

T. C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ
FAKÜLTESİ

RAT SİYATİK SİNİR REJENERASYONUNDA ARTESUNATIN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI VE DEKSAMETAZON VE
TAKROLİMUSUN ETKİSİYLE KARŞILAŞTIRILMASI

Dt. Tuğçenur UZUN

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI UZMANLIK TEZİ

Mart 2018

BOLU

T. C.

**ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ
FAKÜLTESİ**

**RAT SİYATİK SİNİR REJENERASYONUNDA ARTESUNATIN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI VE DEKSAMETAZON VE
TAKROLİMUSUN ETKİSİYLE KARŞILAŞTIRILMASI**

Dt. Tuğcenur UZUN

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Orçun TOPTAŞ

Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiŐtir. (Proje numarası: 2017.06.01.1192)

Mart 2018

BOLU

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
DIŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
Tez Onay Belgesi

Tezin Başlığı :Rat Siyatik Sinir Regenerasyonunda Artesunatin Etkisinin Araştırılması
ve Dekametazon ve Takrolimusun Etkisiyle Karşılaştırılması
Tezin Savunma Tarihi :20/3/2018
Tezin Danışmanı :Doç.Dr.Orçun Toptaş

Jüri Başkanı : Orçun TOPTAŞ
Üye : Ufuk GÜLŞEN
Üye :



DEKANLIK ONAYI

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.


Prof. Dr. Hasan ORUÇOĞLU

DEKAN V.

ÖZET

Periferel sinir hasarı klinikte sıkça karşılaşılan bir durumdur. Hasar sonrası sinir rejenerasyonunu hızlandıracak pek çok yöntem ve ajan denenmiştir. Çalışmamızda daha önce sinir rejenerasyonundaki olumlu etkileri deneysel olarak kanıtlanmış olan deksametazon ve takrolimusun etkileri karşılaştırılmıştır. Literatürde bu iki ajanın sinir rejenerasyonu üzerine etkilerini karşılaştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Artesunat geleneksel Çin tıbbında yüzyıllardır kullanılan bir ajandır. Günümüzde klorokin dirençli malarya tedavisinde en etkili seçenek olmasının yanında artesunatın antikanser, antiviral ve antienflamatuar etkilerini gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. Literatürde artesunatın sinir rejenerasyonuna etkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda artesunatın sinir rejenerasyonundaki etkinliği araştırılmış, takrolimus ve deksametazonun etkisiyle karşılaştırılmıştır.

Çalışmada 36 adet Wistar tipi diş rat kullanıldı. Ketamin ve ksilazin anestezisi altında ratların sağ siyatik sinirleri künt diseksiyonla açığa çıkarılarak sinire kompresyon uygulandı. Sham grubunda sinir açığa çıkarıldı fakat kompresyon uygulanmadı. Kompresyon uygulanan grupların her birine jelatin süngere emdirilmiş salin, vazelin, artesunat, takrolimus ve deksametazon uygulandı.

Postoperatif dördüncü haftanın sonunda ratlara yürüme analizi ve EMG ölçümü yapıldı. Deneklerin sakrifikasyonunun ardından sinir dokuları histopatolojik olarak incelendi. Veriler Kruskal-Wallis testi ve one-way ANOVA analizi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi ve $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi. Siyatik fonksiyon indeksi ve EMG analizi sonuçlarına göre artesunat, takrolimus ve deksametazon grubunda, vazelin ve salin grubuna göre sinir rejenerasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü. Artesunat, takrolimus ve deksametazon grupları arasında istatistiksel bir fark bulunamadı.

Çalışmamızda artesunatın sinir rejenerasyonundaki olumlu etkisi gösterilmiştir. Artesunat bu etkiyi muhtemelen antienflamatuar özelliği sayesinde göstermektedir. Çalışmamızın sonuçlarına göre takrolimus, deksametazon ve artesunat sinir

rejenerasyonu açısından benzer etkiler göstermiştir. Artesunatın sinir rejenerasyonundaki etkisini araştıran yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Sinir rejenerasyonu, Artesunat, Takrolimus, Deksametazon



ABSTRACT

Peripheral nerve injury is commonly encountered condition in clinical practice. Numerous methods and agents have been tried to accelerate nerve regeneration after injury. The effects of dexamethasone and tacrolimus, which were proven to have positive effects experimentally on nerve regeneration previously, were compared in the present study. There is no study in the literature comparing the effects of these two agents on nerve regeneration. Artesunate is an agent which has been used in traditional Chinese medicine for centuries. Today, in addition to being the most effective option for chloroquine-resistant malaria, there are also many studies demonstrating the anticancer, antiviral and anti-inflammatory effects of artesunate. In the literature, there is no study investigating the effect of artesunate on nerve regeneration. The present study investigated the efficacy of artesunate in nerve regeneration and it was compared with the effects of tacrolimus and dexamethasone.

Thirty-six Wistar female rats were used in the study. The right sciatic nerves of the rats were exposed using blunt dissection under ketamine and xylazine anesthesia and then compression was applied to the nerve. In the sham group, the nerve was exposed but no compression was applied. Saline, vaseline, artesunate, tacrolimus, and dexamethasone impregnated gelatine sponges were administered to each of compression-treated groups.

Walking track analysis and EMG measurement were performed in the rats at the end of the fourth week postoperatively. After the sacrifice of the subjects, the nerve tissues were examined histopathologically. The data were assessed statistically using the Kruskal-Wallis test and one-way ANOVA analysis, and $p < 0.05$ considered significant. According to the results of sciatic function index and EMG analysis, a statistically significant increase was observed in terms of nerve regeneration in the artesunate, tacrolimus and dexamethasone groups compared to the vaseline and saline groups. No statistical difference was noted among the artesunate, tacrolimus and dexamethasone groups.

The present study revealed a positive effect of artesunate on nerve regeneration. This effect of artesunate is probably due to its anti-inflammatory

characteristic. Based on the results of our study, tacrolimus, dexamethasone, and artesunate showed similar effects in terms of nerve regeneration. There is a need for new research investigating the effect of artesunate on nerve regeneration.

Key words: Nerve regeneration, Artesunate, Tacrolimus, Dexamethasone



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübesiyle her zaman yanımda olan değerli hocam, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Orçun TOPTAŞ'a teşekkür ederim.

Farmakoloji gibi derin ve karmaşık bir alanda varlığıyla yolumu aydınlatan, tezimin en zor ve çıkmaza girdiği zamanlarında maddi ve manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim, bir hocadan ziyade bir dost gibi elimden tutan çok değerli hocam, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Özge UZUN'a teşekkür ederim.

Tezimin çok önemli bir basamağını oluşturan EMG ölçümü ve analizinde yardımını ve desteğini esirgemeyen Nöroloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Şule Aydın TÜRKOĞLU'na teşekkür ederim.

Histoloji ve Embriyoloji Öğretim üyeleri Prof. Dr. Aysel KÜKNER'e, Yrd. Doç. Dr. Tülin FIRAT'a, Yrd. Doç. Dr. Aslıhan Şaylan'a, yüksek lisans öğrencisi Hande YILMAZ'a değerli katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Başta Yrd. Doç. Dr. Ayhan ÇETİNKAYA ve Vet. Hek. Enes EĞİLMEZ olmak üzere AİBÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinin tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Her aşaması zorlukla geçen tez sürecim boyunca yardımını esirgemeyen, en umutsuz zamanlarımda varlığıyla bana destek olan çok kıymetli dostum Arş. Gör. Merve Bozkurt'a çok teşekkür ederim.

EMG ölçümü sırasındaki değerli yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Hayriye Orallar'a teşekkür ederim.

AİBÜ Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalının tüm öğretim üyelerine, hemşirelerine, çalışanlarına ve tezim sırasındaki yardımlarından dolayı asistan arkadaşlarım Arş. Gör. Mert CAN'a ve Arş. Gör. Zübeyir BAŞ'a ve Yrd. Doç. Dr. Büşra BOSTANCI'ya teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasını yakından takip eden, benimle sevinip benimle üzülen, tüm eğitim hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen canım annem Aysel UZUN'a ve babam Necmettin UZUN'a, sevgili kardeşlerim Fatma Nur Uzun'a ve Şeyma Nur UZUN'a, derslerimi başarıyla geçmem hususunda yıllarca duacı olan anneannem Elmas ÇAKMAK'a ve tüm sevenlerime sonsuz teşekkürler.

