



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**DENEYSEL SİYATİK SİNİR HASARI MODELİNDE
ALOPERİNE’NİN ANTİ-ENFLAMATUVAR VE ANTİ-
OKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İYİLEŞME ÜZERİNE
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Mehmet ERTANIDIR

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ORTOPEDİ ve TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Sadettin ÇİFTÇİ

Konya 2023

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**DENEYSEL SİYATİK SİNİR HASARI MODELİNDE
ALOPERİNE’NİN ANTİ-ENFLAMATUVAR VE ANTİ-
OKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İYİLEŞME ÜZERİNE
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Mehmet ERTANIDIR

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Sadettin ÇİFTÇİ

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 22122034 proje numarası ile desteklenmiştir

Konya 2023

İÇİNDEKİLER

ŞEKİL VE GRAFİK LİSTESİ	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	vii
KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Periferik Sinir Sistemi Tarihçesi	2
2.2. Periferik Sinir Sistemi Yapısı.....	2
2.3. Periferik Sinir Yaralanmaları	4
2.3.1. Seddon Sınıflaması.....	5
2.3.2. Sunderland Sınıflaması	5
2.4. Periferik Sinir Hasarı Patofizyolojisi	7
2.5. Sinir Rejenerasyonuna Etkileyen Faktörler.....	8
2.5.1. İnflamasyon	8
2.5.2. Oksidatif Stres ve Antioksidasyon	10
2.5.3. Nörotrofik Etkenler	11
2.6. Deneysel Periferik Sinir Hasar Modelleri	11
2.7. Periferik Sinir Tamir Teknikleri.....	12
2.7.1. Sütur ile Doğrudan Tamir	12
2.7.2. Sinir Grefti ile Tamir.....	12
2.7.3. Konduitler ile Tamir.....	13
2.7.4. Fibrin Yapıştırıcı ile Tamir	13
2.8. Aloperin.....	13

2.8.1. İnflamasyon Üzerine Etkileri	14
2.8.2. Oksidatif Stres Üzerine Etkisi	14
2.8.3. Tümör Üzerine Etkisi	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
3.1. Gruplar.....	16
3.2. Cerrahi İşlem	17
3.2. Değerlendirme Yöntemleri.....	19
3.2.1 Fonksiyonel İncelemeler	20
3.2.2. Biyokimyasal Değerlendirme.....	24
3.2.3. Histolojik Ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme	25
3.2.4. İstatistik Analiz	27
4. BULGULAR	29
4.1. Genel Değerlendirme Bulguları	29
4.2. Fonksiyonel Değerlendirme Bulguları	29
4.2.1. İtme Kuvveti Oranı (Extensor Postural Thrust Test) Bulguları	29
4.2.2. Pinprick Testi Bulguları	30
4.2.3. Sıcak Zemin Testi Bulguları	31
4.2.4. Gastroknemius Kas Ağırlık İndeksi Bulguları,	32
4.3. Biyokimyasal Değerlendirme Bulguları.....	33
4.4. Histolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme Bulguları	38
4.4.1. Hematoksilen & Eozin Boyama Bulguları	38
4.4.2. Akson Çapı Değişim Oranı Bulguları	40
4.4.3. Akson Sayısı Değişim Oranı Bulguları	41
4.4.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme Bulguları	42
5. TARTIŞMA	45

6. SONUÇLAR	52
KAYNAKLAR	53
ÖZET.....	59
SUMMARY	60
EKLER.....	61
Ek 1: Etik Kurul Rapor.....	61



ŞEKİL VE GRAFİK LİSTESİ

Şekil 2.1. Periferik sinir anatomisi ve bağ doku katmanları	3
Şekil 2.2. Periferik sinir damarlanması	4
Şekil 2.3. Aloperin m�lek�ler yapısı.....	14
Şekil 3.1 Cerrahi işleme başlamadan önce sıçanların platform üzerine hazırlanması(a) ve sıçan siyatik sinir eksplorasyonu sonrası anatomik görüntüsü(b)	17
Şekil 3.2 Siyatik sinirde nörometzis tipi yaralanma(a) ve epinöral koaptasyon sonrası görüntü(b).....	19
Şekil 3.3. Pinprick testi yapılırken ağrılı uyarının ayak lateralden oluşturulmasına dikkat edildi.....	21
Şekil 3.4. Hassas terazi ile itme kuvveti ölçüldü ve itme kuvvet oranı hesaplandı. 22	
Şekil 3.5. Sıçanları 56�C’ye ısıtılmış sıcak zemin üzerine basması	23
Şekil 3.6. Sıçanların her iki gastroknemius kasları çıkarıldıktan sonra aradaki hacim farkı	24
Grafik 1. Grupların itme kuvvet oranı (gr) ortalaması karşılaştırma grafiği.....	30
Grafik 2. Grupların pinprick skoru ortalaması karşılaştırma grafiği	31
Grafik 3. Grupların sıcak zemin testi(sn) ortalama değerleri karşılaştırma grafiği .32	
Şekil 4.1 her iki grupta da kas atrofisi izlenmekte ancak aloperin uygulana B grubunda A grubuna kıyasla atrofi daha az olduğu görülmekte	33
Grafik 4. Grupların gastroknemius kas indeks(gr) ortalama değerleri karşılaştırma grafiği	33
Grafik 5. Grupların serum TNF-a (ng/l) ortalama değerleri karşılaştırma grafiği ...	34
Grafik 6. Grupların serum IL-6 (ng/l) ortalama değerleri karşılaştırma grafiği	35
Grafik 7. Grupların serum IL-10 (pg/ml) ortalama değerleri karşılaştırma grafiği .36	
Grafik 8. Grupların serum TOS (�mol/l) ortalama değerleri karşılaştırma grafiği .37	
Grafik 9. Grupların serum TAS (mmol/l) ortalama değerleri karşılaştırma grafiği .38	
Şekil 4.2 Grupların hemotoksilen&eosin ile boyanmasında gruplar arasından anlamlı fark elde edilmiştir	40

Grafik 10. Grupların akson sayısı değişim oranının ortalama değerleri karşılaştırma grafiği	41
Grafik 11. Grupların akson sayısı değişim oranının ortalama değerleri karşılaştırma grafiği	42
Grafik 12. Grupların doku TNF-a ortalama değerleri karşılaştırma grafiği.....	43
Şekil 4.3 Sıçanların siyatik sinirlerinin TNF- α boyanma görüntüsü	43
Grafik 13. Grupların doku IL-10 ortalama değerleri karşılaştırma grafiği	44
Şekil 4.4 Sıçanların siyatik sinirlerinin IL-10 boyanma görüntüsü	44



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Sinir Yaralanması Sınıflaması	6
Tablo 2 Deney grupları ve yapılan işlemler	17
Tablo 3. Frozen kesitler için H&E protokolü.	25
Tablo 4. Konjuge olmayan antikorların işaretleme protokolü.	26
Tablo 5. Konjuge antikorların işaretleme protokolü.	27
Tablo 6 Grupların itme kuvvet oranı (gr) ortalama değerleri.....	29
Tablo 7. Grupların pinprick skoru ortalama değerleri.....	30
Tablo 8. Grupların sıcak zemin testi(sn) ortalama değerleri	31
Tablo 9. Grupların gastrocnemius kas indeksi(gr) ortalama değerleri	33
Tablo 10. Grupların serum TNF-a (ng/l) ortalama değerleri.....	34
Tablo 11. Grupların serum IL-6 (ng/l) ortalama değerleri	35
Tablo 12. Grupların serum IL-10 (pg/ml) ortalama değerleri	36
Tablo 13. Grupların serum TOS (μ mol/l) ortalama değerleri	37
Tablo 14. Grupların serum TAS (mmol/l) ortalama değerleri	38
Tablo 15. Grupların akson çapı değişim oran ortalama değerleri	41
Tablo 16. Grupların akson sayısı değişim oran ortalama değerleri.....	42
Tablo 17. Grupların doku TNF-a ortalama değerleri	43
Tablo 18. Grupların doku IL-10 ortalama değerleri.....	44

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince ortopedi ve travmatoloji disiplininin temel değerlerini öğrendiğim, klinik dışında insani ilişkilerde ve akademik çalışmalarda da yol göstericim olan saygıdeğer hocalarım; başta tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Sadettin Çiftci olmak üzere, kliniğimizden yeni ayrılan Prof. Dr. Mehmet Ali ACAR, anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Bahattin Kerem AYDIN, kliniğimiz öğretim üyelerinden Prof. Dr. Ömer Faruk ERKOÇAK, Doç. Dr. Ali GÜLEÇ, Dr. Öğr. Üyesi Selim SAFALI, Dr. Öğr. Üyesi Ali ÖZDEMİR hocalarıma, tez sürecimde verdiği destekten ötürü Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Bahadır ÖZTÜRK, Doç. Dr. Duygu ONMAZ ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Dr. Öğr. Üyesi Nejat ÜNLÜKAL hocalarıma saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca klinik tecrübelerini benimle paylaşmaktan çekinmeyen, tezimin her aşamasında desteğini esirgemeyen abim Uzm. Dr. Erkan Sabri ERTAŞ'a ve ortopedi asistanlığının her türlü zor koşulunu birlikte aştığımız abim Uzm. Dr. Musa ERGİN'e teşekkür ederim.

İhtisas sürem boyunca birçok güzel anıyı paylaştığımız asistan arkadaşlarıma, poliklinik, ameliyathane hemşire, personeline ve tanıma fırsatı bulduğum tüm hastane çalışanlarına,

Desteklerini her zaman hissettiğim, bugünlere gelmemde büyük emekleri olan babam Hacı Ahmet ERTANIDIR, annem Seda ERTANIDIR, abim Serdal ERTANIDIR, ablalarım Esra KURAL ve Merve ERTANIDIR'a,

Hayatıma girdiği günden beri dünyamı güzelleştiren, varlığı ile yaşamıma ayrı bir anlam katan, her daim kıymetli desteğini ve sonsuz sevgisini bana hissettiren, hayat arkadaşım, kıymetli eşim Dr. Elif DEDELER ERTANIDIR'a,

Bu süreçteki destek, sabır ve paylaşımları için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

KISALTMALAR

TLR	: Toll Like Reseptörü
IL-4	: İnterlökin-4
IL-6	: İnterlökin-6
IL-10	: İnterlökin-10
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör- α
TAS	: Total Antioksidan Stres
TOS	: Total Oksidan Status
ELİSA	:Enzyme Linked İmmuno Sorbent Assay

1. GİRİŞ

Periferik sinir yaralanması sık görülen yaralanmalardır. Periferik sinirler merkezi sinir sistemi ile son organların arasında bağlantıyı sağlar. Hasarlanması duyuşal, otonomik ve motor fonksiyon bozukluğu yapabilmektedir. İnsidansı gelişmiş toplumlarda 100 binde 13-23'tür. Parmaktaki dijital sinirlerden peroneal sinir, radial sinir ve brakial pleksus yaralanmalarına kadar geniş bir yelpazede karşımıza çıkmaktadır. Yaralanmalar; üç yaralanma mekanizmasıyla karşımıza çıkmaktadır. Bunlar; mekanik, iskemik, kimyasaldır.(1).

Periferik sinir hücrelerinin 3 tip yaralanması vardır; segmental demyelinizasyon, aksonal dejenerasyon ve wallerian dejenerasyondur. Sinir lifi yaralandığında kimyasal, fonksiyonel ve morfolojik değişiklikler olur, sinirde bu değişikliklere wallerian dejenerasyon adı verilir. Dejenere olmuş sinirin iyileşip eski fonksiyonunu kazanmasına ise rejenerasyon adı verilir.(2)

Nötröfil, T hücreleri, makrofoj gibi immün hücreler wallerian dejenerasyonda patojenik etkilerin nedenlerindendir(3). Yaralanma sonrası immün sistem devreye girip immün mediatörlerin salınımı artmakta ve oksidatif stresi de artırmaktadır. Oksidatif stres de Wallerian dejenerasyonu olumsuz etkilemektedir(4).

Aloperin; ilk olarak *Sophora alopecuroides L.* adlı bitkinin tohumlarından ve yapraklarından izole edilen kinolizidin tipi bir alkaloiddir. Çeşitli çalışmalarda antiviral, antitümöral, antibakteriyel, metastaz önleyici, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri bulunmuştur.(5, 6)

Bu çalışmada amacımız antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliği gösterilmiş olan aloperinenin periferik sinir iyileşmesi üzerine olası olumlu etkisini histolojik, fonksiyonel ve biyokimyasal incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periferik Sinir Sistemi Tarihçesi

Periferik sinir ilk olarak Herophilus tarafından milattan önce üçüncü yüzyılda tanımlanmıştır. İlk suturezasyon ise Egineli Paul tarafından yapılmıştır(7). 16 ve 18. yüzyıllarda periferik sinir çalışmaları hız kazanmıştır. Sinirin mikroskop altında incelenmesi aksonun ve myelin kılıfın tanımlanmasını sağlamıştır. Theodore sinir hücrelerini inceleyerek 19. yüzyılda schwann hücrelerini açıklamıştır(8). Agassiz Waller sinir hasarlandıktan sonra distal segmentte gerçekleşen wallerian dejenerasyonu 1850’de tanımlamıştır(9). İlk mikroskop altında sinir onarımını 1864 yılında Kurze ve Smith yapmıştır(10, 11). Gelişen cerrahi teknikler ve teknolojiyle beraber sinir onarımı giderek artmıştır.

2.2. Periferik Sinir Sistemi Yapısı

Periferik sinir sistemi, merkezi sinir sistemi ile son organlar arasında iki yönlü uyarı taşıyan sistemdir. Medulla spinalisin ön boynuzunda motor, arka boynuzunda duyu nöronları vardır. Bunların aksonlarının birleşmesiyle periferik sinir sistemi oluşur. Afferent ve efferent lifler bulunur. Afferentler çevreden merkeze uyarı taşırken efferentler merkezden çevreye uyarı taşır(12).

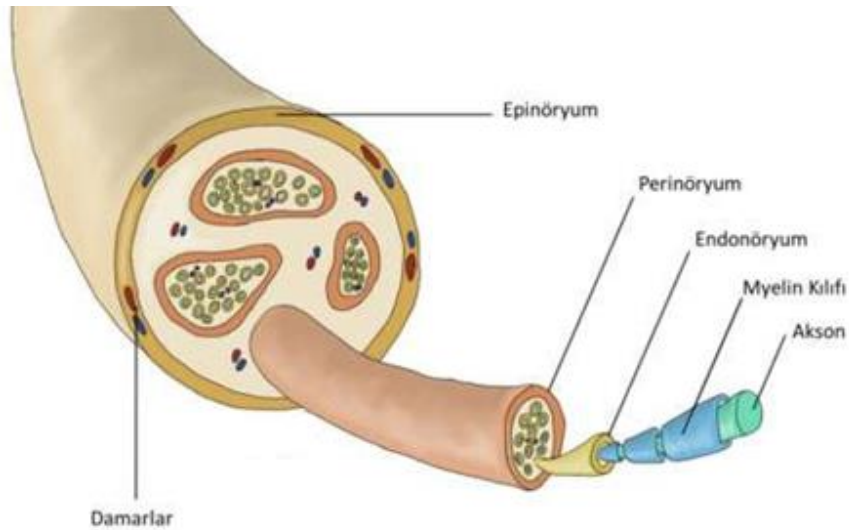
Nöron ve nöroglia sinir sisteminin temel iki hücre tipidir. Nöronlar; hücre gövdesi, akson ve dentritlerden oluşur. İmpulsları alan ve ileten nöronlardır, sinapslar ile birbirleriyle bağlantı sağlarlar. Nöroglialar ise nöronların destek hücreleridir. Satellit ve schwann adında periferik sinir sisteminin iki tip hücresi vardır(13).

Periferik sinir sisteminde myelinsiz ve myelinli iki tip akson vardır(14). Myelin kılıf schwann hücresi tarafından oluşturulur(13). Akson boyunca myelin kılıf bölümleri vardır. Her iki bölüm arasında demyelinize aralıklar bulunur, bu aralıklara ‘ranvier boğumu’ denir(15). Myelin kılıf içeriğinde %20-30 protein, %70-80 lipid vardır(16).

Nöronların aksonlarında transmembran potansiyeli mevcuttur. Uyarı geldiği

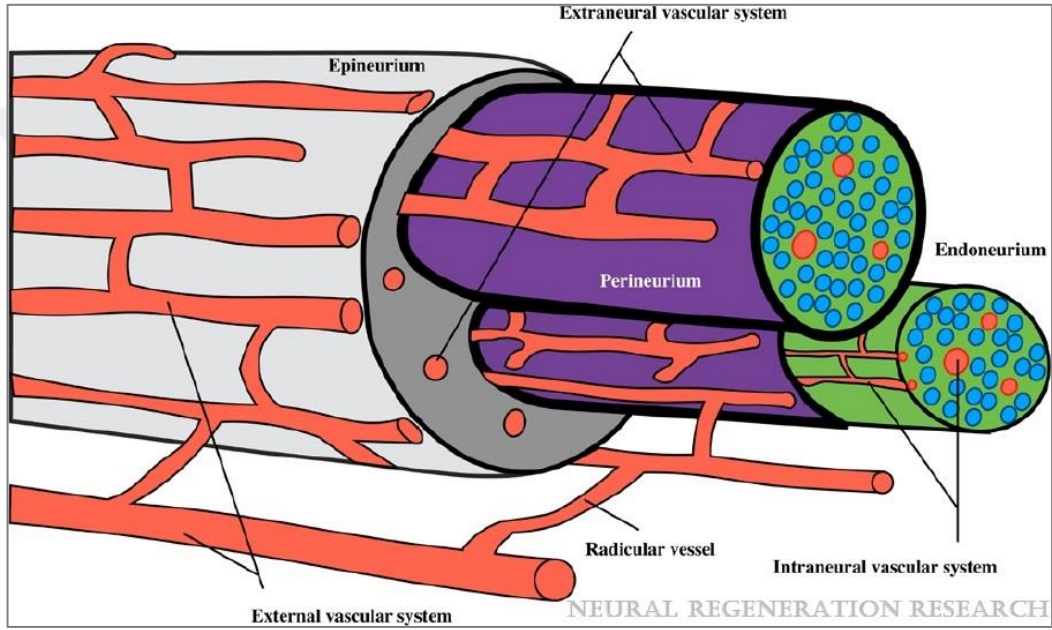
zaman aksiyon potansiyeli oluşur ve akım iletilir. Myelinsiz bir aksonda dalga formunda akım vardır. Myelinli aksonda ise ranvier boğumlarında sıçrayıcı akım vardır ve bu sayede myelinli aksonda akım daha hızlıdır(17).

Periferik sinirler birbirinden ayrı üç kat bağ dokusu tarafından sarılmıştır. Bunlar en içten dışa doğru endonöryum, perinöryum ve epinöryumdur. (Şekil 2.1.) Endonöryum; en içteki bağ doku tabakasıdır, tek bir aksonu sarar. Schwann hücresiyle yakından ilişkilidir. Kapiller içerir(18). Endonöryum her bir aksonu sarar. Akson demetleri perinöryum tarafından sarılır ve fasikülleri oluşturur. Perinöryum içerdiği yüksek miktardaki kollajen sayesinde fasikülleri tensil kuvvetlere karşı korur, ayrıca kan sinir bariyerini de oluşturur(19). Tüm fasiküller epinöryum tarafından sarılır. Fasikül demetleri epinöryum tarafından bir arada tutulur. Hem mekanik destek sağlar hem de sinire şeklini verir(20). Epinöryumun kalınlığı sinirin yerleşim yerine göre değişir. Yüzeyel seyreden periferik sinirlerde kalınlığı artmaktadır. Sinir kesitlerinde kalınlığı %30 ila %70 arasında değişmektedir(21, 22). Epinöryum ve perinöryum sirkumfarensiyel yapıdayken, endonöryum longitudinal yapıdadır (23).



