök
hücre tedavisinin önemi", İzmir Atatürk Eğitim
Hastanesi, 2009.

Yayın

%**1**

5

acikerisim.fsm.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

<%**1**

6

www.ulkemiz.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

7

dergipark.org.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

8	acikerisim.pau.edu.tr:8080 Internet Kaynağı	<% 1
9	journals.istanbul.edu.tr Internet Kaynağı	<% 1
10	openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 Internet Kaynağı	<% 1
11	9lib.net Internet Kaynağı	<% 1
12	acikerisim.kku.edu.tr Internet Kaynağı	<% 1
13	ŞİRİN, Yiğit and SOLEY, Sinan. "Bilateral sagittal split osteotomi ve distraksiyon osteogenezi yöntemleri ile yapılan alt çenenin ilerletilmesi girişimlerinde oluşan inferior alveolar sinir hasarlarının incelenmesi", İstanbul Üniversitesi, 2012. Yayın	<% 1
14	RUPERT KOLLER. "Long-Term Results of Nervous Tissue Alterations Caused by Epineurial Electrode Application: An Experimental Study in Rat Sciatic Nerve", Pacing and Clinical Electrophysiology, 1/1992 Yayın	<% 1
15	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 Yayın	<% 1

16	tipnotlari.wordpress.com Internet Kaynağı	<% 1
17	www.livhospital.com Internet Kaynağı	<% 1
18	www.selcukmedj.org Internet Kaynağı	<% 1
19	adudspace.adu.edu.tr:8080 Internet Kaynağı	<% 1
20	ihslc.mehmetakif.edu.tr Internet Kaynağı	<% 1
21	sosyolojisi.com Internet Kaynağı	<% 1
22	KARAOZ, Erdal, KABATAS, Serdar, DURUKSU, Gokhan, OKCU, Alparslan, SUBASI, Cansu, AY, Birol, MUSLUMAN, Murat and CIVELEK, Erdinc. "Reduction of lesion in injured rat spinal cord and partial functional recovery of motility after bone marrow derived mesenchymal stem cell transplantation", Turkish Neurosurgery Society, 2012. Yayın	<% 1
23	K. P. BROWN. "Identifying predators at nests of small birds in a New Zealand forest", Ibis, 4/1998 Yayın	<% 1
traglor.cu.edu.tr		

24	İnternet Kaynağı	<% 1
25	www.pnas.org İnternet Kaynağı	<% 1
26	www.ncbi.nlm.nih.gov İnternet Kaynağı	<% 1
27	arapdili.emsile.com İnternet Kaynağı	<% 1
28	ÖZKARACA, Mustafa, İREHAN, Bünyamin, PARMAKSIZ, Ayşe, İTİK EKİNCİ, Aysel and ÇOMAKLI, Selim. "Koyun ve Keçi Abortlarında Neospora caninum ve Toxoplasma gondii' nin Dupleks PCR, İmmunohistokimyasal ve İmmunofloresans Yöntemlerle Teşhisi", Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 2016. Yayın	<% 1

Alıntıları çıkart

Kapat

Eşleşmeleri çıkar

< 5 words

Bibliyografyayı Çıkart

Üzerinde

8. ÖZGEÇMİŞ