Bu çalışma sırasında hayatlarını kaybeden sevgili ratlarıma ve tüm deney hayvanlarına teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

I. ONAY SAYFASI	iii
II. ÖZET	iv
III. ABSTRACT	vi
IV. TEŞEKKÜR	viii
III. İÇİNDEKİLER	x
IV. TABLOLAR	xi
V. ŞEKİLLER	xii
VI. RESİMLER	xiii
VII. KISALTMALAR	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
Periferik sinir anatomisi	3
Periferik sinir yaralanması	7
Artesunat	17
Takrolimus	19
Deksametazon	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
Siyatik sinir anatomisi	24
Çalışma grupları	26
Cerrahi teknik	26
İlaç uygulaması	29
Değerlendirme yöntemleri	30
4. BULGULAR	35
Genel değerlendirme bulguları	34
Fonksiyonel değerlendirme bulguları	36
Sinirlerin histolojik değerlendirmesi	46
5. TARTIŞMA	61
6. SONUÇ	69
7. KAYNAKLAR	70

TABLULAR

Tablo 1: Siyatik fonksiyon indeksi değerleri	36
Tablo 2: Siyatik fonksiyon indeksi değerlerinin bonferroni testi ile karşılaştırılması	38
Tablo 3: Opere bacak/normal bacak latans oranları	40
Tablo 4: Opere bacak/normal bacak latans değerlerinin Mann Whitney U testi ile karşılaştırılması	42
Tablo 5: Opere bacak/normal bacak kasılma amplitüdü oranları	43
Tablo 6: Opere bacak/normal bacak amplitüd oranlarının Mann Whitney U testi ile karşılaştırılması	45
Tablo 7: Gruplara göre fibrozis skorlar	47
Tablo 8: Fibrozis değerlerinin Mann Whitney U testi ile karşılaştırılması	49
Tablo 9: Gruplara göre fibroblast sayıları	50
Tablo 10: Fibroblast sayılarının Bonferroni testi ile karşılaştırılması	52
Tablo 11: Gruplara göre enflamasyon skorları	54
Tablo 12: Enflamasyon derecesinin Mann Whitney U testi ile karşılaştırılması	55
Tablo 13: Gruplara göre hematın skorları	57
Tablo 14: Hematom derecesinin Mann Whitney U testi ile karşılaştırılması	58
Tablo 15: Miyelinli akson çapları	59
Tablo 16: Miyelinli akson çaplarının Bonferroni testi ile karşılaştırılması	61

ŞEKİLLER

Şekil 1: Sinir kılıfları	5
Şekil 2: Sinir rejenerasyon ve dejenerasyonu	8
Şekil 3: Rat siyatik sinir anatomisi	25
Şekil 4: Siyatik fonksiyon İndeksi	31
Şekil 5: Siyatik fonksiyon indeksinin hesaplanması için kullanılan formü	31
Şekil 6: EMG dalgası	33
Şekil 7: Siyatik Fonksiyon İndeksi Ortalamasının Gruplara Göre Dağılımı	39
Şekil 8: Siyatik Fonksiyon İndeksi (SFI) Değerlerinin Grafiksel Gösterimi	39
Şekil 9: Opere bacak/normal bacak latans oranlarının grafiksel gösterimi	43
Şekil 10: Opere bacak/normal bacak amplitüd oranlarının grafiksel gösterimi	46
Şekil 11: Fibrozis skorlarının grafiksel gösterimi	50
Şekil 12: Fibroblast sayısı ortalamasının gruplara göre dağılımı	53
Şekil 13: Fibroblast sayısının grafiksel gösterimi	53
Şekil 14: Enfamasyon skorunun grafiksel gösterimi	56
Şekil 15: Hematom skorunun grafiksel gösterimi	59
Şekil 16: Miyelinli akson çaplarının ortalamasının gruplara göre dağılımı	62
Şekil 17: Miyelinli akson çaplarının grafiksel gösterimi	62

RESİMLER

Resim 1: Siyatik sinir diseksiyonu	27
Resim 2: Siyatik sinire kompresyon uygulandıktan sonraki görünüm	27
Resim 3: Hasarlı bölgeye ilaç uygulaması	28
Resim 4: Operasyon bölgesinin sütüre edilmesi	29
Resim 5: Çalışmada kullanılan ilaçlar	29
Resim 6: Yürüme analizi	31
Resim 7: EMG ölçümü	32
Resim 8: Otokanibalizasyon davranışı sonucu ekstremitede meydana gelen deformasyon	35
Resim 9: Otokanibalizasyon davranışı sonucu ekstremitede meydana gelen deformasyon	35
Resim 10: Opere bacakta belirgin kas atrofisi	36
Resim 11: Histolojik kesitler	48

KISALTMALAR

ACTH	Adrenokortikotropik hormon
BDNF	Beyin türevli nörotrofik faktör
CCL2	Kemokin ligand 2
CCL3	Kemokin ligand 3
COX2	Siklooksijenaz 2
DAMPs	Tehlikeyle ilişkili moleküler paternler
EMG	Elektromiyogram
FK506	Takrolimus
FKBP12	FK506 bağlanma proteini 12
FKBP52	FK506 bağlanma proteini 52
GAP 43	Büyümeyle ilişkili protein
HMGB-1	Yüksel mobiliteli grup 1 protein
IκB	Kappa B inhibitörü
IL	İnterlökin
IT	İntermediate toe spread
LIF	Lösemi inhibitör faktör
MAG	Miyelinle ilişkili glikoprotein

MAP Kinaz	Mitojen aktive protein
MCP 1	Monosit kemoatraktan protein 1
MIP 1α	Makrofaj inhibitör protein alfa
MMP-9	Matriks metalloproteinaz
MSS	Merkezi sinir sistemi
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
NGF	Sinir büyüme faktörü
PGE2	Prostaglandin E2
PL	Print lenght
PLA2	Fosfolipaz A2
PSS	Periferik sinir sistemi
rRNA	Ribozomal ribonükleik asit
SFI	Siyatik fonksiyon indeksi
TGF-β	Transforme edici büyüme faktörü β
TLR	Toll-like reseptör
TNF-α	Tümör nekroz faktör alfa
TS	Toe spread





GİRİŞ

Periferel sinir hasarı cerrahi müdahaleler veya travma sonucu ortaya çıkabilen ve hastanın yaşam kalitesini olumsuz etkileyen bir durumdur. Santral sinir sisteminin aksine periferel sinir sisteminin rejenerasyon kabiliyeti mevcuttur.

Periferel sinir hasarının derecesine bağlı olarak meydana gelen doku cevabı farklılık gösterir. Nöropraksi bu yaralanmaların en az şiddetli olanıdır. Wallerian dejenerasyon görülmez ve bazal membran bütünlüğünü korumaktadır. Aksonotmezis aksonların ve miyelin kılıfın tam olarak kesintiye uğramasıdır. Bu sinir hasarında Wallerian dejenerasyon görülür ve bağ dokusu sağlamdır. Nörotmezis ise akson ve endonöryumu içeren nöronun bütün yapılarının hasarlanmasıdır. Nörotmezis en şiddetli sinir yaralanmasıdır.

Periferel sinir hasarının ardından vasküler permeabilite artışı ve ödem ile seyreden bir enflamasyon tablosu gelişir [1]. Enflamatuar süreç ve enflamasyon medyatörleri sinir hasarı sonrası gelişen aksonal dejenerasyon ve rejenerasyon süreçlerinin düzenlenmesinde rol oynarlar [2]. Bu enflamatuar süreçte kemik iliği kaynaklı makrofajlar Schwann hücreleriyle birlikte hasar görmüş akson ve miyelin kılıfı ortamdaki uzaklaştırır [3]. Meydana gelen enflamasyonu ve skar formasyonunu engellemek iyileşme sürecinde ortaya çıkan dejenerasyonu azaltacak, sinir rejenerasyonunu olumlu etkileyecektir. Bu amaçla antienflamatuar etkinliği olan pek çok ilaç kullanılmıştır.

Steroidler sinir hasarında sıkça kullanılan bir ilaç grubudur. Enflamatuar cevabı ve makrofaj göçünü inhibe ederler [4]. Steroidlerin nöroprotektif etkileri şu mekanizmalarla açıklanmaktadır: lokal ödem gelişiminin inhibe edilmesi, lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, sitokin sentezinin inhibisyonu, doku kan akımının devamlılığının sağlanması ve aksonal hasarın azaltılması [5, 6]. Deksetazon nöral hasar sonucu gelişen enflamasyonun tedavisinde sıklıkla kullanılan bir glukokortikoiddir [3]. Deksetazon antienflamatuar etkisini makrofajlardaki fosfolipaz A2 seviyesini ve proinflamatuar sitokinleri azaltarak gösterir [7, 8]. Fosfolipaz A2 (PLA2) ve proinflamatuar sitokinlerin enflamatuar cevabı yönettiği ve

sinir hasarı sonrası dejenerasyon ve rejenerasyona neden olduğu bilinmektedir [9, 10].