Şekil 2.1. Periferik sinir anatomisi ve bağ doku katmanları

Periferik sinirlerde birbiriyle bağlantılı, ancak fonksiyonel olarak birbirinden ayrı intrinsek ve ekstrinsek iki damar ağı vardır.(Şekil 2.2.) Mezonöryum isimli gevşek bağ dokusunda yer alan vaza nervorumlar ekstrensek sistemi oluşturur. Bu sistem lokal ilaçtan, sempatik uyarıdan etkilenir. Endonöryum, perinöryum ve epinöryum arasındaki damar ağı ise intrinsek sistemi meydana getirmektedir(24). Sempatik uyarı, lokal ilaçlar bu sistemi etkilemez. İntrensek ve ekstrensek damar ağı arasını dengeleyen mekanizma siniri damarsal sorunlardan korur(25).



Şekil 2.2. Periferik sinir damarlanması(26)

2.3. Periferik Sinir Yaralanmaları

Periferik sinir yaralanması görülme sıklığı 1:1000 olup, yaşam kalitesinde düşüklük ve dokuda morbiditeye neden olur. Multitравmalı hastalarda periferik sinir yaralanması oranı yaklaşık %2,8 olarak görülmektedir(27). Periferik sinir yaralanması etyolojisinde; bası, direkt travma, ısı, radyasyon, elektrik, kontüzyon, enjeksiyon uygulamaları ve benzeri nedenler bulunmaktadır(28). Periferik sinir yaralanmasında üç mekanizma bulunmaktadır, bunlar; gerilme, lacerasyon ve kontüzyondur. Sinir dokusu elastik bir yapıya sahiptir. Ancak gerilme kuvvetine

maruz kaldıklarında kuvvetin şiddetine göre avulsiyon olmadan aksonlar hasarlanıp fonksiyonlarını kaybedebilirler. Kuvvetin şiddeti daha da artarsa avulsiyon meydana gelip sinir bütünlüğü de bozulur. Laserasyon tipi yaralanma, keskin bir cismin sinir bütünlüğünü parsiyel ya da total olarak bozmasıdır. Sinir dokusuna dışarıdan bir baskı gelmesi sonucu kompresyon tipi yaralanma oluşur. Sinirin bütünlüğü korunsa dahi fonksiyonunda bozulmalar gelişebilmektedir.

Periferik sinir yaralanmasında en çok Seddon(29) ve Sunderland(30) tarafından oluşturulan sınıflandırmalar kullanılmaktadır

2.3.1. Seddon Sınıflaması

Seddon sinir yaralanma tiplerini üç gruba ayırmıştır:

Nöropraksi; aksonların bütünlüğünün korunduğu en hafif yaralanma tipidir(29). Demyelinize alanlar mevcuttur. Sinirin bütünlüğü korunduğu için Wallerian dejenerasyon görülmez. Cerrahi müdahaleye gerek kalmaz, tam iyileşme görülür.

Aksonometzis; akson ve myelin kılıfın tam olarak kesildiği epinöryum, perinöryum ve endonöryumun korunduğu yaralanma tipidir(28). Yaralanmanın distalinde duyu, motor, otonom kayıp vardır. Wallerian dejenerasyon görülür. Endonöral tüpler sağlam olduğundan rejenerasyon süreci kendiliğinden başlar ve iyi sonuç beklenir.

Nörometzis; sinir total olarak kopmuştur. Mezenkimal yapıların ve nöral yapıların bağlantısı kalmamıştır. Yaralanmanın distalinde duyu, motor, otonom kayıp vardır. Wallerian dejenerasyon hasarın distalinde görülür. Aksonal yapıya rehberlik edecek endonöral tüp sağlam olmadığından cerrahi müdahale gerekmektedir.

2.3.2. Sunderland Sınıflaması

Sunderland sinir yaralanma tiplerini beş gruba ayırmıştır

1. Derece hasar; nöropraksiye karşılık gelir.
2. Derece hasar; aksonometzis ile eşdeğerdir.
3. Derece hasar; akson, schwann hücre kılıfı ve endonöryum hasarlanmıştır. Endonöryum hasarlandığı için iyileşmede fibrozis görülür ve tam iyileşme beklenmez(31).
4. Derece hasar; epinöryum haricindeki tüm mezenkimal destek yapılar nöral yapılar tamamen hasarlanmıştır. İyileşmede fibrozis görüleceği için fonksiyonel kayıplara neden olur. İyileşme olması için cerrahi müdahale önerilir.
5. Derece hasar; nörometzis eşdeğeridir ve iyileşme için cerrahi onarım gerekir. Nöroma gelişebilir.

Tablo 1. Sinir Yaralanması Sınıflaması

SEDDON	HASAR	SUNDERLAND
Nöropraksi	Myelin kılıf	1. Derece
Aksonotmezis	Akson, myelin kılıf etkilenmiş, perinöryum ve epinöryum sağlam	2. Derece
Aksonotmezis	Akson, myelin kılıf ve endonöral tüp devamlılığı bozulmuş, perinöryum ve epinöryum sağlam	3. Derece
Aksonotmezis	Akson, myelin kılıf, endonöral, perinöryum, devamlılığı bozulmuş, epinöryum sağlam	4. Derece
Nörotmezis	Tüm sinirin devamlılığı bozulmuş	5. Derece

2.4. Periferik Sinir Hasarı Patofizyolojisi

Periferik sinir hasarı sonrası rejenerasyon süreci için çok karmaşık, bir o kadar da düzenli metabolik ve morfolojik değişiklikler meydana gelir. Bu olaylar zincirine Wallerian dejenerasyon denir. Hasar sonrası değişiklik hasar bölgesinde, sinir gövdesinde, hasarlı aksonun proksimal ve distalinde meydana gelir. Hasarın proksimalinde meydana gelen değişime kromatoliz denirken distalindeki dejeneratif değişikliklere Wallerian dejenerasyon denir. Hasarlanma sonrası süreç hücre içerisine kalsiyum akışıyla başlar. Aksonal hasar sonrası hasar proksimalinde hücre gövdesi hacmi artar, nükleus perifere göç eder, granüllü endoplazmik retikulum ve nissl cisimcikleri parçalanır; buna kromatoliz denir. Hasarın şiddeti ve hasarın hücre gövdesine yakınlığı kromatoliz şiddetini etkiler. Hücre gövdesine yakın şiddetli yaralanmalar hücre için ölümcül dahi olabilir(20).

Akson hasarının proksimalinde distaldekine benzer bir dejenerasyon görülür. Hasarın proksimalinde birkaç internodal segmentte dejenerasyon oluşur. 24 saatlik latent periyodun ardından hasarın proksimal ucundan kollateral ve terminal aksonal tomurcuklar oluşur. Kalıcı olarak uzanan her bir tomurcuğa rejenerasyon ünitesi adı verilirken, uç kısımdaki bölüme büyüme konisi denir(32). Büyüme konisi içerdiği aktin filamanları ve miyozin sayesinde hareketli filapoid çıkıntılara sahiptir. Filapoidler, Schwann hücrelerinin distal segmentte oluşturduğu hücre kolonlarına (Büngner bantları) hareketi sağlar. Büyüme konisinin Schwann hücre bazal laminasında bulunan fibronektin ve laminine afinitesi vardır (nörotropizm). Bu sayede aksonal tomurcukların büyüme yönü belirlenir(20, 33). Nörotropizmi ve periferik rejenerasyonu potansiyelini Cajal 1928 yılında ilk defa tanımlamıştır(33).

Akson hasarının distal segmentinde myelin kılıfta ve aksonda gerçekleşen dejenerasyona Wallerian dejenerasyon denir. Wallerian dejenerasyon 48-96 saat içerisinde gerçekleşir. Wallerian dejenerasyonda ana aktör schwann hücresidir. Hasar alan aksondaki schwann hücresi aktif hale gelir. Aktifleşen schwann hücresi salgıladığı sitokin ve kemokinler ile damar geçirgenliğini artırır. Makrofajın hasarlı bölgeye göç etmesini sağlar. Ayrıca endonöral mast hücreleri salgıladıkları serotonin

ve histamin ile permeabiliteyi artırarak makrofaj geçişini hızlandırır. Schwann ve makrofajlar myelin kılıf ve akson kökenli maddeler temizlenir. Tüm debris temizlenince schwann hücreleri bazal membran boyunca dizilerek büngner bantları olarak bilinen hücre kolonları oluşturur. Büngner bantları trofik zengindir ve akson tomurcuklarına rehberlik edecek endonöral tüpü oluşturur(34).

Rejenerasyon sırasında sinir gövdesinde kromatolizde ters yönde çalışmaya başlar. Nükleus sinir hücresinin merkezine geri gelir. Aksonal tomurcuklar proksimal güdükten endonöral tüp rehberliğinde distale ilerler. Hedef organa ulaştıklarında akson filizlerinin olgunlaşıp üzerleri schwann hücresi tarafından miyelin kılıf kaplanır(35). Endonöral tüp yerine bağ doku içerisinde ilerleyen akson filizleri nöroma oluşumuna neden olur(36). Hedef organa teması olmayan akson filizleri zaman içerisinde kaybolurlar(37).

Periferik sinir yaralanması sonrası hedef organda da değişikliklere neden olur. Klinik etkilenen periferik sinir türüne göre farklılık gösterir. Motor sinir yaralanmalarında hastalarda refleks kaybı ve kaslarda atrofi görülür. Duyu siniri hasar aldığı anda etkilenen dermatomda duyu defekti ancak çevredeki sağlam duyu sinirleri nedeniyle duyuda total kayıp izlenmez. Motor lifler etkilenmiş ise vazomotor yanıt kaybolur deride kızarıklık ve ısı artışı olur. Terleme olmaz ve soğuğa refleks yanıt gelişmez.

2.5. Sinir Rejenerasyonuna Etkileyen Faktörler

2.5.1. İnflamasyon

Sinir rejenerasyonu için hızlı ve etkin inflamasyon gerekir. Sinir hasarın distalindeki meydana gelen Wallerian dejenerasyon sinir liflerini etkilediği gibi inflamatuvar sürecin de başlatıcısıdır. Wallerian dejenerasyonun erken inflamatuvar sürecinde Schwann hücre aktivasyonu, miyelin kılıf fagositozu ile ilgili inflamatuvar araçları, komplemanı ve araşidonik asit metaboliklerini içerir. Sinir hasarı sonrası nöroinflamasyon süreci başlar(38). Bu süreç dinamiktir. Sinir de fonksiyonel iyileşme elde edebilmek için sinir hasarlandıktan sonra rejenerasyon sürecindeki

dinamik inflamasyon süreci hakkında detaylı bilgi sahibi olmak gerekir(3). İnflamatuvar yanıtta hem hücresel (Schwann hücre aktivasyon kapiller geçirgenlik artışı makrofoj göçü) hem de hümorale bağışıklık (kompleman sistem aktivasyonu, araziidonik asit metabolitleri, sitokinler) görev alır(39, 40).

Sinir hasarı sonrası kan sinir bariyeri bozulur. Schwann hücreleri Toll-like reseptörleri (TLR) eksprese edilir. Schwann hücreleri endojen TLR ligandları ile aktiveleşir(41). Aktifleşen Schwann hücreleri inflamatuvar sitokinler salarak (IL-6, LIF, TNF- α , IL1 α) immün hücrelerin hasar bölgesine toplanmasını sağlar(42).

Hasarlı bölgeden salınan sitokinler dolaşımdaki makrofajların bölgeye göç etmesini sağlar. Hasar sonrası 2. günde başlayan göç, 7. günde en yüksek seviyeye ulaşır. Makrofajlar heterojen yapıdadır M1 makrofajlar pro-inflamatuvar özelliğe sahipken, M2 makrofajlar anti-inflamatuvar özelliğe sahiptir. Makrofajların M1-M2 dönüşümü çeşitli sitokinler aracılığıyla oluşur(43). Schwann hücresinden salınan IL-10 ve IL-4 makrofajların M1-M2 dönüşümünü sağlar(44). M1 makrofajlar akson ve miyelin fagositozu yaparken M2 makrofajlar rejenerasyona katkıda bulunurlar.

Sinir hasarı sonrası akson rejenerasyonu için sitokinlerin etkileri halen tartışma konusudur, çünkü salınan sitokinler ile inflamasyon ve wallerian dejenerasyon başlar ancak zaman ilerledikçe dejenerasyonun yerini rejenerasyon almaktadır. Bu iki zıt etki inflamatuvar yanıtta salınan sitokinler ile çok hassas bir denge ile ilerler(45). İnflamasyon, sinir hasarı sonrası çift taraflı keskin bıçaktır.

2.5.1.1. Tümör Nekrosis Faktör-alfa (TNF- α)

Proinflamatuvar bir sitokin olan TNF- α , Schwann hücrelerini aktive eder ve Wallerian dejenerasyonun başlatıcısıdır(46). Makrofajlar için kemotaktiktir. Merkezi sinir sistemi reperfüzyon hasarındaki rolü tam olarak aydınlatılsa da periferik sinir sisteminde iskemi-reperfüzyon hasarındaki rolü tam bilinmemektedir. Ancak periferik sinir akson büyümesini inhibe edici etkisi çalışmalarda gösterilmiştir(47).

2.5.1.2. İnterkökin-6 (IL-6)

İnterlökin-6 proinflamatuvar bir sitokindir. Sinir hasarı sonrası makroforlar birincil IL-6 üreticidir Schwann hücreleri de IL-6 salgılar. Salgılanan IL-6, immün hücre kemotaksisi için gereklidir. IL-6'nın periferik sinir yaralanması üzerine etkisi tam olarak anlaşılamamıştır. Yüksek IL-6'nın periferik sinirde inflamasyonun uzamasına ve demyelinizasyona neden olduğu gösterilmiştir(48). Bir başka çalışmada ise IL-6'nın pro-rejeneratif olduğu gösterilmiştir(49).

2.5.1.3. İnterlökin-10 (IL-10)

T ve B lenfositleri, makrofaj ve dentritik hücreler tarafından üretilen antiinflamatuvar bir sitokindir. İnflamatuvar yanıtı sonlandırır bunu makrofajın saldığı IL-1, IL-6, TNF- α 'yı azaltarak yapar(50). IL-10'nun aksonal rejenerasyonu artırdığı ve sinirde skar dokusu oluşmasını engellediğı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir(51).

2.5.2. Oksidatif Stres ve Antioksidasyon

Hücrede biyokimyasal tepkimeler sırasında atom ya da moleküllerin kararlı hallerinden bir elektron eksilerek serbest radikaller oluşur. Oluşan serbest radikaller hücrede bulunan her yapıyla tepkimeye girebilir ve onun yapısını bozabilir. Lipid peroksidasyonu yaparak hücre zarının bozulmasına, proteinlerde peptid bağı hasarına, nükleik asitlerde bozulmalara sebep olabilir. Serbest radikallerin hücrede oluşturduğu oksidasyon yüküne oksidatif stres adı verilir. Antioksidan mekanizmalar ile hücre bu oksidatif hasardan korunur(52).

Oksidatif stres periferik sinir yaralanması sonrası hasar patogenezinde ciddi bir etkindir. Yaralanma sonrası sinir hasarının esas nedenlerinden biridir ve sinirin fonksiyonel iyileşmesinde olumsuz etkisi vardır(53). Antioksidan mekanizmalar ile serbest radikallerin hücreden uzaklaştırılması oksidatif stresin inhibe edilmesi sinir rejenerasyonunu ve fonksiyonel iyileşmesini artırır.(54).

Periferik sinir sisteminde çinko-bakır ve mangan süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, az miktarda katalaz bulunur. Bu metaller ve enzimler antioksidan tepkimelerden sorumludur. Serbest radikalleri redükte edip oksidatif stresi azaltarak hücreyi oksidatif stresten korurlar.

2.5.3. Nörotrofik Etkenler

Travma sonrası sinir hasar bölgesinden ya da hedef organdan salınırlar. Akson boyunca retrograd olarak ilerleyip rejenerasyona olumlu katkı sağlarlar(55). İki grup halinde incelemek mümkündür. İlk grupta nörotrofin-3, nörotrofin-4, sinir büyüme faktörü ve beyin kaynaklı sinir büyüme faktörü yer alır. İkinci grupta nörotropik etki eden sitokinler vardır ki bunlar, lökosit inhibitör faktör ve silier nörotrofik faktördür.

2.6. DeneySEL Periferik Sinir Hasar Modelleri

Deney hayvan modelleri, periferik sinir hasarı ve rejenerasyon çalışmalarında sıklıkla kullanılır. İnsan ve hayvanların periferik sinir anatomisi, fizyolojisi ve patofizyolojisi birbirine benzerdir, sadece küçük farklar vardır. Deney hayvan modellerinde sıklıkla kemirgenler kullanılır. Kemirgenlerin anatomisi ve fizyolojisi iyi bilinir ve insanlara oldukça benzerdir. Kemirgenler dışında tavşan, domuz, maymun, at, kedi, köpek de kullanılabilir ancak hem ulaşılabilirlik hem de bakım zorluğu nedeniyle pek tercih edilmez.

Siyatik sinir en çok kullanılan sinirdir. En büyük sinir olmasından dolayı onarım kolaylığı sağlar(56). Rejenerasyon araştırılmasına yönelik çalışmalarda sinirde aksonotmezis oluşturur. Terapötik müdahalelerin araştırıldığı deney hayvan modellerin sinirde sıklıkla nörotmezis modeli kullanılır.

Hayvan modelinde çeşitli parametreler kullanılarak rejenerasyon dereceleri karşılaştırılır. Duyu ve motor fonksiyon testleri elektrofizyolojik çalışmalar ve histolojik incelemelerden elde edilen veriler ile değerlendirme yapılır(57, 58).

2.7. Periferik Sinir Tamir Teknikleri

Yaralı sinirde cerrahi olarak tamirin amacı, sinir iletiminin esas yapısı olan aksonların devamlılığını tekrar sağlamaktır. Akson uçları erken dönemde doğru dizilimle karşı karşıya getirildiğinde rehberlik edici özelliğe sahiptir(59).

2.7.1. Sütur ile Doğrudan Tamir

Epinöral tamir; klinikte en fazla kullanılan tamir yöntemidir. Sütur sinirin en dış tabakasından geçer(60). Fasiküllere zarar verilmez ve dikiş materyali sinir içerisinde bulunmaz. Fasiküllerden dikiş geçilmez ancak uygun fasikül dizilimi için kesinin proksimal ve distalinde bulunan fasiküllerin yerleşiminden ve sinir üzerinde uzunlamasına bulunan epinöral damarların seyrinden yararlanılır.

Perinöral (fasiküler) tamir; fasiküllerin etrafını saran perinöryumdan dikiş geçilen tamir yöntemidir. Fasiküllerin optimal eşleşmesini sağlayabilir, ancak tekniğin zor kısmı aynı fasikülleri karşılıklı getirebilmektir. Teknikte sinir içerisinde dikiş materyali kaldığı için iyileşme sırasında skar oluşmasına sebep verir. Ek olarak materyalin yabancı cisim reaksiyonu oluşturma riski mevcuttur.

İki tekniğin birbirine üstünlükleri bulunmamıştır(61). En önemli belirleyici, cerrahın tecrübesinin fazla olduğu tekniktir. Ayrıca hangi teknik kullanırsa bir diğer dikkat edilmesi gereken, sinirin gergin tamir edilmemesi, gerekirse greft kullanılmasıdır(62).

Tamir için monoflaman dikişler kullanılır. Emilebilir ya da emilemeyen özellikte türleri vardır, ancak daha az yabancı cisim reaksiyonu oluşturmaları ve kullanımın daha rahat olması nedeniyle emilemeyen dikişler tercih edilir(31).