Mohammadi ve ark. siyatik sinir kesisi oluşturdıkları rat modellerinde, lokal deksametazon uygulamasının sinir rejenerasyonunu ve hedef organ reinnervasyonunu hızlandırdığını göstermişlerdir [6]. Sun ve ark. deksametazon ve vitamin B12'nin sinerjistik etki ederek ratlarda periferik sinir rejenerasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir [11]. Jang ve ark. rat fasiyal sinir hasarında topikal deksametazon kullanımının sinir rejenerasyonunu hızlandırdığını göstermişlerdir [12].

Takrolimus (FK 506) makrolid lakton grubu immünsüpresif bir ilaçtır ve transplantasyon sonrası doku reddini önlemek amacıyla kullanılır. İmmünsüpresif etkisinin yanı sıra sinir rejenerasyonunu artırıcı etkisi de vardır [13-17]. Takrolimus FK bağlanma proteinine bağlanarak hücre fonksiyonunu inhibe edici etki gösterir. Kalsinörin ve kalsiyum kalmodulin fosfatı inhibe ederek immünsüpresyonu düzenler [18]. Kalsinörin inhibisyonunun primer biyolojik etkisi TNF- α , interlökin-2 ve interferon- γ gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltılmasıdır [19]. İki tip takrolimus reseptörü vardır: FKBP12 ve FKBP52. FKBP12 immünsüpresif etkiden sorumluyken, FKBP52 nörorejeneratif etkiyle ilişkilidir [18]. Takrolimusun nörotrofik etki gösterdiği deneysel modellerle kanıtlanmıştır. İn vivo ve in vitro deneylerde nöral çıkıntılarının uzamasını arttırdığı ve sinir rejenerasyonunu hızlandırdığı görülmüştür [20]. Takrolimusun iyileşmekte olan sinir bölgesinde skar oluşumunu azaltması da nöral fonksiyonların geri kazanılmasını olumlu etkilemektedir [21, 22]. Takrolimus bu etkisini fibroblast apoptozunu indükleyerek gösterir [23].

Gold ve ark. 1995 yılında yayınladıkları çalışmada takrolimusun sistemik uygulamasının rat siyatik sinirinde aksonal rejenerasyon oranını arttırdığını bildirmişlerdir [24]. Azizi ve ark. rat siyatik sinirinde takrolimusu ven greftine yükleyerek kullandıklarında, fonksiyonel sinir yenilenmesi ve kantitatif morfometrik indekslerde iyileşme gözlemlemişlerdir. Ayrıca ilacın topikal uygulamasının hem maliyet açısından hem de sistemik uygulamalar sonucu oluşabilecek komplikasyonlardan kaçınmak açısından avantajlı olduğunu bildirmişlerdir [25].

Artemisininin yarı sentetik bir türevi olan Artesunate, şiddetli ve klorokine dirençli sıtmanın tedavisinde en etkili ve güvenli ilaç olarak kabul edilmiştir [26]. Artesunatin, antiparazitik etkinliğinin yanı sıra, sepsis, artrit, sistemik lupus ve alerjik astım da dahil olmak üzere farklı iltihap modellerinde anti-inflamatuar bir profil sergilediği gösterilmiştir [27-31].

Jiang ve ark. artesunatin TNF- α ve IL-6 seviyesinde azalmaya neden olarak anti-inflamatuar etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir [32]. Artesunatin NF-kB sinyal yolağının inhibisyonu yoluyla IL-1beta, IL-6 ve IL-8 üretimini inhibe ettiği düşünülmektedir [33].

Mirshafiey ve ark. sıçan romatoid artrit modelinde artesunatin doku ödemi, kemik rezorpsiyonunu ve nitrik oksit oluşumunu azalttığını bildirmişlerdir. Histopatolojik incelemede enflamatuar hücre infiltrasyonunda düşüş gözlemlenmiştir [34].

Artesunatin bu anti-inflamatuar özelliklerinin sinir rejenerasyonuna olumlu etki edeceğini düşünmekteyiz.

GENEL BİLGİLER

PERİFERİK SİNİR ANATOMİSİ

Periferik sinir sistemi, santral sinir sistemi ile hedef organlar arasındaki iletişimi sağlayan, motor, duyu ve otonomik fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir sistemdir. Periferik sinir sistemi özelleşmiş sinir sonlanmaları bulunan periferik sinirlerden ve merkezi sinir sistemi dışında yer alan sinir hücre gövdelerini içeren gangliyonlardan oluşmaktadır [35].

Nöronun Yapısı

Sinir hücre gövdesi, esas olarak içinde nükleusun bulunduğu sitoplazma kitlesinden oluşmaktadır ve dış tarafta plazma membranı ile çevrelenir. Sinir hücresi gövdesi içindeki sitoplazma hacmi, nöritlerin içindeki toplam sitoplazma hacminden çok daha azdır [36].

Nukleus genlerin depolandığı yerdir ve çoğunlukla hücre gövdesinin merkezinde yerleşmiştir. Tipik olarak yuvarlak ve büyüktür. Olgun nöronlarda kromozomlar kendilerini eşleme özelliklerini yitirmişlerdir ve sadece gen açığa çıkararak fonksiyon görürler. Bu sebeple kromozomlar sıkı yapılar olarak düzenlenmemişlerdir, ama sarmallanmış durumda mevcudiyetlerini korurlar. Bu nedenle nukleusun rengi soluktur ve ince kromatin granülleri bol miktarda dağılmış durumdadır. Ribozomal ribonükleik asit (rRNA) senteziyle ve ribozom alt birim topluluğu ile ilgili olan, genellikle bir adet belirgin bir nukleolus vardır. Nükleolusun büyük olmasının nedeni hızlı protein sentezidir [36].

Sitoplazma, granüler ve agranüler endoplazmik retikulumdan zengindir. Sitoplazma içerisinde Nissl maddesi, golgi kompleksi, mitokondri, mikrofilament, mikrotübüller, lizozomlar, sentrioller, lipofuksin, melanin, glikojen ve lipit bulunur [36].

Periferik Sinirler

Periferik sinir, bağ dokusu ile bir arada tutulan sinir lifleri demetidir. PSS'nin sinirleri vücuttaki doku ve organlar ile beyin ve spinal kord arasında duyuşal ve motor bilgi taşıyan çok sayıda sinir lifinden meydana gelmektedir. Sinir lifi terimi çok farklı şekillerde kullanılabilir. Yukarıda kullanıldığı gibi bütün çevreleyen yapılarla (miyelin ve Schwann hücresi) birlikte aksonu ifade edebilir ya da tek başına akson anlamında kullanılabilir [35].

Periferik sinirlerin hücre gövdeleri MSS'de ya da MSS dışında periferik gangliyonlarda bulunur. Gangliyonlar nöronal hücre gövdesi toplulukları ile onlara gelen ve onlardan çıkan sinir uzantılarını içerir. Dorsal kök gangliyonlarındaki ve kranial sinir gangliyonlarındaki hücre gövdeleri duyuşal nöronlara aittir. Paravertebral, prevertebral ve terminal gangliyonlardaki hücre gövdeleri otonomik sinir sisteminin postsinaptik motor nöronlarına aittir [35].

PSS motor nöronlarının hücre gövdeleri MSS'de yer almaktadır. İskelet kasını innerve eden motor nöronların hücre gövdeleri beyinde, beyin sapında ve spinal kordda bulunmaktadır. Aksonlar MSS'den çıkarak periferik sinirler içinde innerve

ettikleri iskelet kaslarına giderler. Tek bir nöron MSS'den efektör organa impuls iletir [35].