2.7.2. Sinir Grefti ile Tamir

Sinirin proksimal ve distal uçları arasında defekt olması ya da tamir sırasında gerginlik olması durumunda greft ile tamir yapılır. Altın standart olan otogreft kullanılmasıdır. Sıklıkla sural sinir otogreft olarak kullanılsa da lateral femoral

kütanöz sinir, medial antebrakial kütanöz sinirin ön dalı otogreft olarak kullanılır(31). Allogreftler immün reaksiyona neden olabildiklerinden çok fazla tercih edilmezler.

2.7.3. Konduitler ile Tamir

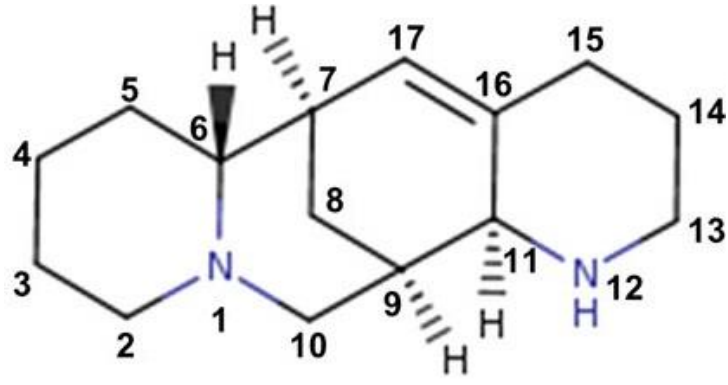
Akson filizlerinin distale ulaşması için rehberlik edecek küçük kanallardır. Otojen ya da non otojen türleri vardır. Non otojenler biyolojik ve non biyolojik olarak ikiye ayrılır(12). Ven grefti otojen bir kondüit örneğidir ve üç santimetrelık defektlere kadar kullanılabilir.

2.7.4. Fibrin Yapıştırıcı ile Tamir

Hızlı, kolay ve dikiş olmadığı için atravmatik bir metottur. Sinir uçları fibrin yapıştırıcısıyla bir arada tutulur. Dezavantajı inflamatuvar reaksiyonu artırabilir. Ayrıca dikiş kadar mekanik güce sahip değildir(63).

2.8. Aloperin

Aloperin, Sophora alopecuroides l'nin tohum ve yaprağından elde edilen kinolozidin alkoloiddir. Geleneksel Çin tıbbından kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Saflaştırılmış aloperin kristal toz halindedir. Aloperinin sahip olduğu antiviral, antitümöral, antibakteriyel, metastaz önleyici, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler ile çok geniş etki spektrumu vardır(5, 6).



Aloperine

Şekil 2.3. Aloperin moleküler yapısı (6)

2.8.1. İnflamasyon Üzerine Etkileri

Aloperinin güçlü antiinflamatuvar özelliği vardır. Wang ve ark. aloperinin inflamatuvar infiltrasyonunu azaltıp IL-4, IL-5, IL13 salınımını azalttığını ve bu etkiyle hava yollarındaki alerjik inflamasyonu hafiflettiğini göstermişlerdir(64). Ayrıca yapılan diğer çalışmalarda TNF- α , IL-1 β , IL6'yı azalttığı, IL-10 ekspresyonunu artırdığı ve immünmodülatör etki ettiği gösterilmiştir(6, 65).

2.8.2. Oksidatif Stres Üzerine Etkisi

Oksidatif stres hücre yapısına zarar verir, hücrenin birçok yaşamsal faaliyetlerini bozar. Bunlardan dolayı diyabet, nörolojik hastalılar gibi birçok hastalığa zemin hazırlar. Çeşitli çalışmalar aloperinin antioksidan etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir. Aloperinin NF- κ B yolağını baskılamak suretiyle oksijen radikal oluşumunu azalttığı bulunmuştur(66). Aloperinin süperoksit dismutaz salınımını artırdığı, aynı zamanda glutatyon redüktaz, katalaz ve süperoksit dismutaz aktivitelerini artırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(67).

2.8.3. Tümör Üzerine Etkisi

Aloperinin; özafagus kanseri, akciğer kanseri, hepatoselüler karsinom gibi

tümörlerde güçlü sitotoksik etki ettiği gösterilmiştir(64). Aloperinin prostat kanser hücreleri üzerindeki antitümör aktivitesi araştırıldı. Aloperin, PI3K/Akt ve Ras/Erk sinyal yolunu inhibe edip, pro-apoptotik gen kaspaz-3'ün ekspresyonunu artırdığı, Bcl-2/Bax oranını azalttığı ve tümör baskılayıcı p53 ve p21 seviyesini arttırdığı gösterildi(68).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma 29.07.2022 tarih ve 2022-29 karar sayılı Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan etik onay alınmasını takiben başlatıldı. (Bakınız EK-1) Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinde cerrahi işlemler ve fonksiyonel testler yapıldı. Histolojik ve İmmünohistokimya incelemeleri Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında yapıldı. Serumda inflamatuvar mediyatör, total oksidan stres (tos) ve total antioksidan status (tas) ölçümleri Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında enzim bağlı immünosorbent deneyi (ELISA) kullanılarak yapıldı. Çalışma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 22122034 proje numarasıyla desteklendi.

Çalışmada Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinde üretilmiş olan 350-400 gram ağırlığında 30 adet Wistar Albino cinsi erkek rat dahil edildi. Ratlara cerrahi işlemden önce ve sonra sınırsız(ad-libitum) besin ve su sağlandı, cerrahi işlemden sonra ratlar ayrı kafeslerde barındırıldı.

3.1. Gruplar

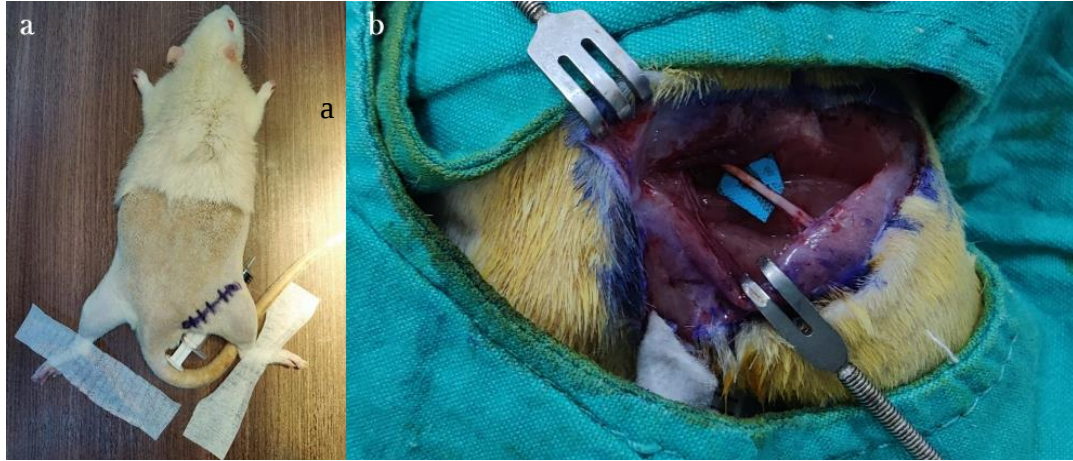
Toplam 30 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan iki cerrahi ve bir kontrol grubu olacak şekilde üç gruba randomize şekilde ayrıldı. (Tablo 2) Cerrahi işlem yapılan sıçanların sağ siyatik sinirlerinde cerrahi işlem ile nörometzis oluşturuldu. Epinöral onarım yapıldı. A grubuna aloperin verilmedi. B grubuna tek doz intraperitoneal aloperin uygulandı. C kontrol grubuna cerrahi işlem yapılmadı.

Tablo 2 Deney grupları ve yapılan işlemler

Gruplar	Yapılan İşlem	Sayı(N)
A Grubu	Kesi sonrası epinöral onarım	10
B Grubu	Kesi sonrası epinöral onarım + tek doz 100mg/kg intraperitoneal aloperin	10
C Grubu	Kontrol grubu	10

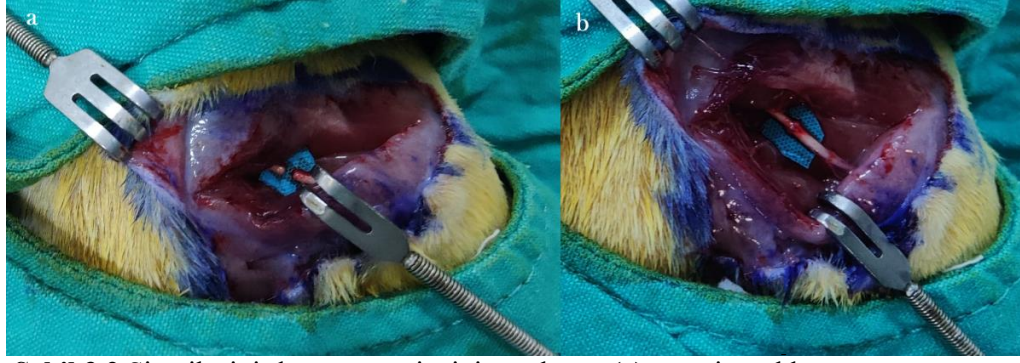
3.2. Cerrahi İşlem

Tüm sıçanların işlem öncesi ağırlıkları ölçüldü ve not edildi. Sıçanlara Ketamin Hidroklorür (Ketalar® flakon, Eczacıbaşı 50 mg/kg ve Xylazin (Rhompun® enjektabl flakon, Bayerl) 10 mg/kg intraperitoneal enjeksiyonuyla anestezi sağlandı.



Şekil 3.1 Cerrahi işleme başlamadan önce sıçanların platform üzerine hazırlanması(a) ve sıçan siyatik sinir eksplorasyonu sonrası anatomik görüntüsü(b)

Cerrahi işlemler deneyimli ekip ve tek cerrah tarafından standart cerrahi tekniklerle uygulandı. Cerrahi işlem sırasında standart pozisyon elde etmek için denekler deney tahtasına prone pozisyonda sabitlendi. Cerrahi işlem ve pansuman kolaylığı açısından işlem öncesi her iki bacak ve uyluk bölgeleri tıraş edildi ve tüm sıçanlarda sağ siyatik sinir üzerinde çalışıldı. Sıçanlar deney tahtası üzerine prone pozisyonu verilerek yatırıldı. (Şekil 3.1.) Sıçanların alt ekstremitesi dolaşım bozulmayacak şekilde flaster ile tespit edildi. Sıçanların sağ bacaklarının altına 5 cc hacimli enjektör ve kuyrukların yerleştirilmesiyle bacaklarının yükseltilmesi sağlandı. Sağ diz ve sağ iskial tüberkülü birleştiren çizgi cerrahi kalemle işaretlendi. Bu hat cerrahi insizyon için belirlendi. Cerrahi bölgenin temizliğinin %10'luk povidon iyot ile boyanarak sağlanmasının ardından bölge steril örtüyle örtüldü. Sağ alt ekstremitede çizilen hat boyunca femoral kemiğe paralel şekilde 3 santimetrelilik insizyon yapıldı. Cildin sıyrılmasını takiben gluteus ve biceps femoris kas planları arasından girildi. Vastus lateralis görüldü, daha sonra biceps femoris arkaya doğru ekarte edilerek siyatik sinire ulaşıldı. (Şekil 3.1.) Kesi hattı siyatik sinirin trifukasyoya ayrıldığı yerin 1 cm proksimali olarak belirlendi. Sinirin altına steril edilmiş bir adet tahta abeslank, muntazam bir kesi elde etmek için yerleştirildi. Siyatik sinir mikroskop altında 11 numara bisturiyle tek hamlede kesilerek nörotmezis modeli oluşturuldu. (Şekil 3.2.) Abeslank cerrahi aladan dikkatlice uzaklaştırıldı. Sinirde kesi yapılan hattın altına mavi renkte fon yerleştirildi ve epinöral uç uca koaptasyon aşamasına geçildi. Koaptasyon işlemi cerrahi mikroskop altında (World Precision Instruments; Sarasota, Florida, ABD) 9-0 monofilament naylon suture (Ethilon, Ethicon; Somerville, New Jersey, ABD) yapıldı. Dört adet dikiş geçilerek uç uca epinöral koaptasyon yapıldı. Tüm koaptasyon işlemi tek bir deneyimli el cerrahı tarafından yapıldı. (Şekil 3.2.) Kesinin onarımı sırasında fasiküllerin uygun şekilde karşı karşıya gelmesine dikkat edildi.



Şekil 3.2 Siyatik sinirde nörometzis tipi yaralanma(a) ve epinöral koaptasyon sonrası görüntü(b)

Koaptasyon işleminin tamamlanmasını takiben cerrahi alan steril izotonik mayi ile yıkandı, kas fasyası 4/0 vicryl suture ile, cilt 4/0 prolene suture ile dikildi. Aloverin grubundaki hayvanlara aloperin (Abcam, Aloperine, >%99 saflık) 100mg/kg'dan 2 mililitre serum fizyolojik içinde çözülerek intraperitoneal olarak tek doz uygulandı.

Cerrahi işlemlerin tamamlanmasının ardından anestezinin devam ettiği süre boyunca sıçanlar ısıtma bandında bekletilerek hipotermiden korundu. Anestezi etkisi geçtikten sonra sıçanlar ayrı ayrı kafeslere yerleştirildi.

Sıçanların 6 haftalık takip süresinin tamamlanmasının ardından yüksek doz anestezi ile sakrifikasyon yapıldı. İlk olarak intrakardiyak kan örnekleri alındı, daha sonra uyluk ve bacak bölgeleri tıraş edildi. Ardından eski kesi hattından girilerek siyatik sinire ulaşıldı. Sıçanların sağ siyatik siniri koaptasyon yapılan bölgesinin proksimal ve distal 2 cm'lik bölümü içerecek şekilde proksimal ve distaline işaret dikişleri geçilerek çıkarıldı. Daha sonra her iki gastrocnemius kası çıkarıldı.

3.2. Değerlendirme Yöntemleri

Çalışmada yer alan sıçanlarda fonksiyonel, biyokimyasal, histolojik ve immünohistokimyasal incelemeler ile değerlendirme yapıldı. Veriler istatistiksel olarak incelendi.

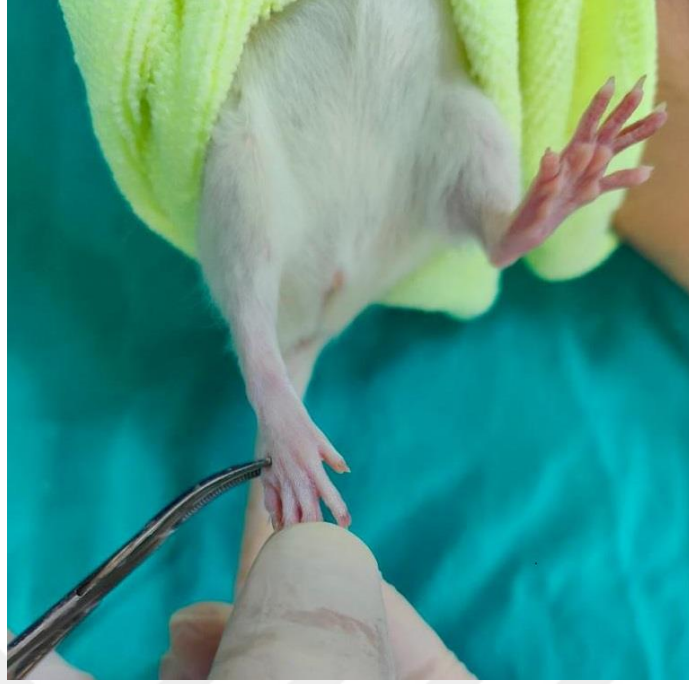
3.2.1 Fonksiyonel İncelemeler

Sakrifikasyon öncesi tüm sıçanların nörolojik olarak sağlıklı olduğu gözlemlendi. Sıçanlara sakrifikasyon yapılmadan önce pinprick, sıcak zemin ve itme kuvveti (extensor postural thrust) testleri yapıldı. Sakrifikasyon sonrası eksize edilen gastrocnemius kasının ağırlık ölçümü yapıldı.

3.2.1.1. Pinprick Testi

Duyu fonksiyonu için kullanılır. Ağrı duyusu değerlendirilir. Tüm sıçanların ciltleri ayaktan dize kadar aynı forceps ile sıkıştırılarak ağrıya bağlı ayak çekme yanıtı değerlendirildi ve yanıtın olduğu anatomik bölgeye göre sıfırdan üçe kadar puanlama yapıldı. Metatars seviyesinden yanıt alındığında 3 puan, topuk ya da ayak bileği distal seviyesinden yanıt alındığında 2 puan, ayak bileği proksimalinden yanıt alındığından ise 1 puan verildi. Refleks yanıtın olmaması 0 puan olarak değerlendirilmeye alındı(69).

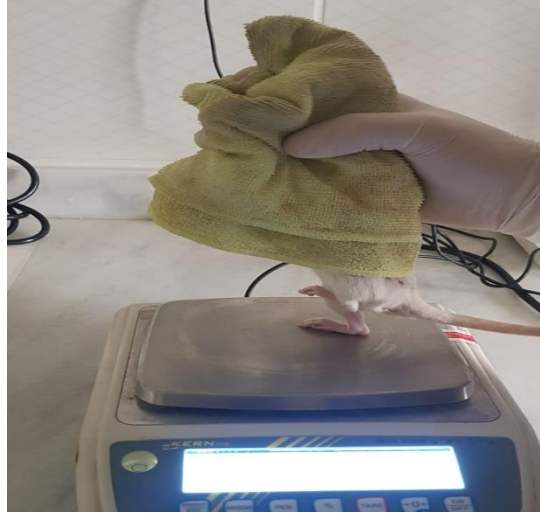
Test yapılırken duyu dermatomuna dikkat edildi. Ağrılı uyaran ayak medialine verilmedi. Çünkü sıçanların ayak medial duyusu, femoral sinirin sural dalını alırken, lateral duyusunu safen sinir, santral bölge duyusunu tibial sinir alır. Her ikisi de siyatik sinirin dalıdır(70). (Şekil 3.3.)



Şekil 3.3. Pinprick testi yapılırken ağırlı uyarının ayak lateralinden oluşturulmasına dikkat edildi

3.2.1.2. İtme Kuvveti Oranı (Extensor Postural Thrust Test)

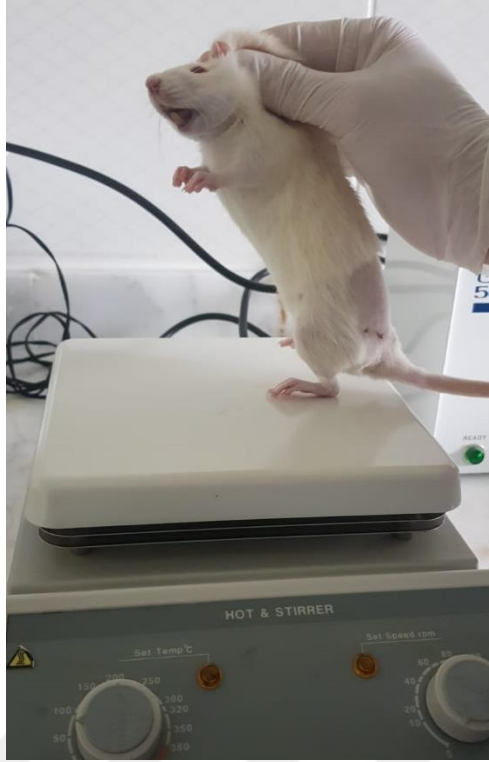
Sıçanların motor performanslarını değerlendirmek için kullanıldı. Sıçanın sadece tek ayağı kalacak şekilde tüm vücudu havlu ile sarıldı. İlk olarak sağ ayağını hassas terazi üzerine basması sağlandı ve itme kuvveti oluşturması beklendi. (Şekil 3.4.) İşlem 5 kere tekrar edildi ve çıkan en yüksek değer değerlendirilmeye alındı. Aynı işlemler sol ayak için de yapıldı. Elde edilen veriler Koka ve Hadlock tarafından açıklanan itme kuvvet oranı formülü kullanılarak analiz edildi(71). Formüle göre normal taraftan işlem yapılan taraf ile aradaki farkın normal taraf kuvvetine bölünmesiyle itme kuvvet oranı hesaplandı.



Şekil 3.4. Hassas terazi ile itme kuvveti ölçüldü ve itme kuvvet oranı hesaplandı.

3.2.1.3. Sıcak Zemin Testi

Sıçanların ısı duyusunun testi için kullanıldı. Sıçanların opere edilen ayaklarının lateral kısmının, sıcaklığı 56°C'ye ısıtılmış sıcak zemin üzerine basması sağlandı. Sıçanların ayaklarını çekme süresi kronometre ile tutuldu. (Şekil 3.5.) İşlem üç kere ikişer dakika arayla tekrar edildi. Çıkan sonuçların aritmetik ortalaması alınarak değerlendirildi. Sıçanların ayaklarını çekmesi için 12 saniyeye kadar beklendi. Ciltte yanık oluşmaması için 12. Saniyede işleme son verildi.



Şekil 3.5. Sıçanları 56°C'ye ısıtılmış sıcak zemin üzerine basması

3.2.1.4. Gastroknemius Kas Ağırlık İndeksi

Gastroknemius kasının siniri, siyatik sinirin posterior dalıdır. Siyatik sinir hasarı sonrası kas atrofiye gider. Sinirin iyileşmesiyle beraber kas reinerve olur ve kas kütlesi artmaya başlar. Bu artış sinir rejenerasyonunun bir belirtecidir(72).

Takip süresi tamamlanan ratlar, anestezi altında deney tahtasına prone pozisyonunda yatırıldı. Siyatik sinirin çıkarılmasını takiben ilk olarak opere edilen taraf gastroknemius kası, daha sonra sağlam taraf gastroknemius kası eksize edildi. Kas ağırlıkları hassas terazi ile tartıldı (Şekil 3.6). Opere edilen bölgedeki kas ağırlığı karşı taraf kas ağırlığına bölünerek kas ağırlık indeksi hesaplandı.



Şekil 3.6. Sıçanların her iki gastrocnemius kasları çıkarıldıktan sonra aradaki hacim farkı

3.2.2. Biyokimyasal Değerlendirme

Ratlardan etik kurul onayını takiben çalışma için gerekli olan kan örnekleri serum separatör jelli tüplere alınarak 3500 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen serum örnekleri ependorflara bölünerek analize kadar -80 derecede saklanmıştır. Çalışma günü örnekler çözündürülmüş, serum TNF- α (BT Lab- Biotech Co.Ltd, China, catalog number: E0764Ra), IL-6 (BT Lab- Biotech Co.Ltd, China, catalog number: E0135Ra), IL-10 (Katalog no; E0108Ra) rat ELİSA kitleri kullanıldı. ELİSA test kitleriyle üretici prosedürlerine uygun olarak gerçekleştirilmiş ve örneklerle ait absorbans değerleri CLARIOstar microplate reader cihazında 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Standartlardan hareketle hazırlanan kalibrasyon grafiği yardımıyla her bir örnekteki analit konsantrasyonları hesaplanmıştır. Tüm kitler için intra- ve inter-assay %CV değerleri sırasıyla %8 ve %10’dan düşüktü.

Serum Total Oksidan ve Antioksidan Seviye Ölçümü (TAS ve TOS analizleri), Rel Assay Diagnostics (Turkey) marka ticari kitler kullanılarak (TAS Lot:

OK22136A, TOS Lot:OK221500) Roche cobas c 501 (Japan) cihazında çalışılmak üzere aplike edildi. Aplikasyon işlemlerinden sonra Rel Assay Diagnostics (Turkey) marka kitler kullanılarak Roche cobas c 501 (Japan) marka otoanalizörde fotometrik yöntemle ölçüldü.

3.2.3. Histolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Histolojik çalışmalar için taze hazırlanmış ve soğutulmuş %4'lük paraformaldehitte +4°C'de 24 saat fikse edilen dokular %30'luk sükröz içerisine alındı. Doku dibe çökene kadar -en az 24 saat- bekletildi. Dokular kriyomatriks içine gömüldü ve kriyostat cihazı (ThermoShandonCryostat 210160GB) ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı.

Hematoksilen & Eozin (H&E) boyama ile inflamasyon ve genel histolojik değerlendirme için her denekten rastgele seçilen kesitler incelendi. H&E boyama Tablo 3'deki protokole uygun olarak yapıldı.

Tablo 3. Frozen kesitler için H&E protokolü.

	Frozen kesitler için H&E protokolü
1	%99,9 Absolü alkol 5 sn (2x)
2	Çeşme suyu 5 sn
3	Harris Hematoksilen 2 dk
4	Çeşme suyu 5 sn (2x)
5	%99,9 Absolü alkol 5 sn
6	Eozin 1 dk
7	Çeşme suyu 5 sn (2x)
8	%99,9 Absolü alkol 5 sn (3x)
9	Ksilen 5sn (2x)
10	Entellan ile kapatma

Sıçanların siyatik sinir örneklerinde rastgele alan seçilerek distal ve proksimal

kesitlerdeki akson kalınlığı ortalaması her sinir için ayrı ayrı hesaplandı. Distal akson kalınlığı ortalaması ile proksimal akson kalınlığı oranlandı. Buna her bir sinir için ‘akson çapı değişim oranı’ denildi. Her sinir için ayrı ayrı oranlama yapıldı.

Akson yapısı ve sayısındaki değişimleri göstermek için Toluidin Blue ile boyandı. İlk olarak kesitler parafinden arındırıldı. Daha sonra kesitlerin üzerine %2 lik toluidin blue çözeltisi damlatıldı. Yaklaşık 3 dakika beklemenin ardından su ile yıkandı. Lam lamel ile kapatıldı. Sinirin proksimal ve distalindeki total akson sayısı NIS-Element ile hesaplandı. Distaldeki akson sayısı proksimaldeki akson sayına oranlandı. Bu oran ‘akson sayısı değişim oranı’ olarak adlandırıldı.

İmmünohistokimyasal Boyamalar;

Tablo 4. Konjuge olmayan antikorların işaretleme protokolü.

1	Kesitlerin etrafı hidroforik kalemle çizildi.
2	PBS ile 3x5 dakika yıkandı.
3	Kesitler %5 BSA ve %0,2 Triton X-100 içeren PBS ile 30 dk inkübe edildi.
4	PBS ile 3x5dk yıkandı.
5	Protein Blok (Ab 64226, Abcam, UK) solüsyonuyla 37°C’de 30 dk inkübasyon
6	Yıkama yapmadan pipet ile blok solüsyonu uzaklaştırıldı.
7	Anti TNF alfa (ABIN343428, Antibodies.com,UK) (1/200 dilüe edilmiş) antikor ile 24 saat, +4°C’de muamele edildi. Tüm antikorlar farklı kesitlerde boyandı.
8	PBS ile 3x5dk yıkandı.
9	Diğer antikorlar ile işaretlenmiş kesitler Donkey anti-rabbitIgG-FITC: (sc-2090, SantaCruzBiotechnology, USA) sekonder antikor ile 3 saat oda sıcaklığında ve karanlık ortamda inkübe edildi.
10	PBS ile 3x5dk yıkandı.
11	Kesitler DAPI’li floresan kapatma medyumuna ile kapatıldı.

Tablo 5. Konjuge antikorların işaretleme protokolü.

Konjuge antikorların işaretleme protokolü	
1	Kesitlerin etrafı hidrofobik kalemle çizildi.
2	PBS ile 3x5 dakika yıkandı.
3	Kesitler %5 BSA ve %0,2 Triton X-100 içeren PBS ile 30 dk inkübe edildi.
4	PBS ile 3x5dk yıkandı.
5	Protein Blok (Ab 64226, Abcam, UK) solüsyonuyla 37 ⁰ C’de 30 dk inkübasyon
6	Yıkama yapmadan pipet ile blok solüsyonu uzaklaştırıldı.
7	Kesitler ayrı ayrı Konjuge anti IL-10 (A-2) (AlexaFluor 594, sc-365858, SantaCruzBiotec, USA) +4 ⁰ C’de inkübe edildi
8	PBS ile 3x5dk yıkandı.
9	Diğer antikorlar ile işaretlenmiş kesitler Donkey anti-rabbitIgG-FITC: (sc-2090, SantaCruzBiotechnology, USA) sekonder antikor ile 3 saat oda sıcaklığında ve karanlık ortamda inkübe edildi.
10	Kesitler DAPI’li floresan kapatma medyumu ile kapatıldı.

Uygulanan protokol Tablo 4 ve Tablo 5’te gösterildi. İşlemler karanlık ortamda nem ortamı oluşturularak yapıldı. Olympus BX51 Trinoküler flüoresan mikroskopta incelendi. 40X büyütmede siyaatik sinir prepartalrından rastgele 4’er alan seçilerek DP72 kamera ile kaydedildi

İmmunflorasan boyama protokülünde inflamatuvar sitokin olarak TNF alfa tercih edildi. FITCH filtresinde bakıldı.(Yeşil renk)

Antiinflamatuvar işaretleme olarak IL-10 kullanıldı. TXRED filtresi kullanıldı. Kırmızı işaretleme gözlemlendi.

3.2.4. İstatistik Analiz

Bu çalışmadaki veriler IBM-SPSS Statistics 21 (IBM, USA) programıyla

istatistiksel olarak değerlendirildi. Veriler gruplar arasında bias olmaması için kr bir araştırmacı tarafından yapıldı. Değerlendirmelerde $p<0,05$ değeri gruplar arası anlamlı farklılık olarak kabul edildi. İki den fazla bağımsız parametrik grup için normal dağılım ve varyans homojenliği sırayla Kolmogorov-Smirnov ve Levene testleriyle kontrol edildi. Normal dağılım sağlandığında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapıldı ve gruplar arası anlamlı fark olduğunda ikili karşılaştırmalarda LSD post-hoc analiz yapıldı. Normal dağılım olmadığında ise Kruskal-Wallis testi uygulandı ve gruplar arası anlamlı fark olduğunda ikili karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı.



4. BULGULAR

4.1. Genel Değerlendirme Bulguları

Altı haftalık takip süresi sonrası 30 rat sakrifiye edildi. Siyatik sinirler çıkarıldı ve onarım yapılan tüm sinirlerde rüptür izlenmedi. Sinir onarımı yapılan sıçanların onarım yapılan taraf sağ gastroknemiuslarında karşı tarafa göre atrofi izlendi

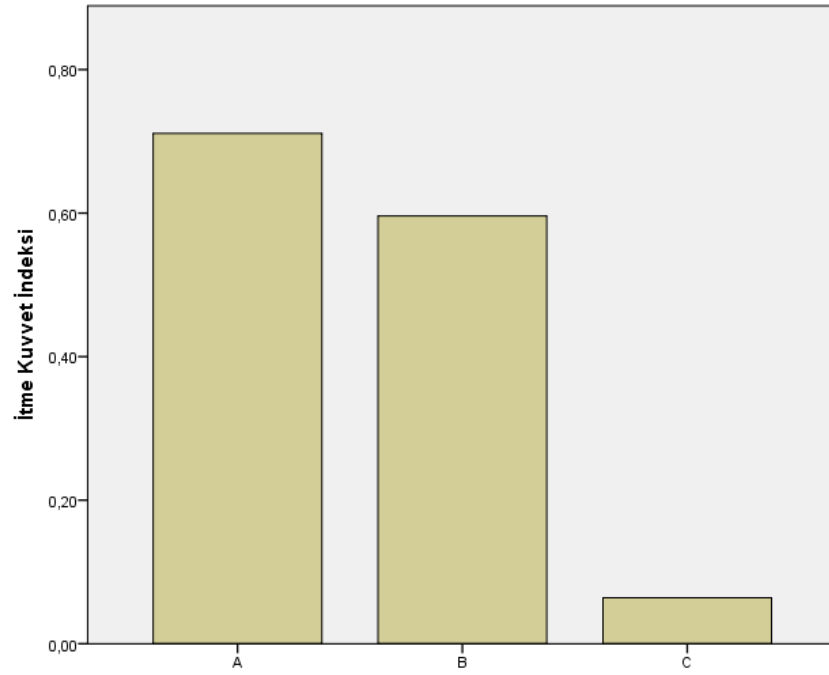
4.2. Fonksiyonel Değerlendirme Bulguları

4.2.1. İtme Kuvveti Oranı (Extensor Postural Thrust Test) Bulguları

Grupların itme kuvveti oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark bulundu, ($p<0,005$) A grubu ile B grubu arasında anlamlı yükseklik ($p<.001$), yine A grubuyla C grubu arasında anlamlı yükseklik bulundu ($p<.001$). B ve C grupları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı yükseklik bulundu. ($p<.001$). (Tablo 6. Grafik 1.)

Tablo 6 Grupların itme kuvvet oranı (gr) ortalama değerleri

Çalışma Grupları	İtme kuvvet oranı	Gruplar-arası kıyas		
		A	B	C
A Grubu	$0,71 \pm 0.20$	–	$<.001$	$<.001$
B Grubu	$0,59 \pm 0.01$	$<.001$	–	$<.001$
C Grubu	$0,06 \pm 0.01$	$<.001$	$<.001$	–
Anova $p<0,005$				



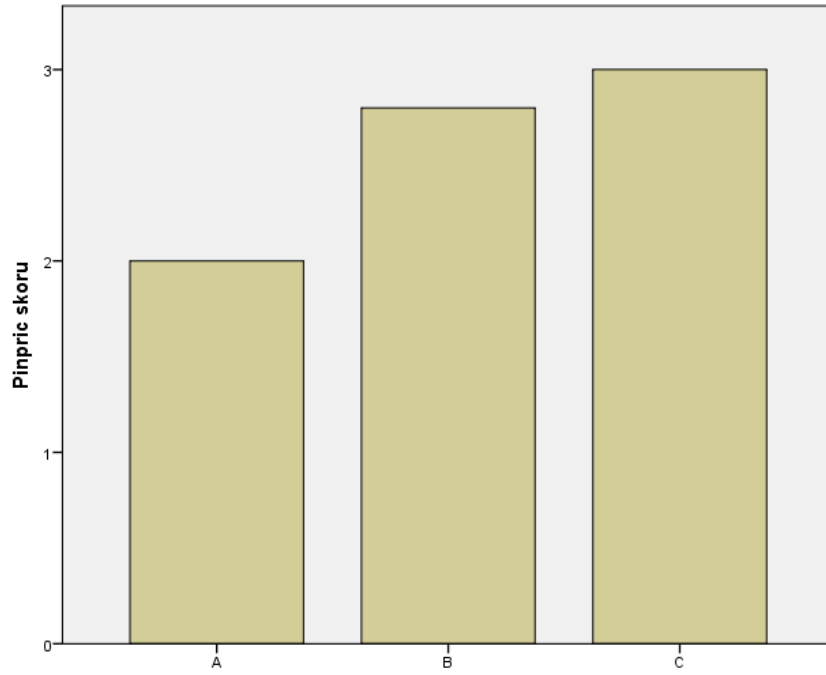
Grafik 1. Grupların itme kuvvet oranı (gr) ortalaması karşılaştırma grafiği

4.2.2. Pinprick Testi Bulguları

Grupların pinprick skor ortalamaları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark bulundu ($p < 0,005$). A grubu ile B grubu arasında anlamlı düşüklük ($p = .003$), yine A grubuyla C grubu arasında anlamlı düşüklük bulundu ($p < .001$). B ve C grupları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. ($p < .001$). (Tablo 7. Grafik 2.)

Tablo 7. Grupların pinprick skoru ortalama değerleri

Çalışma Grupları	(Pinprick Skoru)	Gruplar-arası kıyas		
		A	B	C
A Grubu	$2,00 \pm 0,11$	–	,003	<.001
B Grubu	$2,80 \pm 1,33$	.003	–	.424
C Grubu	$3,00 \pm 0,00$	<.001	.424	–
Kruskal Wallis testi $p < 0,005$				



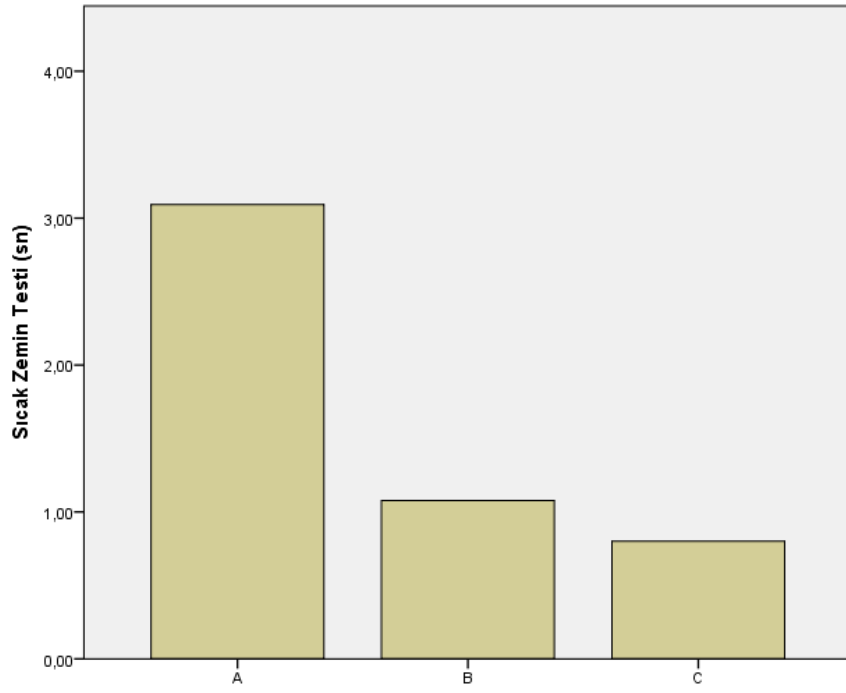
Grafik 2. Grupların pinprick skoru ortalaması karşılaştırma grafiği

4.2.3. Sıcak Zemin Testi Bulguları

Grupların sıcak zeminden ayak çekme süre ortalamaları karşılaştırıldığında aralarında anlamlı olarak fark bulundu ($p < 0,005$). A ve B grupları sıcak zeminden ayak çekme süreleri arasında anlamlı yükseklik bulundu ($p = ,012$). A ve C grupları arasında yine anlamlı yükseklik bulundu ($p = ,012$). B ile C grubu arasında sıcak zeminden ayak çekme süresi anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p < .001$) (Tablo 8. Grafik 3.)