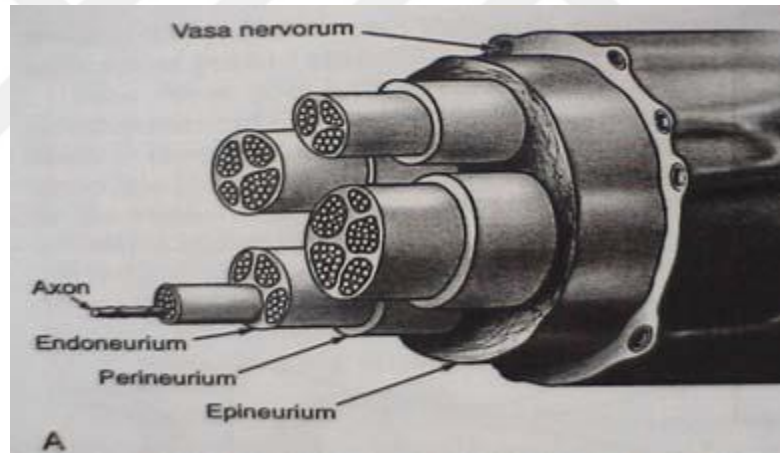
Periferik Sinirin Bağ Dokusu Komponentleri

Periferik sinirin büyük kısmı sinir lifleri ve destekleyici Schwann hücrelerinden oluşmaktadır. Her bir sinir lifi ve ilişkili Schwann hücrelerini, her biri spesifik morfolojik ve fonksiyonel karakteristikler gösteren üç ayrı komponent halinde düzenlenmiş bağ dokusu bir arada tutmaktadır [35].

Endonöryum, her bir sinir lifini çevreleyen gevşek bağ dokusudur.

Perinöryum, her sinir fasikülünü çevreleyen özelleşmiş bağ dokusudur.

Epinöryum, periferik siniri saran ve sinir fasiküllerinin arasındaki boşlukları dolduran düzensiz sıkı bağ dokusudur.



Şekil 1. Sinir kılıfları (Saleh MS. John YS. KIM Repair and grafting of the peripheral nerve. Plastic Surgery. 2th edition. ed: Stepsn J. Mathes. Saunders Elsevier. Phillph. 2006. Pp: 722

Endonöryum, her bir sinir lifi ile ilişkili gevşek bağ dokusudur. Endonöryum rutin ışık mikroskobu preparatlarında kolaylıkla ayırt edilemez, ancak özel bağ dokusu boyaları ile gösterilebilir. Elektron mikroskobunda endonöryumu oluşturan kollajen fibrilleri açıkça izlenir. Fibriller sinir liflerine paralel ve onları saracak şekilde seyrederek ve sinir liflerinin bir araya getirilerek fasikül ya da demet şeklinde bağlarlar. Sinir liflerinin aralarında az sayıda fibroblast olduğundan, kollajen

fibrillerinin büyük kısmı muhtemelen Schwann hücreleri tarafından salgılanmaktadır [35].

Endonöryumda az sayıda fibroblastlar dışında bağ dokusu hücresi olarak sadece mast hücreleri ve makrofajlar bulunmaktadır. Makrofajlar immünolojik denetimden ve sinir dokusunun onarımından sorumludur. Sinir hasarını takiben çoğalırlar ve miyelin kalıntılarını aktif olarak fagosite ederler. Periferik sinir enine kesitlerinde görülen nukleusların yaklaşık %90'ı Schwann hücrelerine aittir. Kalan %10 fibroblastlar ile kapiller endotel hücreleri, makrofajlar ve mast hücreleri gibi diğer hücrelere aittir[35].

Perinöryum, bir sinir fasikülünü çevreleyen ve kan-sinir bariyerinin oluşumuna katkıda bulunan özelleşmiş bağ dokusudur.

Perinöryum sinir demetini çevreleyen özelleşmiş bağ dokusu hücreleri kılıfı tarafından oluşturulmaktadır. Perinöryum, kan-sinir bariyerinin oluşumuna katkıda bulunur ve metabolik olarak aktif bir difüzyon bariyeri görevi görür. Bu bariyer kılıfla sarılmış olan sinir liflerinin iyonik çevrelerinin devamlılığını sağlar. Perinöryal hücreler, kan-beyin bariyerini oluşturan beyin kapillerlerinin endotel hücrelerinin sergilediği özelliklere benzer şekilde, maddelerin perinöryal hücrelerden aktif transportu için gerekli olan reseptörlere, taşıyıcılara ve enzimlere sahiptirler. Perinöryum, sinirin çapına bağlı olarak bir yada birkaç hücre kalınlığında olabilir. Bu tabakayı oluşturan hücreler yassıdır. Her tabakanın her iki yüzeyinde de eksternal bazal lamina bulunmaktadır. Bu hücrelerin kasılabilme özellikleri vardır ve diğer kasılabilir hücrelerin karakteristiği olan aktin filamentini bol miktarda içermektedirler. Ayrıca iki yada daha fazla perinöryal hücre tabakası bulunduğu perinöryal hücre tabkaları arasında kollajen fiberleri de bulunur, fakat fibroblast bulunmaz. Kan-sinir bariyeri sıkı bağlantılar tarafından oluşturulur. Bunlar, perinöryumun aynı tabakasında yer alan hücreler arasında bulunmaktadır. Bu hücreler bir bariyer halinde düzenlendikleri için, yani sıkı bağlantıların ve eksternal lamina materyalinin bulunması nedeniyle epiteloid dokuya benzemektedir. Bunun yanında kasılabilme ve kollajen fibril üretme yetenekleri de düz kas hücrelerine ve fibroblastlara benzemelerine sebep olur [35].

Endonöryumda bağ dokusu hücre çeşitlerinin kısıtlı olması perinöryumun oynadığı koruyucu rolü göstermektedir. Tipik immün sistem hücreleri (lenfositler, plazma hücreleri) endonöryal ve perinöryal kompartmanlarda mevcut değildir. İmmün hücrelerin bulunmayışı (makrofajlar ve mast hücreleri hariç) perinöryal hücrelerin meydana getirdiği koruyucu bariyer ile açıklanmaktadır. Tipik olarak sinir kompartmanında yalnızca fibroblastlar, az sayıda yerleşik makrofajlar ve nadir mast hücreleri mevcuttur [35].

Epinöryum, sinir fasiküllerinin bir demet halinde sararak bağlayan düzensiz sıkı bağ dokusundan meydana gelmektedir.

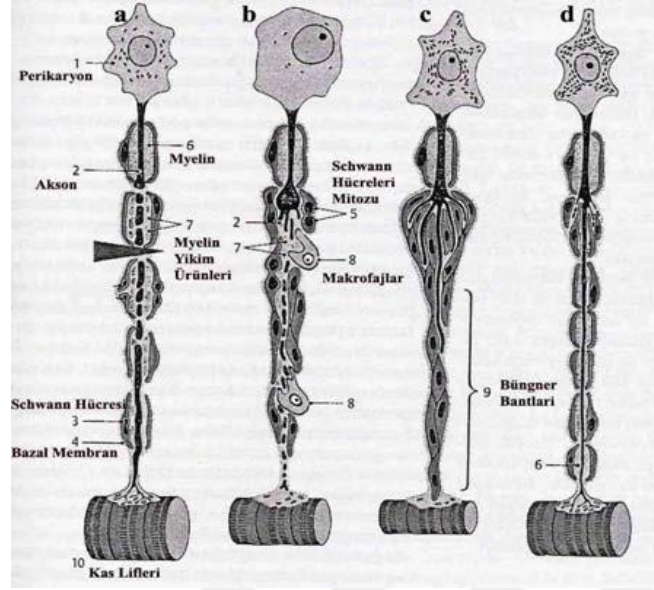
Epinöryum, periferik sinirin en dış dokusunu meydana getirmektedir. Perinöryum tarafından meydana getirilmiş fasikülleri saran tipik bir sıkı bağ dokusudur. Büyük sinirlerde çoğu zaman epinöryumla ilişkili adipoz doku mevcuttur [35].

Sinirlerin beslenmesini sağlayan kan damarları epinöryum içinde ilerler ve dalları sinirin içerisine penetre olarak perinöryumun içinde uzanır. Endonöryum seviyesindeki dokunun damarlanması zayıftır. Bu dokuda substratların ve artık maddelerin metabolik değişimi perinöryal kılıftaki damarlardan çift yönlü difüzyon ile sağlanır [35].

PERİFERİK SİNİR YARALANMASI

Nöronların Yaralanmaya Cevabı

Sinirin çok telli, kord benzeri bir yapısı vardır ve bu yapı sinir liflerinin organizasyonunu ve dış kuvvetlere karşı korunmalarını sağlar. Sinir hasarında nöron proksimal ve distal parça olarak ikiye ayrılır. Hasara verdikleri cevap göz önünde bulundurulduğunda bu iki parça birbirinden oldukça farklıdır.



Şekil 2. Sinir rejenerasyon ve dejenerasyonu a) akson ve miyelin yıkımı b) Schwann hücre proliferasyonu c) Aksonal tomurcuklanma ve Büngrer bantlarının oluşumu d) Maturasyon (Mumenthaler M, Stöhr M, Müler-Vahl H: Periferik Sinir Sisteminin Düzenlenme İlkeleri ve Gelişimi 8. Baskı Börü ÜT Nobel İst 2005, 15)

Hasar Bölgesinin Distali (Wallerian Dejenerasyon)

Augustus Waller adlı araştırmacının sinir hasarı sonrası distal kökte meydana gelen reaksiyonu açıklayan ilk raporu sunmasının üzerinden 167 yıl geçmiştir. Waller kurbağalarda oluşturduğu glossofaringeal ve hipoglossal sinir hasarı üzerinde çalışmalar yapmıştır [37].

Wallerian dejenerasyon aksotomiden hemen sonra başlar ve 3 ila 6 hafta sonra sona erer. İlk belirti aksonun bozunmasıdır ve 24 ila 48 saat içinde başlar [38]. Bu sürecin başlangıcında mikrotübül ve mikroflamanların proteolizi sonucu aksoplazma içinde granülasyon meydana gelir [39, 40]. Bunun nedeni İntrasellüler kalsiyum akışına cevap olarak meydana gelen aksoplazmik proteolizlerin hızlı aktivasyonudur [41]. Ubikuitin-proteozom sisteminin erken aktivasyonunun da burada önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir [42]. Tüm hücre iskeleti yapıları içerisinde ilk bozunmaya uğrayan mikrotübüllerdir [43, 44]. Mikrotübüler yapıların kaybı aksonal transportta bozulmaya neden olur ve sonrasında dejenerasyon süreci hızlanır. Mikroflamanların bozunması da kısa sürede gerçekleşir ve genellikle 7 ila 10 gün içerisinde sonlanır. Diğer önemli nokta ise Wallerian dejenerasyonun

doğrultusudur. Dejenerasyon iki yönde ilerler. Hasarın hemen altındaki bölgeden başlayıp distale doğru ilerlediği gibi distal uçtan da proksimale ilerler[45]. Dejeneratif değişiklikler çok hızlı başlamasına rağmen, distal sinir kökü uyarılabilirliğini uzun bir süre korur. Sinir hasar bölgesinin distalinden uyarıldığında, 10 güne kadar sinir potansiyeli kaydetmek mümkündür.

Buraya kadar anlatılanlar akson ve onun doğal dejenerasyon kabiliyetiyle ilgiliydi. Wallerian dejenerasyonda resmin tamamını görebilmek için bu süreçte önemli rol oynayan diğer hücrelerden de bahsetmek gerekir. Özellikle Schwann hücrelerinin ve makrofajların Wallerian dejenerasyonda önemli bir rolü vardır. Schwann hücreleri aksonla olan temaslarının kaybına oldukça hassastırlar. Denervasyon durumunda Schwann hücrelerinin destekleyici fenotipi reaktif fenotipe dönüşür. Miyelin üretimi durur [46]. Schwann hücrelerinin devam eden proliferasyonu sonucu yeni büyüyen aksone rehberlik etmesi amacıyla Bungler bantları oluşur. Bu fenotipik değişim hasara uğrayan aksonun salgıladığı nöroguline bir yanıtıdır [47]. Aktive olan Schwann hücreleri çok sayıda immünolojik aktif madde salgılar. Yaralanmadan birkaç gün sonra hasar bölgesinde çok miktarda IL-1 β , IL-6, IL-10 ve lösemi inhibitör faktör (LIF) tespit edilmiştir [48-50]. Bu maddeler immün hücreleri distal sinir köküne çekmekle ve fonksiyonlarını yönetmekle sorumludurlar. Sinir hasarından sonraki iki günde makrofajların ve T hücrelerinin hasar bölgesine göç etmeye başladığı, dördüncü günde en yüksek sayıya ulaştıkları gösterilmiştir [51, 52]. Bu hücreler aksonun bozunması sonucu ortaya çıkan aksonal debrisin ve miyelin kılıfın fagositozundan sorumludurlar. Periferel sinir sistemindeki duyu nöronlarının hasar sonrası hayatta kalabilme ve rejenere olabilme kabiliyetleri vardır. Olgun periferel nöron hasarı başarılı bir aksonal rejenerasyonda ve fonksiyonel iyileşmede önemli bir rol oynayan bir dizi moleküler ve hücresele cevapla sonuçlanır.

Makrofajlar ve Schwann hücreleri Wallerian dejenerasyonda önemli bir rol oynarlar [38, 53-55]. Aksotominin hemen sonrasında Schwann hücreleri TNF, IL-1 α , IL-1 β , CCL2/MCP1 ve CCL3/MIP1 α 'yı da içeren proenflamatuar sitokin ve kemokinler salgılar [10, 53, 56, 57]. Bu moleküllerin ekspresyonu periferel sirkülasyondaki makrofajların aktivasyonunu ve göçünü, yerleşik makrofajların proliferasyonunu ve aktivasyonunu tetiklemektedir [58-60]. Makrofajlar Bungler

bantlarının içinde dejenere aksonlarla yakın temas içerisindedirler ve aksonal ve miyelin debrisin fagositozunda önemli bir rol oynamaktadırlar. Periferik makrofajların olaya dahil olmasından önce bu görevi Schwann hücreleri yerine getirmektedir [38, 61, 62]. Dejenere akson ve miyelinlerin makrofajlar tarafından uzaklaştırılması akson rejenerasyonunun ilerlemesi için son derece önemlidir çünkü periferik miyelin çok sayıda aksonal büyüme inhibitörü içermektedir [63, 64]. TLR sinyal yolağı ile indüklenmiş, TNF ve IL-1 içeren bir proenflamatuar cevap, etkili bir Wallerian dejenerasyon ve sonrasında aksonal rejenerasyon için gereklidir [65-67].

Miyelin debrisin temizlenmesi sinir rejenerasyonu için son derece önemlidir çünkü içerdiği miyelinle ilişkili glikoprotein (MAG) ve diğer moleküller aksonal büyümeyi inhibe eder [68, 69]. Distal sinir kökünün Schwann hücreleri aksonlarından ayrılarak, diferansiasyona ve aktivasyona uğrayarak hasara ilk yanıtı oluştururlar. Aktive Schwann hücreleri fagositoz yeteneğı kazanırlar ve miyelini ve dejenere aksonu ortamdaki uzaklaştırmaya başlarlar. Daha sonra bozunmuş miyelin yerleşik endonöral ve göç etmiş hematojen makrofajlarca fagosite edilerek ortam miyelinden tamamen arındırılır [59, 70].

Makrofajların göçü, aksonuyla temasını kaybeden Schwann hücrelerinin immün aktivasyonu ile düzenlenir. Aktive Schwann hücreleri sitokin ve kemokin kaskadını upregüle ederek makrofajların ve diğer immün hücrelerin invazyonu için bir stimulus oluştururlar. Wallerian dejenerasyonun erken fazı boyunca Schwann hücreleri ağırlıklı olarak monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1), tümör nekroz faktör α (TNF α), interlökin-1 β (IL- β), interlökin-6 (IL-6) gibi nöropoetik sitokinler ve lösemi inhibitör faktör (LIF) üretir ve makrofajların hasarlı sinirin distal kökünde selektif birikimine katkıda bulunur [10, 58, 71, 72].

Schwann hücreleri ve makrofajlar tarafından meydana getirilen miyelin fagositozunun moleküler mekanizmasını anlamak güçtür. Schwann hücrelerinin miyelin fagositozunun ilk basamağı lektin aracılı iken, makrofajlarınki opsonine bağlıdır [73].

Periferik sinirin hasarlı bölgesinde etki gösteren immün hücreler arasında makrofajlar en çok göze çarpanlardır. Makrofajlar sadece miyelin debrisin

uzaklaştırılmasında ve Schwann hücrelerinin aktivitesinin düzenlenmesinde rol almazlar; aynı zamanda ekstrasellüler matriks proteinleri, büyüme faktörleri, sitokin ve kemokin gibi rejenerasyonla ilişkili faktörlerin salınımını yaparak aksonal rejenerasyonu arttırlar [51, 53, 74].

Sinir hasarını takiben nötrofiller, makrofajlar ve T hücreleri de dahil olmak üzere çok sayıda immün hücre hasar bölgesine göç ederek patojenik sürece katılır [75]. Nötrofil göçü sinir hasarını takiben erken dönemde meydana gelirken, makrofajların sahaya infiltre olması 2. ve 3. günü bulur ve hasar sonrası 7. günde pik yapar [76]. Makrofajlar dejenere sinire infiltre olmuş immün hücreler arasında sayıca en fazla olanlardır ve temel olarak dolaşımdaki hematojen monositlerden köken alırlar [51].