Tablo 8. Grupların sıcak zemin testi(sn) ortalama değerleri

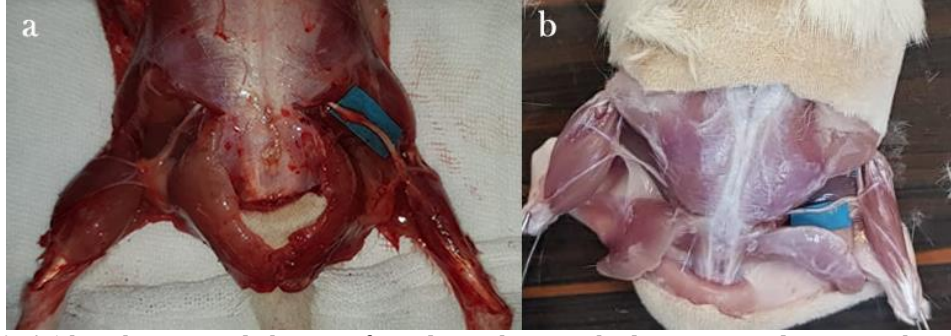
Çalışma Grupları	Sıcak zemin testi(sn)	Gruplar-arası kıyas		
		A	B	C
A Grubu	$3,39 \pm 0.61$	–	.012	.006
B Grubu	$1,07 \pm 0.03$	.012	–	<.001
C Grubu	$0,80 \pm 0.02$	.006	<.001	–
Kruskal Wallis testi $p < 0,005$				



Grafik 3. Grupların sıcak zemin testi(sn) ortalama değerleri karşılaştırma grafiği

4.2.4. Gastroknemius Kas Ağırlık İndeksi Bulguları,

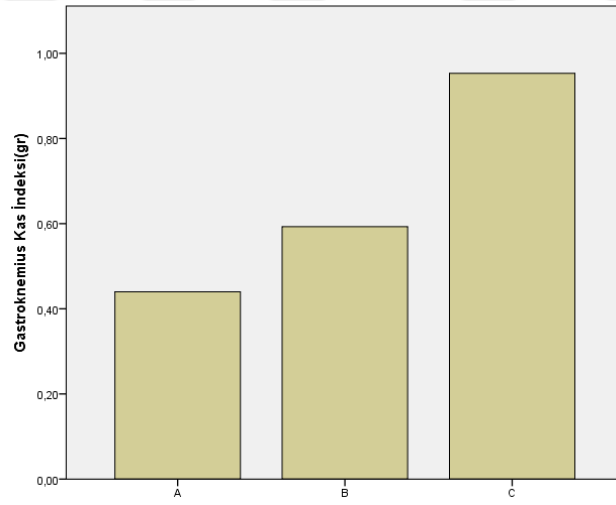
Grupların gastroknemius kas oranlarının (gr) ortalamaları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark bulundu ($p<0,005$). A grubu ile B grubu arasında anlamlı düşüklük ($p=.003$), yine A grubuyla C grubu arasında anlamlı düşüklük bulundu ($p<.001$). B ve C grupları karşılaştırıldığında gruplar arasında kas ağırlık oranları arasında anlamlı düşüklük bulundu ($p<0,001$). (Tablo 9. Grafik.4.) (Şekil 4.1.)



Şekil 4.1 her iki grupta da kas atrofisi izlenmekte ancak aloperin uygulana B grubunda A grubuna kıyasla atrofi daha az olduğu görülmekte

Tablo 9. Grupların gastroknemius kas indeks(gr) ortalama değerleri

Çalışma Grupları	Gastroknemius ağırlık oranı(gr)	Gruplar-arası kıyas		
		A	B	C
A Grubu	0,44 ± 0.03	–	.003	<.001
B Grubu	0,59 ± 0.03	.003	–	<.001
C Grubu	0,95 ± 0.00	<.001	<.001	–
Anova p<0,005				



Grafik 4. Grupların gastroknemius kas indeks(gr) ortalama değerleri karşılaştırma grafiği

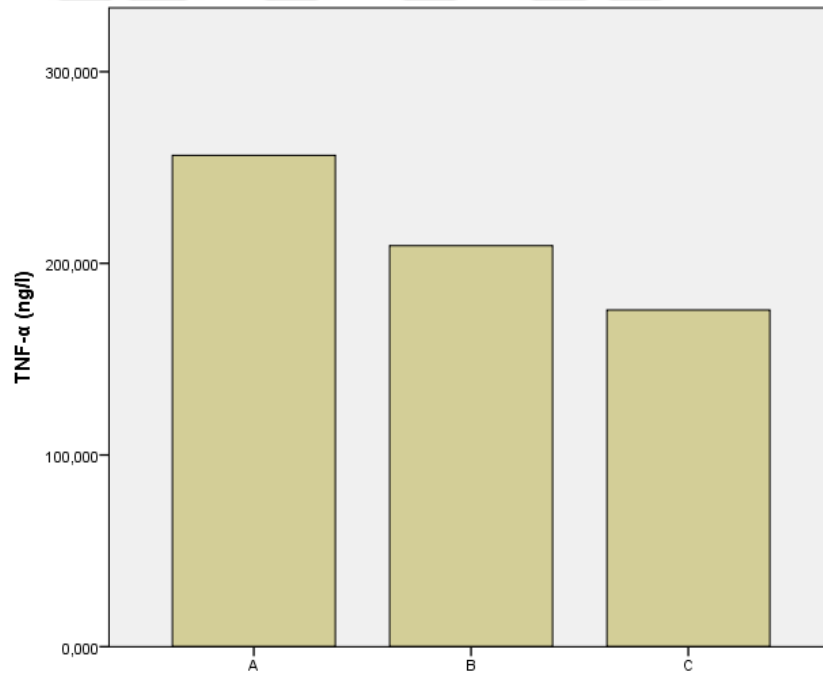
4.3. Biyokimyasal Değerlendirme Bulguları

Sıçanların serum TNF- α (ng/l) seviyesi karşılaştırıldığında gruplar arasında

istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu, ($p<0,005$). A grubu ile B grubu arasında anlamlı yükseklik ($p=.032$) yine A grubuyla C grubu arasında anlamlı yükseklik bulundu, ($p=.001$). B ve C grupları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=0,118$). (Tablo 10. Grafik 5.)

Tablo 10. Grupların serum TNF-a (ng/l) ortalama değerleri

Çalışma Grupları	(Serum TNF-a ng/l)	Gruplar-arası kıyas		
		A	B	C
A Grubu	256,31 ± 21,86	–	.032	.001
B Grubu	209,21 ± 8,93	.032	–	.118
C Grubu	175,69 ± 9,48	.001	.118	–
Anova testi $p<0,005$				



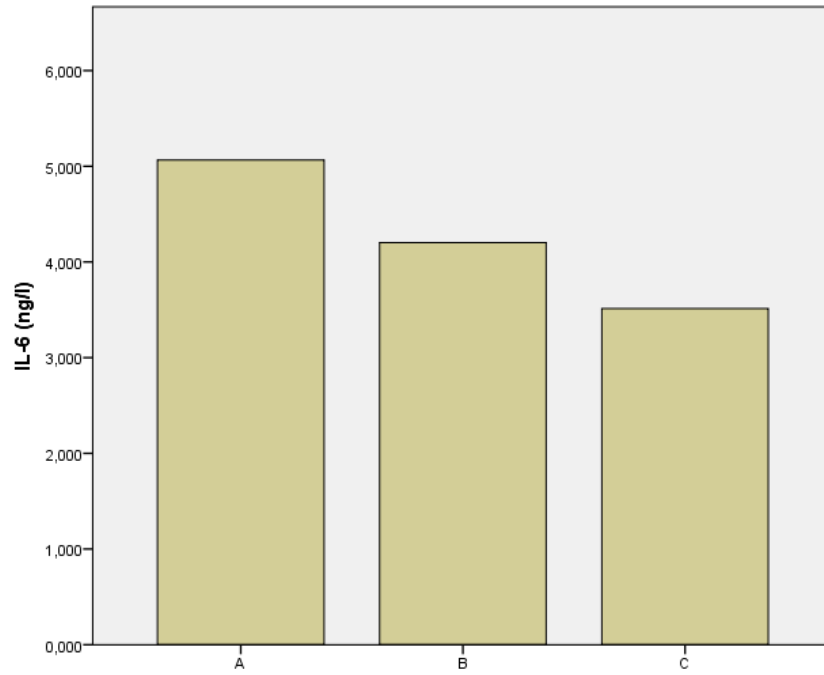
Grafik 5. Grupların serum TNF-a (ng/l) ortalama değerleri karşılaştırma grafiği

Sıçanların serum IL-6 (ng/l) seviyesi karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,005$). A grubu ile B grubu arasında

anlamli yükseklik ($p=.038$), yine A grubuyla C grubu arasında anlamli yükseklik bulundu ($p=.001$). B ve C grupları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamli fark bulunmadı ($p=0,92$). (Tablo 11. Grafik 6.)

Tablo 11. Grupların serum IL-6 (ng/l) ortalama değerleri

Çalışma Grupları	(Serum IL-6 ng/l)	Gruplar-arası kıyas		
		A	B	C
A Grubu	$5,06 \pm 0,35$	–	.038	.001
B Grubu	$4,20 \pm 0,17$	.038	–	.092
C Grubu	$3,51 \pm 0,28$	.001	.092	–
Anova testi $p<0,005$				



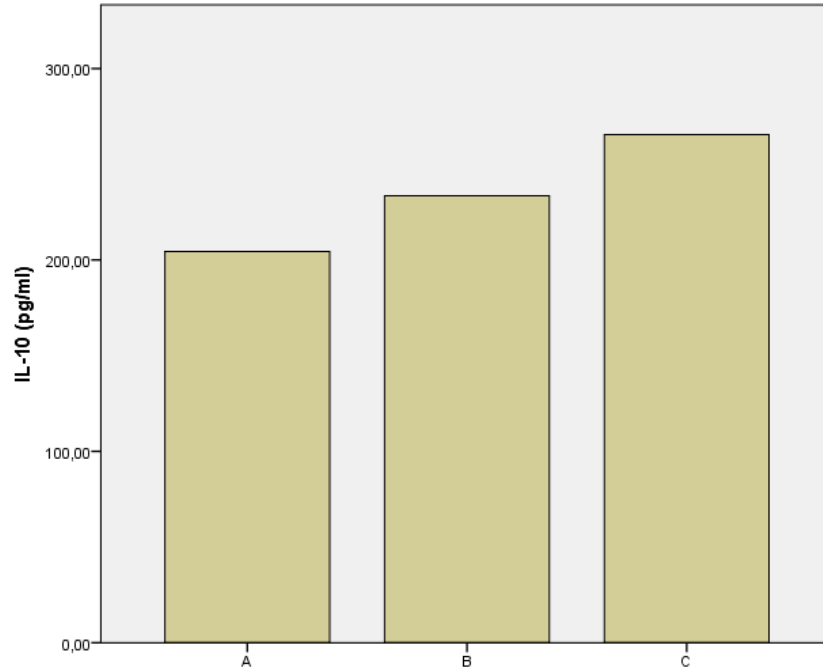
Grafik 6. Grupların serum IL-6 (ng/l) ortalama değerleri karşılaştırma grafiği

Sıçanların serum IL-10 (pg/ml) seviyesi karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamli fark bulundu ($p<0,005$). A grubu ile B grubu arasında anlamli düşüklük ($p<.001$), yine A grubuyla C grubu arasında anlamli düşüklük

bulundu ($p<.001$). B ve C grupları karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı düşüklük bulundu ($p<.001$). (Tablo9. Grafik7.)

Tablo 12. Grupların serum IL-10 (pg/ml) ortalama değerleri

Çalışma Grupları	(Serum IL-10 pg/ml)	Gruplar-arası kıyas		
		A	B	C
A Grubu	204,42 ± 2,78	–	<.001	<.001
B Grubu	233,58 ± 3,93	<.001	–	<.001
C Grubu	265,54 ± 4,77	<.001	<.001	–
Anova $p<0,005$				

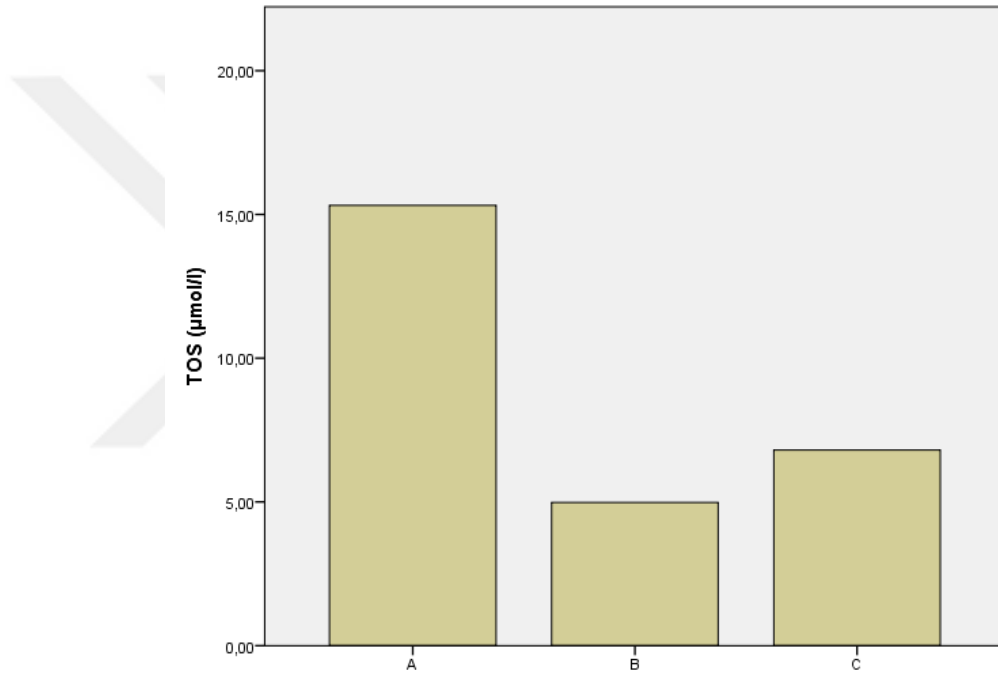


Grafik 7. Grupların serum IL-10 (pg/ml) ortalama değerleri karşılaştırma grafiği

Sıçanların serum TOS ($\mu\text{mol/l}$) seviyesi karşılaştırıldı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,005$). A grubu ile B grubu arasında anlamlı yükseklik ($p<.001$), yine A grubuyla C grubu arasında anlamlı yükseklik bulundu ($p<.001$). B ve C grupları karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=.401$). (Tablo 13. Grafik 8.)

Tablo 13. Grupların serum TOS ($\mu\text{mol/l}$) ortalama değerleri

Çalışma Grupları	(Serum TOS $\mu\text{mol/l}$)	Gruplar-arası kıyas		
		A	B	C
A Grubu	15,31 $\pm$ 2,49	–	<.001	<.001
B Grubu	4,98 $\pm$ 0,52	<.001	–	.401
C Grubu	6,80 $\pm$ 0,59	<.001	.401	–
Anova testi p<0,005				

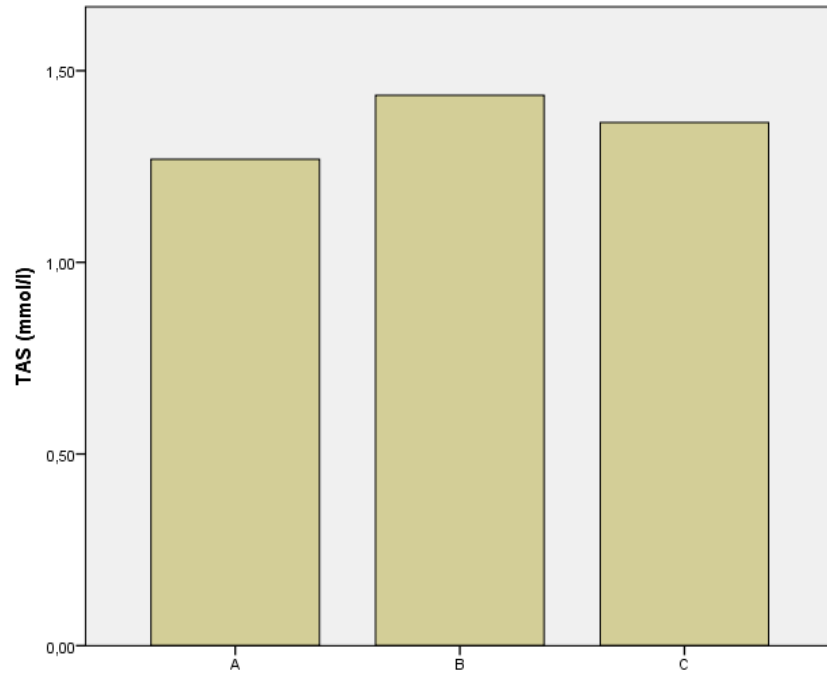


Grafik 8. Grupların serum TOS ($\mu\text{mol/l}$) ortalama değerleri karşılaştırma grafiği

Sıçanların serum TAS (mmol/l) seviyesi karşılaştırıldı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,005$). A grubu ile B grubu arasında anlamlı düşüklük bulundu. ($p=.006$) A grubuyla C grubu arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=.101$). B ve C grupları karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=.202$). (Tablo 14. Grafik 9.)

Tablo 14. Grupların serum TAS (mmol/l) ortalama değerleri

Çalışma Grupları	(Serum TAS mmol/l)	Gruplar-arası kıyas		
		A	B	C
A Grubu	1,26 ± 0,02	–	.006	.101
B Grubu	1,43 ± 0,05	.006	–	.220
C Grubu	1,36 ± 0,03	.101	.220	–
Anova testi p<0,005				



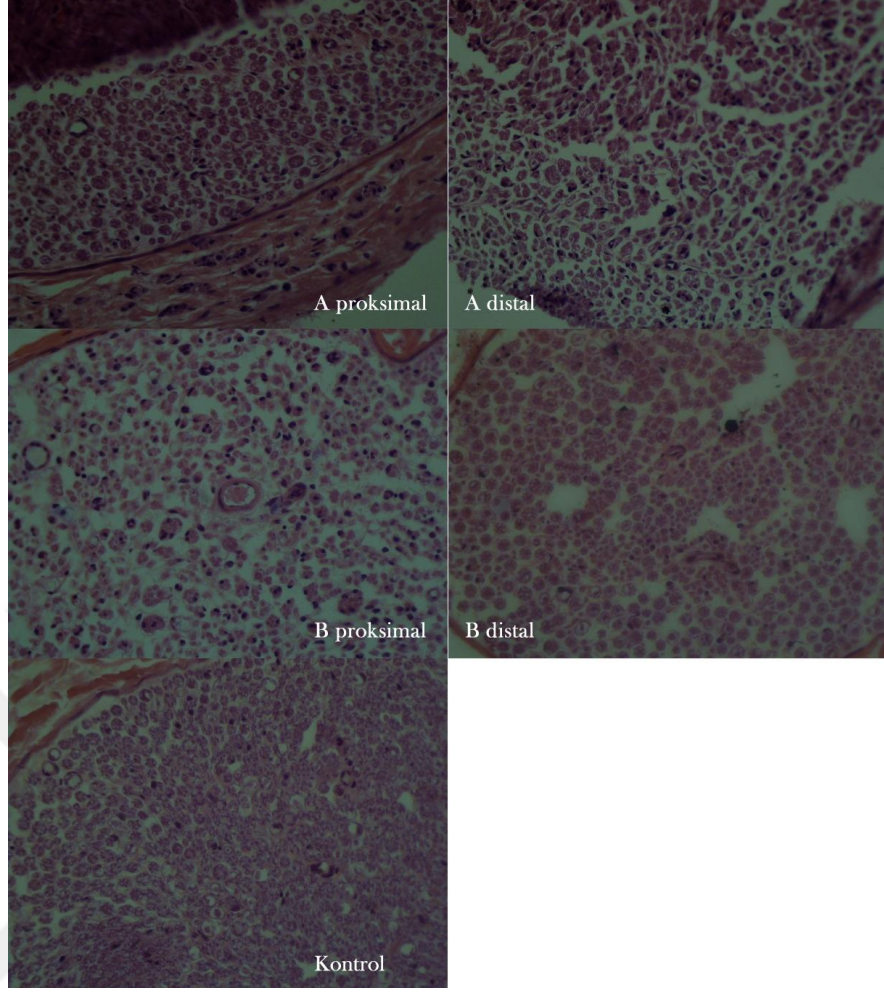
Grafik 9. Grupların serum TAS (mmol/l) ortalama değerleri karşılaştırma grafiği

4.4. Histolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme Bulguları

4.4.1. Hematoksilen & Eozin Boyama Bulguları

Sıçanlardan çıkarılan siyatik sinir örneklerinin hemotoksilen&eosin ile

boyanmasının ardından doku ilk olarak damarlanma, wallerian dejenerasyon, inflamatuvar hücre bakımından değerlendirildi. A grubunda onarımın distalinde, aksonal mimaride bozulma ve aksonal büzüşmeye bağlı geniş açıklıklar görüldü. Schwann hücre çekirdeklerinde piknotik değişiklikler görüldü. Büzüşme, aradaki açıklıklar ve piknozis özellikle sinir periferinde görülürken sinir merkezi daha iyi korunmuş olarak görüldü. Nekroze alanlar görülmezken, inflamasyona yönelik bulgular izlendi. A grubu onarım proksimalinde, distale göre aksonal mimarisi daha iyi görünümde. Açıklıklar yer yer var olup, distale göre az daha, merkeze yakın perifer daha iyi görünümde. B grubunda onarım distalinde A grubu kadar belirgin olmasa da sinir periferinde yer yer açıklıklar vardı, merkezi daha iyi korunmuş, kondanse çekirdekler periferde daha yoğun izlenmekte. Aksonal mimaride bozulma olsa da A grubuna göre daha iyi durum, kapiller damarlanmada artış gözlenmekte. Nekrotik alanlar olmayıp inflamasyona yönelik bulgular neredeyse C grubuyla benzer düzeyde. B grubu onarım proksimalinde aksonal mimaride bozulma distaline göre daha az, aksonal büzüşmeye bağlı geniş açıklıklar var schwann hücre çekirdeklerinde piknotik değişiklikler görüldü ancak neredeyse C kontrol grubuyla aynı. (Şekil 4.2.)



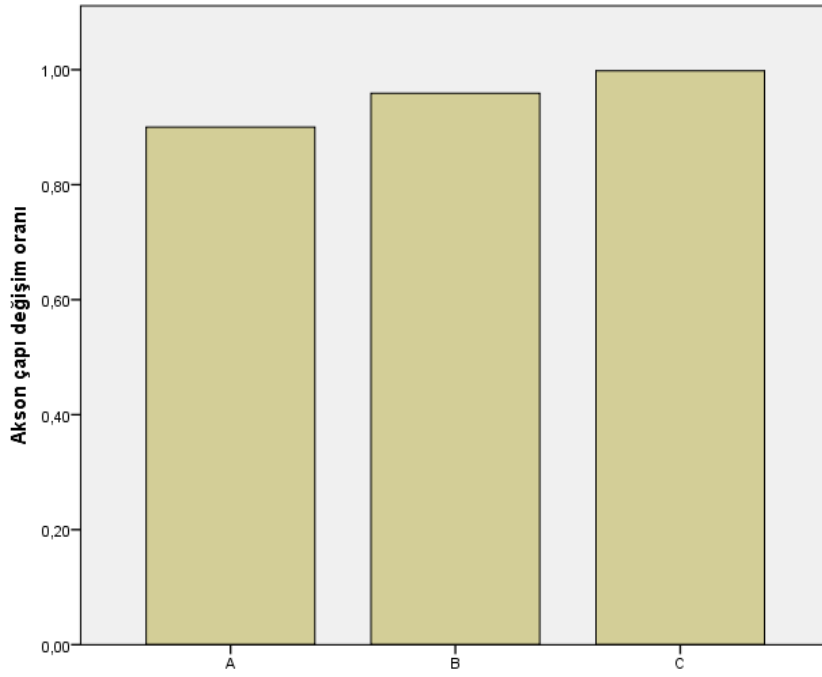
Şekil 4.2 Grupların hemotoksilen&eosin ile boyanmasında gruplar arasından anlamlı fark elde edilmiştir

4.4.2. Akson Çapı Değişim Oranı Bulguları

Grupların akson çapı değişim oran ortalamaları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark bulundu ($p < 0,005$). A grubu, B ($p = ,008$) grubu ve C grubundan anlamlı daha düşük orana sahip bulundu. ($p = .034$) B grubu C ($p = 0,023$) grubundan anlamlı olarak daha düşük oranda bulundu (Tablo 15. Grafik 10.)

Tablo 15. Grupların akson çapı değişim oran ortalama değerleri

Çalışma Grupları	(Akson Çapı Değişim Oranı)	Gruplar-arası kıyas		
		A	B	C
A Grubu	$0,90 \pm 0,01$	–	.008	<.001
B Grubu	$0,95 \pm 0,01$	.008	–	.023
C Grubu	$0,99 \pm 0,001$	<.001	.023	–
Kruskal Wallis Testi $p<0,005$				

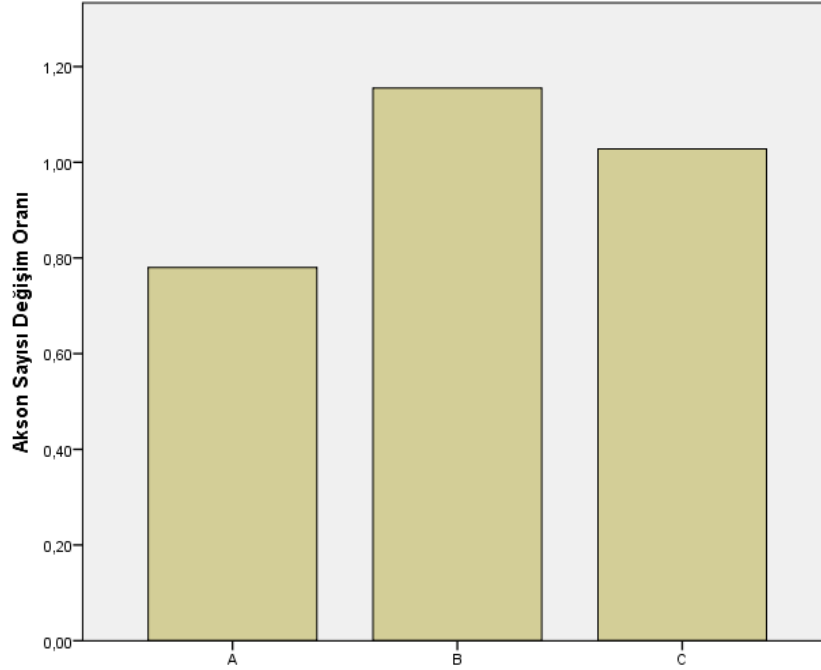
**Grafik 10.** Grupların akson sayısı değişim oranının ortalama değerleri karşılaştırma grafiği

4.4.3. Akson Sayısı Değişim Oranı Bulguları

Grupların akson sayısı değişim oran ortalamaları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark bulundu, ($p<0,005$). A grubu ile B grubu arasında anlamlı düşüklük bulundu. ($p=.034$) yine A grubuyla C grubu arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=.155$). B ve C grupları karşılaştırıldığında gruplar oranları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=.129$). (Tablo 16. Grafik.11.)

Tablo 16. Grupların akson sayısı değişim oran ortalama değerleri

Çalışma Grupları	(Akson Sayısı Değişim Oranı)	Gruplar-arası kıyas		
		A	B	C
A Grubu	0,79 ± 0,11	–	.034	.155
B Grubu	1,15 ± 0,05	.034	–	.129
C Grubu	1,02 ± 0,02	.155	.124	–
Kruskal Wallis Testi p<0,005				



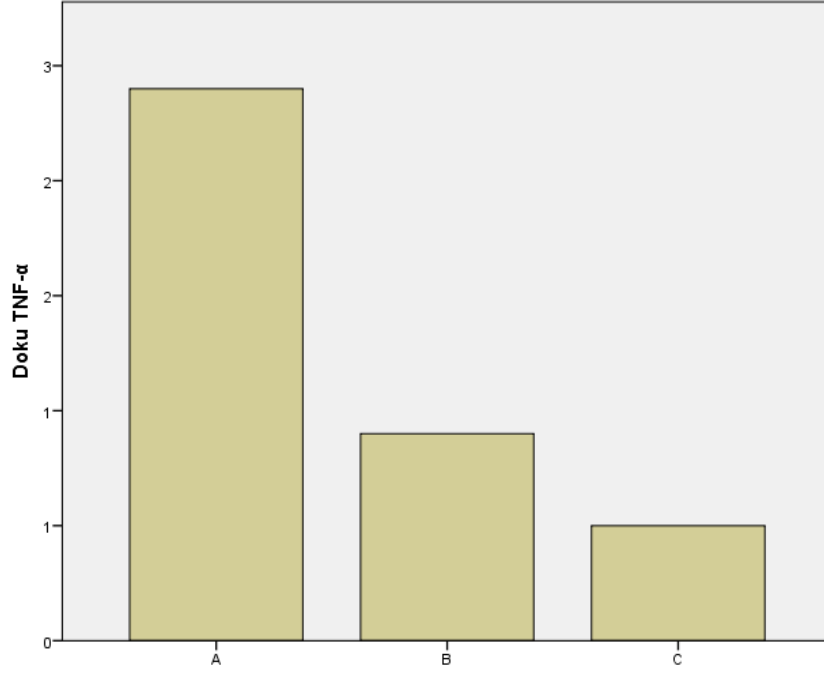
Grafik 11. Grupların akson sayısı değişim oranının ortalama değerleri karşılaştırma grafiği

4.4.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme Bulguları

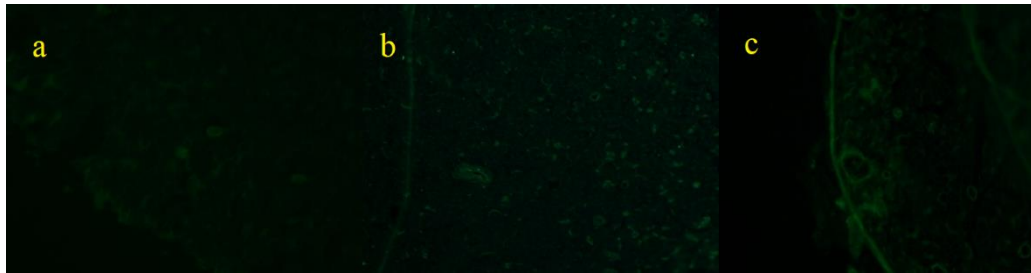
Grupların siyatik sinir örneklerinin TNF- α boyanmasından aldıkları değerler karşılaştırıldı. Gruplar arası anlamlı fark bulundu. ($p<0,005$) B grubu A grubundan anlamlı olarak daha düşük TNF- α değerinde bulundu. ($p<.001$) A grubu ile C grubu arasında anlamlı fark yükseklik bulundu ($p<.001$). B ve C grupları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=,187$). (Tablo 17. Grafik.12.) (Şekil 4.3.)

Tablo 17. Grupların doku TNF-a ortalama değerleri

Çalışma Grupları	(Doku TNF-a)	Gruplar-arası kıyas		
		A	B	C
A Grubu	2,4 ± 0,22	–	<.001	<.001
B Grubu	0,9 ± 0,23	<.001	–	.187
C Grubu	0,5 ± 0,16	<.001	.187	–
Anova p<0,005				



Grafik 12. Grupların doku TNF-a ortalama değerleri karşılaştırma grafiği

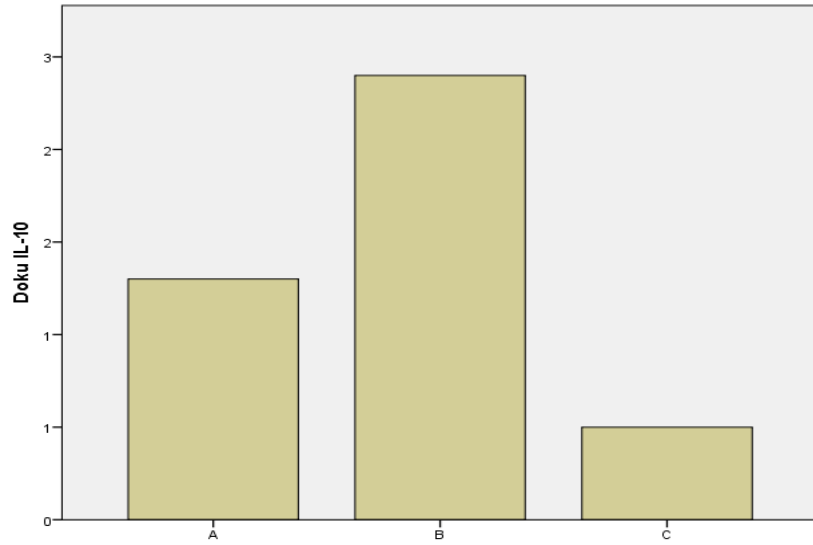


Şekil 4.3 Sıçanların siyatik sinirlerinin TNF-α boyanma görüntüsü

Grupların siyatik sinir örneklerinin IL-10 ile boyanmasından aldıkları değerler karşılaştırıldı. Gruplar arası anlamlı fark bulundu. ($p < 0,005$) B grubu, A grubu($p = ,001$) ve C grubundan($p = ,016$) anlamlı olarak daha yüksek IL-10 değerine sahip olarak bulundu. A grubu ile C grubu arasında anlamlı yükseklik bulundu. ($p < ,001$) (Tablo 18. Grafik 13.) (Şekil 4.4.)

Tablo 18. Grupların doku IL-10 ortalama değerleri

Çalışma Grupları	(Doku IL-10)	Gruplar-arası kıyas		
		A	B	C
A Grubu	$1,3 \pm 0,21$	–	.001	.016
B Grubu	$2,4 \pm 0,22$	.001	–	<.001
C Grubu	$0,5 \pm 0,22$	.016	<.001	–
Anova $p < 0,005$				



Grafik 13. Grupların doku IL-10 ortalama değerleri karşılaştırma grafiği



Şekil 4.4 Sıçanların siyatik sinirlerinin IL-10 boyanma görüntüsü

5. TARTIŞMA

Periferik sinir yaralanmaları günümüzde iş kazası, trafik kazası, spor yaralanmaları toplumsal olaylar gibi birçok nedene bağlı olarak sıklıkla görülmektedir. İnsidansı gelişmiş toplumlarda 100 binde 13-23 olmakla birlikte Avrupa da yılda 300 bine yakın vaka görülmektedir(73). Mekanik, iskemik veya kimyasal nedenler etyolojisinde yer almaktadır(1). Yaralanmaya bağlı olarak duyu motor veya otonom fonksiyonlarda geçici ya da kalıcı fonksiyon kaybına neden olmaktadır. Kişide morbidite oluşturmakta işgücü kaybına neden olmaktadır. Periferik sinir yaralanmaları neden oldukları morbidite nedeniyle sağlık çalışanları için önemli bir iş yükü haline gelmektedir. Aynı zamandan toplum içinde önemli bir sorun teşkil eden periferik sinir yaralanması sonrası daha iyi bir iyileşme sağlayabilmek için bilim insanları sürekli yeni araştırma yapmakta yeni metot ve medikal tedaviler araştırmaktadır.

Sinir yaralanma model araştırmalarında en fazla sıçan siyatik siniri kullanılmaktadır. Literatürde de çok fazla sayıda sıçan siyatik sinir üzerinde yapılan çalışma bulunmaktadır. Bizim çalışmamızda da sıçan siyatik sinir üzerinde çalışılmıştır. Çünkü sıçan siyatik siniri yapı olarak insan siyatik sinirine benzemekte hem de işlem sürecinde uzun olması, kolay diseke edilebilmesi nedeniyle öncelikli tercih nedeni olmaktadır.

Sinir yaralanma modellerinde aksonometzis ya da nörometzis tipi yaralanma tercih edilebilir. Bizim çalışmamızda nörometzis tipi sinir yaralanma modeli oluşturulmasının ardından 9-0 monofilament naylon suturele 4 defa dikiş geçilerek uç uca epinöral onarım yapıldı.

Periferik sinir hasarı sonrası inflamasyon ve oksidatif stres rejenerasyon sürecinde önemli iki faktördür(74, 75). İnflamasyon sinir hasarı sonrası hem hasarlı sinir dokusundaki debrislerin ve metabolik artıkların temizlenmesi hem de etkin bir rejenerasyon süreci için gereklidir, ancak uzun süren ve zamanı geldiğinde baskılanmayan inflamasyon sinir iyileşmesini olumsuz yönde etkilemektedir(76). Hasar sonrası inflamasyonun baskılanması sinir iyileşmesine olumlu etki

etmektedir(77). Hücresel ve hümorale bağışıklığın rol aldığı inflamatuvar süreçte sitokinler sürecin temelini oluşturmaktadır. Özellikle proinflamatuvar TNF- α ve IL-6'ya ek olarak antiinflamatuvar etkinliği olan IL-10 başlıca sitokinlerdir. Oksidatif stres ise periferik yaralanması sinir sonrası hasar patofizyolojisinin önemli etmenlerindendir. Ayrıca sinirin fonksiyonel iyileşmesini de olumsuz yönde etkilemektedir(78, 79). Farklı periferik sinir yaralanması farklı derece oksidatif strese neden olmaktadır(4). Literatürdeki son çalışmalarda sinir yaralanmasını takiben gelişen oksidatif stresin inhibe edilmesi, sinir rejenerasyon sürecini hızlandırdığı, ek olarak fonksiyonel iyileşmeyi artırdığı gösterilmiştir(80). Bu bilgiler ışığında inflamasyonun zamanında baskılanması oksidatif stresin azaltılması sinir rejenerasyonunu artıracak böylece fonksiyonel iyileşmeyi artıracaktır(3).

Aloperin kinolozidin alkoloididir. Geleneksel Çin tıbbından kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Aloperinin sahip olduğu antiviral, antitümöral, antibakteriyel, metastaz önleyici, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler ile çok geniş etki spektrumu vardır. Zhou ve ark yaptığı çalışmada aloperinin IL-10 seviyesini artırdığı gösterilmiştir(81). Ma ve ark. yaptığı çalışmada sıçan hipokampal iskemi reperfüzyon hasarında superoksit dismutaz, glutatyon peroksidazı artırdığı gösterilmiş ve antioksidan etki ve buna istinaden noröprotektif etkisi gösterilmiştir(5). Yuan ve ark yaptığı çalışmada TNF- α ve IL-6'yı azalttığı gösterilmiştir(82). Literatüre baktığımızda aloperinin periferik sinir yaralanması üzerine yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmamızda aloperinin antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri ile periferik sinir yaralanması ve takiben epinöral onarım sonrası rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşme de olası olumlu etkisi araştırdık.

Siyatik sinir rejenerasyon seviyesini ölçmek için birçok fonksiyonel motor test geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları; ayak bilek kinematiği, itme kuvvet oranı (extensor postural test), ayak bileğinin duruş açısı ve yürüyüş analizidir. Yürüyüş analizi siyatik sinir hasarı sonrası fonksiyonel iyileşmede altın standart kabul edilen siyatik fonksiyon indeksi hesaplanmasında kullanılır. Ancak sıçan siyatik sinir hasarı modellerinde çeşitli derecelerde otokanibalizasyon görülmekte, bu da siyatik

fonksiyon indeksin yanlış hesaplanasına ya da hesaplanamamasına neden olmaktadır. Ancak itme kuvvet indeksi siyatik fonksiyonel iyileşmesini ölçmede kantitatif ölçüm sağlar. Kolay uygulanabilirliği sayesinde tekrar ölçüm yapmaya izin vererek hatayı en aza indirir.