Periferel sinirlerde meydana gelen Wallerian dejenerasyon hızlıdır ve iyi zamanlanmıştır. İlk 2 hafta boyunca meydana gelen, distal sinir segmentinin oluşturduğu dejenere materyalin fagositozu için gerekli olan erken proenflamatuar cevabı, enflamasyonun hızlı bir şekilde çözülmesi, akson jenerasyonu ve remiyelinizasyon izler [77]. Siyatik sinir hasarını takiben IL-1 β ve TNF gibi proenflamatuar sitokinlerin eksprese edildiği ve IL-10 gibi antienflamatuar sitokin ekspresyonunun da buna eşlik ettiğini bildiren çalışmalar mevcuttur [10, 54, 58, 78, 79].

Nekrotik veya stres altındaki dokulardan salınan endojen tehlike sinyalleri, doku travması sonrası meydana gelen alarmins ya da tehlikeyle ilişkili moleküler paternler (DAMPs) olarak adlandırılan enflamatuar cevabı tetikler [80].

Distal sinir kökündeki aksonlarda meydana gelen bozunma galektin, adenzin, HMBG-1, hyalüronan, heparan sülfat proteoglikan, fibrin ve fibronektin gibi tehlikeyle ilişkili moleküler paternlerin salınımıyla sonuçlanır. Tehlikeyle ilişkili moleküler paternlerin bazıları toll-like reseptörlerin endojen ligandlarıdır. Bu sinyal yolları periferel sinir hasarı sonrası meydana gelen Wallerian dejenerasyonda ve aksonal rejenerasyonda önemli bir rol oynarlar [65]. Örneğin distal sinir kökündeki bozunmuş aksoslemma ve ayrılmış endonöral ekstrasellüler matriks, Schwann hücre aktivasyonundaki TLR sinyal yolağını tetikler [81].

Kompleman komponentlerinin aktivasyonu Wallerian dejenerasyonun erken fazında başka bir önemli düzenleyici sistemi meydana getirir. Kompleman sistemi doğal immün cevabın parçası olan 30 çözünebilir ve membrana gömülü kompleman proteininden meydana gelir. Çeşitli kompleman komponentlerinin dağılımı akson, Schwann hücreleri, endonöryum ve perinöryum arasında dikkate değer bir farklılık gösterir ve bu durum periferik sinir rejenerasyonunda rol oynayabilir [82].

Sinir hasarından dört saat sonra miyelin kılıfta aktive kompleman komponentlerinin bulunduğu gösterilmiştir [83]. Bu komponentler Wallerian dejenerasyon sürecinde makrofajlar tarafından meydana getirilen miyelin yıkımına ve miyelin fagositozuna katılmaktadır [84]. Bu süreç miyelinin kompleman komponentleri tarafından opsonizasyonuna dayanmaktadır çünkü C3 eksikliği miyelin fagositozunu bloke eder ve Wallerian dejenerasyonu geciktirir [85, 86]. C5 ve C6 eksikliği bulunan ratlarda sinir hasarı sonrası meydana gelen makrofaj göçü ve aktivasyonu inhibe olmuştur [84, 85, 87, 88].

Mekanik sinir hasarı C1q'nun aksonal ve miyelin epitoplarna bağlanmasını indükler. Daha sonra hasar görmüş sinir dokuları C4b, C3b ve C5b ile opsonize edilir ve makrofajlar tarafından seçilerek fagosite edilir [84, 87, 88].

Periferik sinir sisteminin sitokinleri periferik nöronlar ve glial hücreler (Schwann hücreleri, duyu gangliyonlarının satellit glial hücreleri) tarafından üretilir, yerleşik ve göç etmiş immün hücreler de bu üretime katkıda bulunur [89].

Sitokinlerin aksonal rejenerasyon üzerindeki etkileriyle ilgili çalışmaların sonuçları çoğunlukla ihtilafıdır çünkü sitokinler, enflamasyonun kendisi gibi sinir rejenerasyonunda "iki ucu keskin bıçak" gibi davranırlar. Bu karşıt etkiler hasarlı sinirdeki enflamatuvar reaksiyonun zamanlaması ve derecesiyle ilişkilidir. Lokal enflamasyonun aksonal rejenerasyon üzerindeki olumlu etkisi muhtemelen sitokin üretiminin düzenlenmesine ve kritik period süresince sitokinlerin optimal seviyede tutulması için gereken hassas kontrol mekanizmasına dayanır. Travmatik sinir hasarı veya farklı bir sinir hastalığı sonrası sitokinlerin kronik şekilde fazla üretilmesi nöropatik ağrının da aralarında bulunduğu pek çok durum ile ilişkilendirilmiştir [90]; ancak lezyonlu periferik sinirlerde yararlı etki elde edebilmek için gereken

sitokinlerin optimal seviyeleri ve bunların düzenlenmesindeki mekanizmalar halen bilinmemektedir.

Sitokinlerin çoğu hasar görmüş sinir kökünün distal kısmında iki yada üç dalga şeklinde upregüle olur. Sitokinlerin ve kemokinlerin Wallerian dejenerasyonun erken fazı boyunca aktive Schwann hücreleri tarafından upregülasyonu, miyelin destrüksiyonu ve hematojen makrofaj göçü ile ilişkilidir [10, 57].

Sinir hasarının distalinde Schwann hücreleri immatür evreye proliferere ve diferansiye olurlar. İmmatür Schwann hücreleri sitokinlerin, nörotrofik faktörlerin ve hücre adezyon moleküllerinin temel kaynağını oluşturacak şekilde distal sinir kökünde Büngner bantları boyunca sıralanırlar ve aksonal büyümeye rehberlik ederler [57, 91-94]. Düşük proenflamatuar sitokin seviyesinin dorsal kök gangliyon nöronlarında nörotrofin bağımlı nörit büyümesini stimüle ettiği in vitro koşullarda kanıtlanmıştır. Sitokin nörotrofin etkileşimi aksonal rejenerasyonun inflamatuvar cevap tarafından düzenlendiği mekanizmalardan biri olarak kabul edilebilir [95].

IL-1 β Wallerian dejenerasyonun erken fazında distal sinir kökündeki immatür Schwann hücreleri tarafından üretilen proenflamatuar bir sitokindir ve Schwann hücreleri remiyelinizasyona başladığında ortamdan kaybolur [10]. Bu proenflamatuar sitokinin nörodejenerasyon da dahil olmak üzere hücre ölümünü ve enflamasyonu arttırdığı iyi bilinmektedir [96]. Diğer yandan IL-1 β , Schwann hücrelerinin ve fibroblastların sinir büyüme faktörü (NGF) salınımını düzenlemekte, nörotrofin-3 ile sinerjistik etki göstererek nörit büyümesini arttırmaktadır [97, 98]. Özetle, Wallerian dejenerasyonun erken fazı boyunca IL-1 β 'nın lokal olarak düzenli yükselişi makrofaj göçüne, Schwann hücre proliferasyonuna ve başlangıç aksonal uzamaya katkıda bulunur [10, 58, 99, 100].

Periferel sinirlerdeki TNF- α ekspresyonu hasarın erken döneminde (saatler içinde) büyük ölçüde artar [101]. Hasardan 5 gün sonra endonöryumda iki farklı TNF- α mRNA piki meydana gelir [57]. Wallerian dejenerasyonun erken fazında TNF- α 'nın miyelin yıkımı ve fagositozu, Schwann hücre aktivasyonu, makrofaj göçü üzerinde olumlu etkileri olduğu in vivo ve in vitro deneylerde gösterilmiştir [102, 103].

TNF- α 'nın periferal sinir rejenerasyonu üzerine direkt etkisiyle ilgili yayınların bulguları ihtilaflıdır. TNF- α periferal sinirdeki ezilme hasarı sonrasında motor fonksiyonlardaki iyileşmeyi arttırırken [104], fibroblast proliferasyonunu stimüle ederek nöroma formasyonu arttırmak yoluyla fonksiyonel sinir rejenerasyonunda bozulmaya neden olur [105]

TNF- α antagonisti olan etanerceptin sistemik ve lokal uygulamasının aksonal rejenerasyon oranını arttırdığı gösterilerek, TNF- α 'nın sinir rejenerasyonu üzerine olumsuz etkisi olduğuna dair başka kanıtlar da elde edilmiştir [106]. İn vitro deneyler bile bu konuda kesin veriler sunamamıştır. TNF- α 'nın nörit uzamasını azalttığını bildiren sonuçların yanında [105], TNF- α 'nın NF- κ B bağımlı yolak üzerinden etki ederek dorsal kök gangliyonlarında dallanmada artış meydana getirdiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur [107].