Çalışmamızda itme kuvvet oranı karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark mevcuttu ($p<0.005$). Yapılan formülasyona göre oran ne kadar düşük olursa iyileşme de o kadar iyi olarak değerlendirilmekte. Kontrol grubu olan C grubu, onarım yapılan ve Aloperin uygulanan B ($p<0.001$) ve sadece onarım yapılan A ($p<0.001$) grubundan anlamlı olarak düşük oranda bulunmuştur. B grubu, A ($p<0.001$) grubundan istatistiksel olarak anlamlı olarak daha düşük orana sahiptir. Bu bulgular Aloperin ile sinir rejenerasyonunun hızlandığına işaret etmektedir.

Pinprick testi duyuşal fonksiyon değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan bir testtir. Test, kolay uygulanabilirliği ve tekrarlanabilirliği nedeniyle tercih edilmiştir. Pinprick testinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.005$). C kontrol grubuyla A ($p<0.001$) onarım grubunda istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur. Aloperin uygulanan B ile A ($p=.003$) grubu arasında istatistiksel anlamlı yükseklik bulunmuştur. Ancak B ve C ($p=.424$) grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Bu verilerden yola çıkarak Aloperin sinir iyileşmesinde duyu fonksiyonunda olumlu etkiye sahiptir.

Sıcak zemin testi ile sıçanların ısı duyusundaki fonksiyonel iyileşme test edildi. Sıcak zeminden ayak çekme süreleri değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark bulundu ($p<0.005$). A ile B ($p=.012$) grubu arasında anlamlı fark bulundu. C kontrol grubuyla A ($p=.006$) ve B ($p<0.001$) grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur. B grubunun A grubundan daha kısa sürede ayak çekmesi, ısı duyusunun iyileşmesinin daha iyi ve Aloperinin etkili olduğunu göstermektedir.

Sinir yaralanması sonrası yaralanan sinir tarafından uyarılan kasta atrofi meydana gelir, sinir iyileşmesiyle beraber kas uyarılmaya başlar ve kasta hipertrofi başlar(72). Bunu ölçmek için gastroknemius kas ağırlık oranını değerlendirdik ve gruplar arasında anlamlı farklılık bulduk ($p<0.005$). C grubu B ($p<0.001$) ve A

($p<.001$) grubundan anlamlı olarak daha yüksek kas ağırlık oranına sahipti. Aloperin uygulanan ve onarım yapılan B grubu, sadece onarım yapılan A ($p=.003$) grubundan istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek kas ağırlık oranına sahipti. Aloperin, sinir rejenerasyon sürecini hızlandırarak kasta reinervasyonu daha erken başlatmış ve kas hipertrofisini artırmıştır.

Grupların serum TNF- α değerlerini karşılaştırdığımızda, istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu bulduk ($p<0,005$). Sadece epinöral onarım yapılan A grubuyla, onarım yapıp aloperin uygulanan B ($p=.032$) grubu ve kontrol C ($p=.001$) grubu arasında anlamlı yükseklik bulduk. B ve C ($p=.118$) grubu arasında anlamlı fark bulunmadı. Aloperin uygulanan grupta TNF- α serum seviyesinin düşük olması antiinflamatuvar etkinliği göstermektedir. Yuan ve ark. kontak dermatit üzerine yaptığı çalışmada Aloperinin TNF- α düzeyini azalttığı bulunmuştur(65).

Sinir yaralanması sonrası inflamasyon sürecinde TNF- α kilit role sahiptir. Temporin ve ark yaptığı çalışmada periferik sinir yaralanmasını takiben TNF- α 'nın kanda hızlı bir şekilde yükseldiği bulunmuştur(83). Kato ve ark. yaptığı çalışmada TNF- α 'nın akson büyümesi üzerine olumsuz etkisi gösterilmiştir(47). Başka bir çalışmada ise TNF- α 'nın periferik sinir yaralanması sonrası fonksiyonel iyileşmeyi azalttığı bulunmuştur(84).

Grupların serum IL-6 seviyeleri karşılaştırıldı ve anlamlı fark bulundu ($p<.0,005$). C grubuyla B ($p=.092$) grubu arasında anlamlı fark bulunamadı. B ($P=.038$) ve C ($p=.001$) grupları, A grubundan anlamlı olarak daha düşük IL-6 seviyesine sahip olduğu bulundu. Aloperin IL-6'yı azaltarak antiinflamatuvar etki etmiştir. Fan ve ark. yaptıkları çalışmada Aloperinin IL-6 seviyesini düşürdüğünü bulmuşlardır(85). Sinir yaralanmasından sonra IL-6 inflamasyon sürecinde hızla yükselir(86). Sukiandra ve ark. IL-6 reseptör antagonistinin ratlara verilerek yapılan çalışmasında sinir iyileşmesini artırdığını bulmuşlar(87). Arruda ve ark yaptığı çalışmada, sinir hasarı sonrası IL-6 'nın sinir iyileşmesini olumsuz etkileyerek nöropatik ağrıya neden olduğu gösterilmiştir(88).

Grupların serum IL-10 seviyeleri karşılaştırıldı ve anlamlı fark bulundu ($p<0.005$). B grubunda C($p<0.001$) grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek serum IL-10 seviyesi bulundu. B ($p<0.001$) ve C ($p<0.001$) grupları, A grubundan anlamlı olarak daha yüksek serum IL-10 seviyesine sahip olarak bulundu. IL-10 seviyesinin, Aloperin verilen B grubunda iki gruptan daha yüksek çıkması antiinflamatuvar etkiyi göstermektedir. Yuan ve ark. yaptıkları çalışmada Aloperinin atopik dermatitte IL-10 düzeyini artırdığını bulunmuştur.(65). Mietto ve ark. yaptığı çalışmada IL-10'nun sinir rejenerasyonunu artırdığını gösterilmiştir. (76)

Çalışmamızda Aloperinin antioksidan etkinliğini değerlendirmek için serumda TAS ve TOS ölçümü yaptık. Oksidatif stresi ölçmek ve değerlendirmek için pek çok molekül mevcuttu; ancak otomatik ve ucuz bir yöntemle güvenilir, hassas sonuçlar elde etmemize izin verdiği için TAS ve TOS ölçümü yaptık. Gruplar arasında serum TAS ve TOS değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulundu ($p<0.005$). Epinöral onarım yapılan A grubunda TAS seviyesi düşük, TOS seviyesi yüksek olarak bulunurken epinöral onarım yapılan ve Aloperin uygulanan B grubuyla kontrol C grubu TAS ve TOS seviyeleri bakımından anlamlı olarak farklı bulunamadı. Zhao ve ark yaptığı çalışmada in vitro nöral çalışmada antioksidan etkinliği gösterilmiştir(89). Song ve ark subaraknoid kanama sonrası oluşan hasara, Aloperinin antioksidan etkiyle iyileştirmeye yardımcı olacağı gösterildi(90). Çıkan değerler literatür ile uyumluydu. Aloperinin sinir hasarı sonrası antioksidan etki göstereceği hipotezimizi doğruladı.

Periferik sinir hasarı sonrası metabolik ve morfolojik değişiklikler meydana gelir. Bu sürece Wallerian dejenerasyon adı verilir. Wallerian dejenerasyonda hasarlanan bölgesinin proksimalinde rejenerasyon ünitesi denilen akson tomurcukları oluşur, bunun uç kısmına büyüme konisi denir. Bu koninin ucunda filapoid çıkıntılar vardır. Bu çıkıntılar distaldeki schwann hücre kolonilere tutunur(20, 32, 33). Böylece proksimalde akson filizleri distale geçer. Bu rejenerasyon başarısında distale geçen akson sayısı önemlidir(91). Eğer akson filizleri distale taşınamazsa fonksiyonel iyileşmeden bahsedilemez. Bu fizyolojik sürece ek olarak periferik sinir hasarı sonrası iyileşmenin gerçekleşebilmesi için ilk olarak sinirin cerrahiyle devamlılığını

sağlamak gerekir. Aksi halde akson sinirin devamlılığı sağlanamadığı için distale geçemez. Biz de bu çalışmamızda sinir örneklerinde distaldeki akson sayısını proksimaldeki akson sayısına oranladık. Gruplar arası karşılaştırmalarda epinöral onarım yapıp Aloperin uygulanan B grubu, sadece epinöral onarım yapılan A ve C kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek orana sahipti. B grubunda distale geçen akson sayısının fazla olması hipotezimizi destekler niteliktedir. Aloperin oksidatif stresi azaltması ve inflamasyonu baskılamasıyla akson oluşumunu ve aksonların distale geçişini artırmıştır.

Aloperinin rejenerasyonu etkisini araştırmak için akson çapını da değerlendirdik. Her sinir örneğinde distal ve proksimalde bulunan akson çap ortalamalarını oranladık. İstatistiksel olarak karşılaştırdığımızda B grubunun anlamlı olarak A grubundan daha yüksek akson çapı ortalama değerine sahip olduğunu bulduk. Bu sonuç aloperinin akson sayısını artırdığı gibi akson hacmini de artırdığını gösterdi ve hipotezimizi destekledi.

Periferik sinir yaralanması sonrası inflamatuvar süreç başlar ve bu süreçte sitokinler aracılı haberleşme sağlanır. Biz de çalışmamızda sıçanların sinir dokusunda TNF- α ve IL-10 seviyelerini değerlendirdik. Proinflamatuvar bir sitokin olan TNF- α , bu süreçte önemlidir. Çalışmamızda B grubunun TNF- α miktarını, A grubundan anlamlı olarak düşük bulduk. B grubuyla C grubu arasında anlamlı fark bulunmazken, A grubunun TNF- α miktarı C grubundan anlamlı olarak yüksek çıktı. Yuan ve ark yaptıkları çalışmada, Aloperinin kanda TNF- α seviyesine düşürdüğünü gösterdi(65). Biz de çalışmamızda Aloperinin periferik sinir dokusunda da TNF- α seviyesini azalttığını gördük ve hipotezimizi doğruladık.

Çalışmamızda deneklerin periferik sinir örneklerinde IL-10 düzeyini karşılaştırdık. C grubunu, A ve B grubundan anlamlı olarak daha düşük IL-10'na değerine sahip olarak bulduk. B grubu, A grubundan anlamlı olarak daha yüksek IL-10 boyanmasına sahip olarak bulduk. IL-10 antiinflamatuvar etkinliği olan bir sitokindir. Sakalidou ve ark yaptıkları çalışmada IL-10'nun periferik sinir hasarı sonrası rejenerasyonu artırdığı gösterilmiştir(51). Mietto ve ark yaptıkları çalışmada da periferik sinir yaralanması sonrası IL-10'nun rolünü değerlenmiş ve IL-10'nun

inflamasyonu baskılayıp rejenerasyonu artırdığını göstermişlerdir(76). Yuan ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada Aloperinin IL-10'nu artırdığını gösterdi. Bizim çalışmamızda da Aloperinin sinir dokusunda IL-10'nu artırdığını bulduk, bu da bizim Aloperinin doku düzeyinde antiinflamatuvar etki edebileceği hipotezimizi doğrulamış oldu.

Yapılan tüm analizlerden elde edilen veriler doğrultusunda Aloperinin periferik sinir yaralanması sonrası kanda TAS, TOS, TNF- α ve IL-6'yı azaltıp, IL-10'u artırarak antiinflamatuvar ve antioksidan etkinliği ilk defa gösterildi. Aloperinin periferik sinir yaralanmasında antioksidan ve antiinflamatuvar etkisini, yaralanan sinir dokusunda TNF- α 'yı azaltıp, IL-10'nu artırdığını immünohistokimya boyanmayla ilk kez gösterdik. Aloperin antioksidan ve antiinflamatuvar etki göstererek fonksiyonel olarak itme kuvvetini artırdığı, gastrocnemius kas hacmini artırdığı, yapılan sıcak zemin testi ve pinprick testleriyle ısı ve ağrı duyusunda iyileşmeyi artırdığı tespit edildi. Histolojik olarak da wallerian dejenerasyonu, inflamasyonu azalttığını, damarlanmayı, akson sayısını artırdığını ve aksonal yapıyı koruduğunu tespit ettik.

Çalışmamızda bazı kısıtlılıklar bulunmaktadır. İnsanlarda periferik sinir yaralanması sonrası rejenerasyon hızı günde 1 mm olarak tahmin edilmekte ve kabul edilmektedir(28). Sıçanlarda ise bu rejenerasyon hızı günde 2 ila 3 mm, hatta daha fazla olarak tahmin edilmektedir(35). Altı haftalık takip süresi, sıçan siyatik siniri ile hedef organ arasındaki mesafenin birkaç milimetre olarak değerlendirildiğinde iyileşme için yeterli görülebilmekte. Ancak rejenerasyon sürecinin daha uzun sürmesi ve fonksiyonel iyileşmesinin daha uzun süre alması takip süresi açısından kısıtlılık oluşturmaktadır. Çalışmada sıçanlardan çıkarılan siyatik sinir örnekleri histolojik ve immünohistokimya için ayrılınca dokuda TAS ve TOS ölçümü yapmak için ayrılan numunelerden değerlendirme yapılamadı. Doku düzeyinde IL-6 ölçümü teknik aksaklıklardan dolayı yapılamadı. Çalışmada elektrofizyolojik inceleme yapılmadı. Her ne kadar elektrofizyolojik sonuçlar fonksiyonel sonuçlar ile korelasyon göstermediğine dair düşünceler olsa da(92) çalışmayı daha aydınlatıcı yapabilme ihtimali de vardır.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada sıçanlarda nörometzis tipi yaralanma modeli oluşturuldu. Uç uca epinöral onarım yapıldı. Bir gruba intraperitoneal yolla tek doz aloperin uygulandı. Biyokimyasal ve immünohistokimyasal testlerde aloperinin antioksidan ve antiinflamatuvar etkisi gösterdik. Bu etkiler ile periferik sinir rejenerasyon sürecinde inflamasyonu azalttığı, akson sayısını ve çapını artırdığı, reinervasyon ile kas hacim kaybını azalttığı ve fonksiyonel iyileşmeyi artırdığı gösterildi.

Bu çalışmada elde edilen veriler ışığında nörometzis tipi sinir yaralanmasında, sistemik uygulana Aloperinin; antioksidan ve antiinflamatuvar etkiyle sinir rejenerasyonunu olumlu etkilediğini, rejenerasyonu hızlandırdığını ve fonksiyonel iyileşmeyi de yükselttiğini literatürde ilk defa gösterdik. Bu çalışmada Aloperinin periferik sinir üzerindeki etkisini araştıran ilk çalışma olması nedeniyle gelecekte yapılacak çalışmalar için fikir verici olacağı düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- 1.Brull R, Hadzic A, Reina MA, Barrington MJRA, Medicine P. Pathophysiology and etiology of nerve injury following peripheral nerve blockade. 2015;40(5):479-90.
- 2.Zhang P, Xue F, Zhao F, Lu H, Zhang H, Jiang B. The immunohistological observation of proliferation rule of Schwann cell after sciatic nerve injury in rats. Artificial cells, blood substitutes, and immobilization biotechnology. 2008;36(2):150-5.
3. Dubový P, Jančálek R, Kubek TJIron. Role of inflammation and cytokines in peripheral nerve regeneration. 2013;108:173-206.
- 4.Wang H, Ding XG, Li SW, Zheng H, Zheng XM, Navin S, et al. Role of oxidative stress in surgical cavernous nerve injury in a rat model. 2015;93(6):922-9.
- 5.Ma NT, Zhou R, Chang RY, Hao YJ, Ma L, Jin SJ, et al. Protective effects of aloperine on neonatal rat primary cultured hippocampal neurons injured by oxygen-glucose deprivation and reperfusion. Journal of natural medicines. 2015;69(4):575-83.
- 6.Zhou H, Li J, Sun F, Wang F, Li M, Dong Y, et al. A Review on Recent Advances in Aloperine Research: Pharmacological Activities and Underlying Biological Mechanisms. Frontiers in pharmacology. 2020;11:538137.
- 7.Sunderland S, Sunderland S. Nerve Injuries and Their Repair: A Critical Appraisal: Churchill Livingstone; 1991.
- 8.Oudega M, Xu XM. Schwann cell transplantation for repair of the adult spinal cord. Journal of neurotrauma. 2006;23(3-4):453-67.
- 9.Waller A. Experiments on the Section of the Glosso-Pharyngeal and Hypoglossal Nerves of the Frog, and Observations of the Alterations Produced Thereby in the Structure of Their Primitive Fibres. Edinburgh medical and surgical journal. 1851;76(189):369-76.
- 10.Smith JW. MICROSURGERY OF PERIPHERAL NERVES. Plastic and reconstructive surgery. 1964;33:317-29.
- 11.Kurze T. Microtechniques in neurological surgery. Clinical neurosurgery. 1964;11:128-37.
- 12.Johnson EO, Zoubos AB, Soucacos PNJI. Regeneration and repair of peripheral nerves. 2005;36(4):S24-S9.
- 13.Jessen KR, Mirsky RJNRN. The origin and development of glial cells in peripheral nerves. 2005;6(9):671-82.
- 14.Rea P. Essential clinically applied anatomy of the peripheral nervous system in the limbs: Academic Press; 2015.
- 15.Pereira JA, Lebrun-Julien F, Suter UJTin. Molecular mechanisms regulating myelination in the peripheral nervous system. 2012;35(2):123-34.

16. Garbay B, Heape A, Sargueil F, Cassagne CJP. Myelin synthesis in the peripheral nervous system. 2000;61(3):267-304.
17. Ikeda M, Oka YJB, behavior. The relationship between nerve conduction velocity and fiber morphology during peripheral nerve regeneration. 2012;2(4):382-90.
18. Mizisin AP, Weerasuriya AJAn. Homeostatic regulation of the endoneurial microenvironment during development, aging and in response to trauma, disease and toxic insult. 2011;121:291-312.
19. Weerasuriya A, Mizisin APJTBB, Reviews ONB, Protocols. The blood-nerve barrier: structure and functional significance. 2011:149-73.
20. Maggi SP, Lowe JB, Mackinnon SEJCips. Pathophysiology of nerve injury. 2003;30(2):109-26.
21. Sunderland SJE, UK: Churchill Livingstone. Nerves and Nerve Injury. 2nd. 1978:672-7.
22. Rigoard P, Buffenoir K, Wager M, Bauché S, Giot J-P, Robert R, et al. Organisation anatomique et physiologique du nerf périphérique. 2009;55:S3-S12.
23. Seddighi A, Nikouei A, Saied Seddighi A, Reza Zali A, Mahmood Tabatabaei S, Reza Sheykhi A, et al. Peripheral nerve injury: a review article. 2016;3(1):1-6.
24. Menorca RM, Fussell TS, Elfar JCJHc. Peripheral nerve trauma: mechanisms of injury and recovery. 2013;29(3):317.
25. Lundborg GJJ. Structure and function of the intraneural microvessels as related to trauma, edema formation, and nerve function. 1975;57(7):938-48.
26. Caillaud M, Richard L, Vallat J-M, Desmoulière A, Billet F. Peripheral nerve regeneration and intraneural revascularization. 2019;14(1):24-33.
27. Zochodne DWJJotPNS. The challenges and beauty of peripheral nerve regrowth. 2012;17(1):1-18.
28. Burnett MG, Zager ELJNf. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. 2004;16(5):1-7.
29. Seddon HJB. Three types of nerve injury. 1943;66(4):237-88.
30. Sunderland SSJM, Medicine NOJotAAoE. The anatomy and physiology of nerve injury. 1990;13(9):771-84.
31. Lee SK, Wolfe SWJJ-JotAAoOS. Peripheral nerve injury and repair. 2000;8(4):243-52.
32. Huebner EA, Strittmatter SMJCbota. Axon regeneration in the peripheral and central nervous systems. 2009:305-60.
33. Chiu DT, Smahel J, Chen L, Meyer V. Neurotropism revisited. Neurological research. 2004;26(4):381-7.
34. Faroni A, Mobasser SA, Kingham PJ, Reid AJJAddr. Peripheral nerve regeneration: experimental strategies and future perspectives. 2015;82:160-7.
35. Lundborg GJAOS. Nerve regeneration and repair: a review. 1987;58(2):145-69.