NF- κ B periferal sinir sisteminin gelişiminde de, meydana gelen hasar sonrasında da önemli bir rol oynamaktadır. Gelişim sırasında başlangıç miyelin formasyonuna katılırken, hasarı takiben Schwann hücre aracılı remiyelinizasyonda görev alır [108]. NF- κ B sinir hasarı sonrası meydana gelen Schwann hücre diferansiasyonunu ve miyelinizasyonu arttırır [109]. TNF- α ve NF- κ B nöronal hasar sonrası uygun bir büyüme için gerekliken zararlı enflamatuar olaylara da aracılık edebilir [109].

NF- κ B/Rel transkripsiyon ailesi nükleer transkripsiyon aracılığıyla enflamasyonda önemli bir rol oynar. Sinir sisteminde NF- κ B subünit ekspresyonu meydana geldiğini bildiren çalışmalar mevcuttur [110, 111]. Normalde NF- κ B, κ B inhibitörü (I κ B) olarak adlandırılan düzenleyici proteinlerle birlikte sitoplazmada inaktif formda bulunur. Bu regülatör proteinlerden en önemlileri I κ B α , I κ B β , I κ B ϵ 'dir [112]. NF- κ B aktivasyon sinyaline gerek duyduğunda, I κ B α 'nın fosforilasyonu, ubiquitinasyonu ve proteozom bağlantılı degradasyonu meydana gelir. Bu olaylar zinciri sonucunda NF- κ B'nin nükleusa göçü ve hücre büyümesi, diferansiasyon, inflamatuvar cevap ve apoptoz regülasyonu ile ilgili genler aktive edilir [112].

Hasar Bölgesinin Proksimali (Proksimal Uç Dejenerasyonu)

Aksotominin ardından ilk meydana gelen olay proksimal kökün parsiyel retraksiyonudur [113]. Bu retraksiyon sonucunda Schwann hücreleriyle sarılmış endonöral tüp boş kalır. Proksimal kök genellikle bir ya da iki ranvier düğümü mesafesinde geri çekilir fakat bu mesafe hasarın derecesine ve şekline göre değişkenlik gösterir. Aynı zamanda aksonlar aksoplazma sızıntısını önlemek için hasar görmüş aksollemayı örterler. Retraksiyonun hemen ardından, saatler içerisinde proksimal kök rejeneratif uzantı oluşturmaya başlar [114-116]. Bu uzantılar şişmiş aksonun kesik ucunu şekillendirirler ve endoplazmik retikulum, mitokondri ve mikrotübül içerirler. Anterograd aksonal transportun kesintiye uğraması nedeniyle kökün uç kısmında ürün birikerek şişliğe neden olur. Şişlik bölgesinde meydana gelen önemli bir değişiklik de mikrotübüller hücre iskeletinin reorganizasyonudur. Normal bir aksonda mikrotübüller longitudinal bir şekilde organize olmuşlardır ve akson boyunca dizilmişlerdir. Aksotomiden sonra mikrotübüllerin düzeni değişir ve birbirlerine karşı dizilim gösterirler [117]. Bu şişlikler hasardan 24 ila 48 saat sonra meydana gelen aksonal son yumrunun gelişimi için zemin hazırlarlar. Aksonal son yumru ve aksonal büyüme konisi arasındaki ilişki tam olarak anlaşılammıştır [118]. Çevresel koşullara bağlı olarak hasar görmüş sinir, rejeneratif büyüme konisi ya da yetersiz son yumru oluşturabilir [119]. Proksimal sinir kökünün nihai amacı büyüme konisini başarılı bir şekilde oluşturmaktır çünkü sinir rejenerasyonunun başlangıç noktası burası olacaktır.

Sinir Hasarı Sonrası Meydana Gelen Aksonal Rejenerasyon

İlk aksonal filizlenme dalgası hasardan saatler sonra meydana gelir. Kesintiye uğramış akson çok miktarda terminal ve kollateral filizlenme oluşturur ve bu filizlenmeler Schwann hücreleriyle yakın temaslarını koruyarak endonöral tüp boyunca ilerlerler. İlk aksonal filizlenme dalgasını iki gün sonra meydana gelen ikinci filizlenme dalgası izler. İlk rejenerere olan aksonların geliştiği ortamda Schwann hücreleri, fibroblastlar, kollojenler, immünokomponent hücreler ve dejenere olan aksonların bıraktığı aksonal debris bulunmaktadır. Schwann hücreleri ve onların bazal laminaları sinir rejenerasyonunda oldukça kritik bir rol üstlenmektedir. Distal kökte Schwann hücresi bulunmadığı durumlarda rejenerasyonun çok yavaş bir

şekilde meydana geldiği gösterilmiştir. Schwann hücrelerinin distal sinir köküne göçü engellendiğinde, aksonun rejenerasyonu başarısızlıkla sonuçlanacaktır. Schwann hücreleri aksonal temasın kaybına proliferasyon olarak ve miyelin kılıfın parçalanmasına yardım ederek hızlı bir şekilde tepki verirler. Schwann hücreleri sayıları artmaya devam ederken göç ederler ve Bungner bantı olarak adlandırılan longitudinal kolonlar şeklinde hizalanırlar. Bungner bantları rejenerasyon olan aksonlar için fiziksel bir rehberdir. Akson ilk olarak sinir hasar bölgesini aşar ve daha sonra Bungner bantlarının içerisine doğru büyür.

Schwann hücreleri akson rejenerasyonunda mekanik bir rehber oluşturmanın yanında nöral büyümenin hümorale stimülasyonundan da sorumludur. Schwann hücreleri sinir hasarından kısa bir süre sonra NGF salınımını stimüle eder. Bu olay büyük bir ihtimalle makrofajların IL-1 salınımına cevaben gelişir. Aynı zamanda nörotrofin 3,4,5,6 ve BDNF miktarında ani bir artış meydana gelir.

Periferik Sinir Yaralanmalarının Sınıflandırması

Periferik sinir yaralanmalarını anlamayı kolaylaştıran pek çok sınıflama olmakla birlikte bunlardan en sık kullanılanları Seddon ve Sunderland tarafından oluşturulan sınıflamalardır [120, 121]

Seddon Sınıflaması

Normal koşullarda bir sinir innerve ettiği hedef ile bağlantısını bireyin yaşamı süresince sürdürür. Bu süreci sekteye uğratan en önemli etken mekanik kuvvetlerce meydana getirilen sinir hasarıdır. Bu kuvvetler kompresyon, traksiyon, laserasyon ve direkt enjeksiyon yolu ile siniri etkileyebilirler. Bunların dışında termal hasar, elektrik akımı, radyasyon ve metabolik hastalıklar da sinir hasarı oluşturabilen etkenlerdir. Oluşan hasar neticesinde merkezi sinir sisteminin uç organlar ile iletişimi kısmen veya tamamen bozulur. Bu bozulma hasarın derecesine göre değişiklik gösterebilir. Sinir yaralanmalarının derecelendirilmesi ilk kez 1943 yılında Seddon tarafından yapılmıştır. Seddon sinir hasarını nöropraksi, aksonotmezis ve nörotmezis olarak üçe ayırmıştır.

Nöropraksi: Sinirin yapısal bütünlüğü korunurken, aksiyon potansiyeli oluşturabilme kabiliyetini kaybettiği durumdur. Bu durum sinir lifinin segmental demiyelinizasyonu ile ilişkilidir. Miyelinizasyonun derecesi sinir lifinin tipine göre farklılık gösterir. Motor lifler en hassas sinir lifidir, fonksiyonu ilk kaybolur ve en son geri gelir. Ağrı ve sempatik liflerde ise tersi durum söz konusudur. İyileşme süreci uzun sürse de sonunda sinir tamamen iyileşir.

Aksonotmezis: Akson ve miyelin kılıfın devamlılığın bozulduğu fakat çevre bağ dokunun zarar görmediği sinir hasarıdır. Wallerian dejenerasyon ve aksonal yeniden büyüme bu sinir hasarında görülür. Sinirin fonksiyonunun geri kazanılması çoğu zaman oldukça iyidir. Çoğunlukla cerrahi müdahaleye gerek kalmadan iyileşir.

Nörotmezis: Endonöryum, perinöryum ve epinöryumu içeren nöral bağ dokusu hasarıdır. Bu hasarda da wallerian dejenerasyon ve aksonal yeniden büyüme meydana gelir. Rejenerasyon süreci kan sinir bariyerinin kaybı ve intranöral skar oluşumu nedeniyle engellenmiştir. Perinöryum ve epinöryumda devamlılık kaybı olan durumlarda cerrahi müdahale gerekir. İyileşme aksonotmezise göre kötüdür. Bu hasar tipi genellikle major travma sonrası meydana gelir.