- 36.Elizabeth O, Aristides B, Panayotis NJI. Regeneration and repair of peripheral nerves. 2005;365(524):e9.
- 37.Sanders F, Young JJJoEB. The influence of peripheral connexion on the diameter of regenerating nerve fibres. 1946;22(3-4):203-12.
- 38.Gaudet AD, Popovich PG, Ramer MSJJon. Wallerian degeneration: gaining perspective on inflammatory events after peripheral nerve injury. 2011;8(1):1-13.
- 39.Raivich G, Makwana MJBrr. The making of successful axonal regeneration: genes, molecules and signal transduction pathways. 2007;53(2):287-311.
- 40.Webber C, Zochodne DJEn. The nerve regenerative microenvironment: early behavior and partnership of axons and Schwann cells. 2010;223(1):51-9.
- 41.Brunn GJ, Bungum MK, Johnson GB, Platt JLTfj. Conditional signaling by Toll-like receptor 4. 2005;19(7):1-16.
- 42.Fex Svennigsen Å, Dahlin LJBs. Repair of the peripheral nerve—remyelination that works. 2013;3(3):1182-97.
- 43.Raggi F, Pelassa S, Pierobon D, Penco F, Gattorno M, Novelli F, et al. Regulation of human macrophage M1–M2 polarization balance by hypoxia and the triggering receptor expressed on myeloid cells-1. 2017;8:1097.
- 44.Stratton JA, Shah PTJNRR. Macrophage polarization in nerve injury: do Schwann cells play a role? 2016;11(1):53.
- 45.Austin PJ, Moalem-Taylor GJJon. The neuro-immune balance in neuropathic pain: involvement of inflammatory immune cells, immune-like glial cells and cytokines. 2010;229(1-2):26-50.
- 46.Myers RR, Campana WM, Shubayev VIJDdt. The role of neuroinflammation in neuropathic pain: mechanisms and therapeutic targets. 2006;11(1-2):8-20.
47. Kato K, Liu H, Kikuchi Si, Myers RR, Shubayev VIJJonr. Immediate anti-tumor necrosis factor- α (etanercept) therapy enhances axonal regeneration after sciatic nerve crush. 2010;88(2):360-8.
- 48.Bolin LM, Verity AN, Silver JE, Shooter EM, Abrams JSJJon. Interleukin-6 production by Schwann cells and induction in sciatic nerve injury. 1995;64(2):850-8.
- 49.Xu X-J, Hao J-X, Andell-Jonsson S, Poli V, Bartfai T, Wiesenfeld-Hallin ZJC. Nociceptive responses in interleukin-6-deficient mice to peripheral inflammation and peripheral nerve section. 1997;9(12):1028-33.
- 50.Fregnan F, Muratori L, Simões AR, Giacobini-Robecchi MG, Raimondo S. Role of inflammatory cytokines in peripheral nerve injury. Neural regeneration research. 2012;7(29):2259-66.
- 51.Sakalidou M, Leibig N, Boyle V, Koulaxouzidis G, Penna VJJotPNS. Interleukin-10 and regeneration in an end-to-side nerve repair model of the rat. 2011;16(4):334-40.
- 52.Rodríguez-Muela N, Boya PJA. Axonal damage, autophagy and neuronal survival.

2012;8(2):286-8.

53.Wang L, Yuan D, Zhang D, Zhang W, Liu C, Cheng H, et al. Ginsenoside Re promotes nerve regeneration by facilitating the proliferation, differentiation and migration of Schwann cells via the ERK-and JNK-dependent pathway in rat model of sciatic nerve crush injury. 2015;35:827-40.

54.Jiang X, Ma J, Wei Q, Feng X, Qiao L, Liu L, et al. Effect of frankincense extract on nerve recovery in the rat sciatic nerve damage model. 2016;2016.

55.Gordon TJJocd. The physiology of neural injury and regeneration: The role of neurotrophic factors. 2010;43(4):265-73.

56.Tos P, Ronchi G, Papalia I, Sallen V, Legagneux J, Geuna S, et al. Methods and protocols in peripheral nerve regeneration experimental research: Part I—Experimental models. 2009;87:47-79.

57.Geuna SJJonm. The sciatic nerve injury model in pre-clinical research. 2015;243:39-46.

58.Shakhsbazou A, Mohanty C, Kumar R, Midha RJJon. Sensory recovery after cell therapy in peripheral nerve repair: effects of naive and skin precursor-derived Schwann cells. 2014;121(2):423-31.

59.Waldrum M. Peripheral nerve injuries. Trauma. 2003;5(2):79-96.

60.Birch R. Surgical disorders of the peripheral nerves: Springer Science & Business Media; 2011.

61.MATSUYAMA T, MACKAY M, MIDHA RJNm-c. Peripheral nerve repair and grafting techniques: a review. 2000;40(4):187-99.

62.Mackinnon SEJAops. New directions in peripheral nerve surgery. 1989;22(3):257-73.

63.Nishimura MT, Mazzer N, Barbieri CH, Moro CAJJorm. Mechanical resistance of peripheral nerve repair with biological glue and with conventional suture at different postoperative times. 2008;24(05):327-32.

64.Wang H, Yang S, Zhou H, Sun M, Du L, Wei M, et al. Aloperine executes antitumor effects against multiple myeloma through dual apoptotic mechanisms. 2015;8:1-13.

65.Yuan X-Y, Ma H-M, Li R-Z, Wang R-Y, Liu W, Guo J-YJEjop. Topical application of aloperine improves 2, 4-dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. 2011;658(2-3):263-9.

66. Xu Y-Q, Jin S-J, Liu N, Li Y-X, Zheng J, Ma L, et al. Aloperine attenuated neuropathic pain induced by chronic constriction injury via anti-oxidation activity and suppression of the nuclear factor kappa B pathway. 2014;451(4):568-73.

67.Yin W, Han J, Zhang Z, Han Z, Wang SJSr. Aloperine protects mice against bleomycin-induced pulmonary fibrosis by attenuating fibroblast proliferation and differentiation. 2018;8(1):6265.

68.Ling Z, Guan H, You Z, Wang C, Hu L, Zhang L, et al. Aloperine executes antitumor effects through the induction of apoptosis and cell cycle arrest in prostate cancer in vitro and

in vivo. 2018;2735-43.

69.Siemionow M, Duggan W, Brzezicki G, Klimczak A, Grykien C, Gatherwright J, et al. Peripheral nerve defect repair with epineural tubes supported with bone marrow stromal cells: a preliminary report. 2011;67(1):73-84.

70.Devor M, Schonfeld D, Seltzer Z, Wall PJJoCN. Two modes of cutaneous reinnervation following peripheral nerve injury. 1979;185(1):211-20.

71.Koka R, Hadlock TAJEn. Quantification of functional recovery following rat sciatic nerve transection. 2001;168(1):192-5.

72.Evans G, Brandt K, Widmer M, Lu L, Meszlenyi R, Gupta P, et al. In vivo evaluation of poly (L-lactic acid) porous conduits for peripheral nerve regeneration. 1999;20(12):1109-15.

73.Ehmedah A, Nedeljkovic P, Dacic S, Repac J, Draskovic Pavlovic B, Vucevic D, et al. Vitamin B complex treatment attenuates local inflammation after peripheral nerve injury. 2019;24(24):4615.

74.McLachlan EM, Hu PJAN. Inflammation in dorsal root ganglia after peripheral nerve injury: effects of the sympathetic innervation. 2014;182:108-17.

75.Xiang Q, Yu C, Zhu Y-F, Li C-Y, Tian R-B, Li X-HJI. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 antibody attenuates thermal hyperalgesia in the dorsal root ganglion: Neurochemical changes and behavioral studies after sciatic nerve-pinch injury. 2016;47(8):1647-54.

76. Mietto BS, Kroner A, Girolami EI, Santos-Nogueira E, Zhang J, David SJJoN. Role of IL-10 in resolution of inflammation and functional recovery after peripheral nerve injury. 2015;35(50):16431-42.

77.Ydens E, Demon D, Lornet G, De Winter V, Timmerman V, Lamkanfi M, et al. Nlrp6 promotes recovery after peripheral nerve injury independently of inflammasomes. 2015;12:1-14.

78.Lanza C, Raimondo S, Vergani L, Catena N, S  n  s F, Tos P, et al. Expression of antioxidant molecules after peripheral nerve injury and regeneration. 2012;90(4):842-8.

79.Zhang L, Johnson D, Johnson JAJNod. Deletion of Nrf2 impairs functional recovery, reduces clearance of myelin debris and decreases axonal remyelination after peripheral nerve injury. 2013;54:329-38.

80.Renno WM, Benov L, Khan KMJJoNS. Possible role of antioxidative capacity of (  )-epigallocatechin-3-gallate treatment in morphological and neurobehavioral recovery after sciatic nerve crush injury. 2017;27(5):593-613.

81.Zhou Y, Wang H, Liang L, Zhao W-C, Chen Y, Deng H-ZJTAJoCm. Total alkaloids of *Sophora alopecuroides* increases the expression of CD4⁺ CD25⁺ Tregs and IL-10 in rats with experimental colitis. 2010;38(02):265-77.

82.Yuan X-Y, Liu W, Zhang P, Wang R-Y, Guo J-YJEjop. Effects and mechanisms of aloperine on 2, 4-dinitrofluorobenzene-induced allergic contact dermatitis in BALB/c mice. 2010;629(1-3):147-52.

83. Temporin K, Tanaka H, Kuroda Y, Okada K, Yachi K, Moritomo H, et al. IL-1 β promotes neurite outgrowth by deactivating RhoA via p38 MAPK pathway. 2008;365(2):375-80.
84. Kroner A, Greenhalgh AD, Zarruk JG, Dos Santos RP, Gaestel M, David SJN. TNF and increased intracellular iron alter macrophage polarization to a detrimental M1 phenotype in the injured spinal cord. 2014;83(5):1098-116.
85. Fan L, Yanchun S, Honglan H, Zhongqiu L, Shaolun ZJBYDX. Effect of alopentine on the immune cells in mice. 1997;23(6):603-5.
86. Hirota H, Kiyama H, Kishimoto T, Taga TJJJoem. Accelerated Nerve Regeneration in Mice by upregulated expression of interleukin (IL) 6 and IL-6 receptor after trauma. 1996;183(6):2627-34.
87. Sukiandra R, Yerizel E, Syafrita Y, Darwin E. Relationship of Anti-interleukin-6 Receptor Antibody to Interleukin-6 Level and Inducible Nitrite Oxide Levels in Peripheral Nerve Injury in Chronic Constriction Injury-Induced Rats: A Case-Control Study in Indonesia. Open Access Maced J Med Sci. 2022 Jan 01; 10 (A): 1-5. 2022.
88. Arruda JL, Colburn RW, Rickman AJ, Rutkowski MD, DeLeo JAJMBR. Increase of interleukin-6 mRNA in the spinal cord following peripheral nerve injury in the rat: potential role of IL-6 in neuropathic pain. 1998;62(2):228-35.
89. Zhao J, Zhang G, Li M, Luo Q, Leng Y, Liu XJB, et al. Neuro-protective effects of alopentine in an Alzheimer's disease cellular model. 2018;108:137-43.
90. Song S, Chen Y, Han F, Dong M, Xiang X, Sui J, et al. Alopentine activates the Nrf2-ARE pathway when ameliorating early brain injury in a subarachnoid hemorrhage model. 2018;15(4):3847-55.
91. Geuna S, Raimondo S, Ronchi G, Di Scipio F, Tos P, Czaja K, et al. Histology of the peripheral nerve and changes occurring during nerve regeneration. 2009;87:27-46.
92. Munro CA, Szalai JP, Mackinnon SE, Midha RJM, Medicine NOJotAAoE. Lack of association between outcome measures of nerve regeneration. 1998;21(8):1095-7.

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

Deneyisel Siyatik Sinir Hasarı Modelinde Aloperine'nin Anti-Enflamatuvar Ve Anti-Oksidan Özelliklerinin İyileşme Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

“Mehmet Ertanır”

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ / Konya, 2023

Amaç: Periferik sinirler mekanik, iskemik, kimyasal nedenlere bağlı olarak yaralanmaktadır. Periferik sinir yaralanması sonrası kişide fonksiyonel bozukluklara yol açar ve yaşam kalitesini düşürür. Sinir kopma nörometizis tipi yaralanmalar da cerrahi onarım gerekir. Onarım sonrası rejenerasyonu sürecinde inflamasyon ve oksidatif stres olumsuz etki eder. Biz de buradan yola çıkarak antioksidan ve antiinflatuvar etkinliği gösterilmiş aloperinin periferik sinir rejenerasyonu üzerine olası olumlu etkisini inceledik. İnceleme için fonksiyonel biyokimyasal ve histolojik değerlendirmeler kullandık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 30 adet Wistar- albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. 3 grubu ayrıldı ilk grubun siyatik sinirlerinde nörometizis tipi yaralanma oluşturuldu ardından uç uca epinöral koaptasyon yapıldı. İkinci grupta aynı şekilde nörometizis tipi yaralanma oluşturuldu uç uca epinöral koaptasyon yapıldı ve tek doz intraperitoneal 100mg/kg dozuyla Aloperin uygulandı. Üçüncü gruba cerrahi işlem yapılmadı. Sıçanlar altı hafta takip edildi. Altı haftanın sonunda fonksiyonel değerlendirme için itme kuvvet testi, pinprick testi ve sıcak zeminden ayak çekme testi uygulandı takiben sakrifikasyon yapıldı. İntrakardiyak kan alındı kan örneklerinden IL-6, IL-10, TNF- α , TAS ve TOS değerlerinin ölçümleri yapıldı. Siyatik sinirleri çıkarıldı ve histolojik incelenmesi yapıldı, akson sayısı çapı, wallerian dejenerasyon değerlendirildi. Siyatik sinir dokusunda IL-10 ve TNF- α ölçümleri yapıldı. Her iki taraf gastroknemius kaslar çıkarıldı. Gastroknemius kas ağırlık ölçümleri yapılarak kas ağırlık oranı hesaplandı.

Bulgular: Aloperin uygulanan grupta fonksiyonel olarak kas hacmi oranı ve pinprick skoru sadece onarım yapılan gruptan daha yüksek bulundu. Sıcak zeminden ayak çekme süresi daha kısa bulundu. İtme kuvvet oranı yapılan formülasyona göre düşük çıktıkça daha fazla iyileşme olduğunu göstermekte Aloperin uygulanan grupta itme kuvvet oranı daha düşük olarak bulundu. Aloperin uygulanan grubun kanında sinir dokusunda IL-10 yüksek TNF- α düşük olarak saptandı. Yine bu grubunun kanında IL-6 miktarı daha düşük olarak ölçüldü. Histolojik incelemede aloperin uygulana grupta akson sayısı ve çapının arttığı wallerian dejenerasyonun azaldığı görüldü.

Sonuç Bu çalışmada elde edilen veriler ışığında nörometizis tipi sinir yaralanmasında, sistemik uygulana Aloperinin; antioksidan ve antiinflatuvar etkiyle sinir rejenerasyonunu olumlu etkilediğini, rejenerasyonu hızlandırdığını ve fonksiyonel iyileşmeyi de yükselttiğini literatürde ilk defa gösterdik. Bu çalışmada Aloperinin periferik sinir üzerindeki etkisini araştıran ilk çalışma olması nedeniyle gelecekte yapılacak çalışmalar için fikir verici olacağı düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Aloperin, periferik sinir iyileşmesi, antioksidan, antiinflatuvar

SUMMARY

Evaluation of the Effect of Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Properties of Aloperine on Healing in an Experimental Model of Sciatic Nerve Injury

Aim: Peripheral nerves are injured due to mechanical, ischemic and chemical causes. After peripheral nerve injury, it causes functional disorders and reduces the quality of life. Nerve rupture neurometosis type injuries also require surgical repair. Inflammation and oxidative stress affect the regeneration process after repair negatively, so we examined the possible positive effect of aloperine, which has shown antioxidant and anti-inflammatory activity, on peripheral nerve regeneration. We used functional biochemical and histological evaluations for the review.

Material and Method: In our study, 30 male Wistar-albino rats were used. Three groups were separated, neurometosis type injury was created in the sciatic nerves of the first group, and then end-to-end epineural coaptation was performed. In the second group, neurometosis type injury was created in the same way, end-to-end epineural coaptation was performed and a single intraperitoneal dose of 100mg/kg Aloperin was administered. No surgical procedure was performed in the third group. The rats were followed for six weeks. At the end of six weeks, push-pull test, pinprick test, and foot pull test were applied for functional evaluation, followed by sacrifice. IL-6, IL-10, TNF- α , TAS and TOS values were measured from blood samples from intracardiac blood samples. Sciatic nerves were removed and histologically examined, axon number diameter, wallerian degeneration were evaluated. IL-10 and TNF- α measurements were made in the sciatic nerve tissue. Both sides gastrocnemius muscles were removed. Muscle weight ratio was calculated by measuring gastrocnemius muscle weight

Result: Functionally, muscle volume ratio and pinprick score were found to be higher in the aloperine administered group than in the repair-only group. The time to take foot from the warm floor was found to be shorter. It shows that there is more improvement as the thrust force ratio is lower than the formulation applied, while the thrust force ratio was found to be lower in the Aloperin applied group. In the blood of the aloperine administered group, IL-10 was high and TNF- α was low in the nerve tissue. Again, the amount of IL-6 in the blood of this group was measured to be lower. In histological examination, it was observed that the number and diameter of axons increased and the wallerian degeneration decreased in the group treated with aloperine.

Conclusion: As a result of the data obtained in this study, systemic application of Aloperin in neurometosis type nerve injury; We have shown for the first time in the literature that it positively affects nerve regeneration, accelerates regeneration and increases functional recovery with its antioxidant and anti-inflammatory effects. Since this study is the first to investigate the effect of Aloperin on the peripheral nerve, we think that it will be informative for future studies

Keywords: Aloperin, peripheral nerve healing, antioxidant. anti-inflammatory

EKLER

EK 1: Etik Kurul Rapor

T.C. SELÇUK ÜNİVERSİTESİ DENEYSEL TIP UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL KARARI	
Karar Sayısı: 2022-29	Toplantı Tarihi: 29.07.2022
Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı'ndan Dr. Öğrt. Üyesi Sadettin ÇİFTÇİ ve Araş. Gör. Mehmet ERTANIDIR, Prof. Dr. Bahadır ÖZTÜRK, Araş. Gör. Erkan Sabri ERTAŞ tarafından sunulan “Deneysel Siyatik Sinir Hasarı Modelinde Aloverine'nin Anti-Enflamatuvar ve Anti-Oksidan Özelliklerinin İyileşme Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi” başlıklı uzmanlık tezi projesi kurul tarafından değerlendirildi. Projede belirtilen anesteziik maddenin (Xylazine 10 mg/kg. Ketamin 70 mg/kg) kullanılması uygun görülmüştür. Projede belirtilen ve istatistiksel olarak en güvenilir sonuç elde edilebilecek asgari sayıda kullanılacak olan (30 adet sıçan.) hayvan sayısı uygun görülmüştür. Projenin hayvan deneylerine ilişkin yönlerinin Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesinde belirtilen “Etik Kurallar” dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir. Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesinde yer alan kurallar ve belirtilen “Hayvan Deneyleri İle İlgili Etik İlkeler” saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında “Etik Kurul Yönergesi İlkelerine Uyulduğuna”, çalışmanın deneysel kısmını yapacak çalışmacının “Deney Hayvanları Kullanım Sertifikasına” sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından “uygun” olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.	