Sunderland Sınıflaması

Bu sınıflamada tip I ve tip II hasar sırasıyla nöropraksi ve aksonotmezise karşılık gelmektedir. Tip III hasar akson ve endonöryumu kapsarken, perinöral ve epinöral dokular bozulmamıştır. Bu grup yaralanmalar Seddon sınıflamasındaki aksonotmezis ve nörotmezisin bir karışımı olarak kabul edilirler [121]. Tip IV hasarda aksonun, endonöral ve perinöral dokuların devamlılığı bozulmuştur. Bu durum sıklıkla intranöral skar oluşumuna neden olur ve iyi bir iyileşme sağlanabilmesi için cerrahi müdahale gerekir. Tip V hasarda tüm nöron gövdesi ve bağ dokusu kesintiye uğramıştır. Cerrahi onarım olmaksızın iyileşme mümkün değildir.

ARTESUNAT

Artesunat, *Artemisia annua* L. adlı bitkiden elde edilen artemisinin adlı antimalaryal ilacın suda çözünebilir yarı sentetik türevidir. *Artemisia annua* L.

geleneksel Çin tıbbında yüzyıllardır kullanılan bir bitkidir. Bundan 2000 yıl önce ilk kez antipiretik olarak kullanılmıştır [122].

1972 yılında Tu Youyou adlı Çinli bir araştırmacı tarafından *Artemisia annua* L. bitkisinden izole edilen artemisininin yıllar içerisinde çok sayıda yarı sentetik türevi (artesunate, arteether, artemether, artelinate, artemisitene, dihidroartemisinilester stereoizomer) geliştirilmiştir [123]. Artemisinin ve türevleri günümüzde serebral malarya ve klorokin dirençli *falsiparum* malarya tedavisinde en etkili ve güvenli seçenek olarak kabul edilmektedir [124-126]. Artemisinin aynı zamanda Dünya Sağlık Örgütü tarafından "malarya tedavisi için en iyi umut" olarak tanımlanmıştır [124, 125]. Bunun nedeni artemisininin etkin bir ilaç oluşu, nonrezistant karakteri ve minimal yan etkisidir. Antimalaryal aktivitesinin yanında antioksidan, antiinflamatuvar, antihelmintik, antiviral, antimikrobiyal ve antikanser özellikleri de mevcuttur [127-135].

Artemisinin ve türevlerinin anti-inflamatuvar ve immün regülatör etkileri mevcuttur [136]. Artesunatin sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit ve allerjik kontakt dermatitte etkili olduğu bildirilmiştir [33, 126, 137, 138]

Artemisinin ve türevleri anjiogenezi doz bağımlı olarak belirgin bir biçimde inhibe etmektedir ve vasküler endotelial büyüme faktörünün reseptörüne bağlanmasını azaltmaktadır [34]. Buna ek olarak artesunatin antiviral etkinlik gösterdiği de bildirilmiştir [139]. Artemisinin ve türevlerinin IL-2 üretimini baskıladığı, nitrik oksit sentaz ve NF-kB aktivasyonunu inhibe ettiği, bu yolla romatoid artritini sağaltımını sağlayabileceği ortaya konmuştur [140, 141].

Topikal artesunatin farelerin kulaklarında oluşturulan gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonunu belirgin bir biçimde baskıladığı bildirilmiştir. Artesunatin regülatör T hücrelerinin etkilerini NF-kB/p65 ve Smad2/3-bağımlı TGF- β yolağı üzerinden düzenleyebileceği ortaya konmuştur [142].

Artesunatin pro-inflamatuvar sitokinleri ve pro-inflamatuvar kemokinleri inhibe ederek fare aortunda ateroskleroz lezyonunun gelişim sürecini yavaşlatabildiği ortaya konmuştur. Artesunat bu etkisini TNF- α ve IL-6 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin ve

ardından MCP-1 ve IL-8 gibi pro-inflamatuar kemokinlerin ekspresyonunu azaltarak göstermektedir [32].

TAKROLİMUS

Takrolimus 1992'den beri transplantasyon sonrası allogreft reddini önlemek amacıyla kullanılan makrolid grubu immünsüpresif bir ilaçtır [15, 143]. İlk kez 1884'te *Streptomyces tsukubaensis* fermentasyon ürünü olarak ortaya çıkmıştır.

FK506'nın FK bağlayıcı proteine bağlanarak immün sistemi baskıladığı ve T hücre fonksiyonunu inhibe ettiği bilinmektedir. Ayrıca kalsinörin ve kalsiyum kalmodulin bağlı fosfatazı inhibe ederek immünsüpresyona aracılık etmektedir [18]. Kalsinörin inhibisyonunun primer biyolojik etkisi TNF α , IL-2 ve interferon- γ gibi inflammatuar sitokinlerin üretiminde azalmadır [19]. FK506'nın FKBP12 ve FKBP52 olmak üzere iki farklı reseptör tipi vardır. FKBP12 immünsüpresif etkiden sorumlu reseptörken, FKBP52 nörorejeneratif etkiyle ilişkilidir [18]. Takrolimusun sub-immünsüpresif dozlarının nöroprotektif ve nörorejeneratif etkinlik gösterdiğini bildiren çalışmalar mevcuttur [144].

Takrolimus NF-kB üzerinden etki ederek keratinositlerin TNF- α salınımını engellemektedir [145]. Bu etkileri nedeniyle topikal takrolimus dermatolojide atopik dermatit, psöriazis, pyoderma gangrenosum, alopesi areata, vitiligo ve eroziv liken planus gibi hastalıklarda denenmiş ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir [146].

Takrolimusun yüksek dozlarda nörotoksik etkisi olmasına rağmen, nöroprotektif ve nörotrofik karakteri olduğunu ve periferel sinir hasarında akson rejenerasyonu ve sinir iyileşmesine olumlu katkıda bulunduğunu bildiren pek çok çalışma mevcuttur. [24, 147-149].

Takrolimusun nonselektif etki mekanizması nedeniyle sistemik uygulamasının nefrotoksisite, hipertansiyon, hiperestezi, santral sinir sistemi toksisitesi, enfeksiyon, hiperglisemi, kas güçsüzlüğü ve gastrointestinal semptomlar gibi olumsuz etkileri vardır [15, 150-152].

Lokal ve sistemik FK506 uygulamasının periferel sinir rejenerasyonunu ve fonksiyonel iyileşmeyi destekleyebileceği gösterilmiştir [25, 148]. *In vivo* ve *in vitro*

deneysel modellerde FK506'nın nörotrofik etki gösterdiği, nörit uzamasını arttırdığı ve sinir rejenerasyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir [20]. FK506 skar formasyonunu azaltarak periferik sinir rejenerasyonunu desteklemektedir [23]. FK506'nın skar formasyonunu azaltma mekanizma ile ilgili bilgiler çok sınırlıdır. Önceki çalışmalarda FK506-FKBP12 etkileşiminin, büyüme konisi ilişkili protein GAP-43'ün nöronal ekspresyonunda artışa neden olarak nöroregeneratif etki gösterebileceği bildirilmiştir [153].

Takrolimusun spesifik ve nonspesifik enflamasyonu azaltmak, kan sinir bariyerinin tamirini hızlandırmak, kalsiyum modülasyonu, sinir büyüme konisinin stimülasyonu, aksonal rejenerasyonla ilgili sinyal transdüksiyon yolağı ve ikincil habercilerin modülasyonu gibi etkileri vardır [154, 155].

Takrolimusun predejenere sinir kaynaklı Schwann hücrelerinin proliferasyonunu stimüle ettiği ve transeksiyon uygulanmış sinirin distal kökünde meydana gelen myelin debrisini azalttığı bildirilmiştir [156]. FK506'nın hasar gören sinire infiltre olan makrofaj miktarını etkilemediği gösterilmiştir [153, 157]

DEKSAMETAZON

Kortikosteroidler vücutta adrenal korteksten salgılanan bir hormon olan kortizol benzeri steroid yapıda ilaçlardır. Antiinflamatuvar, antialerjik ve immünosupresif etkileri nedeniyle sık kullanılmaktadır. Kullanımları 1940'larda başlamıştır ve günümüze kadar pek çok türevi geliştirilmiştir.

Dört halkalı bir yapı olan siklopentanoperhidrofenantren iskeletinden türeyen maddeler için steroid deyimi kullanılır. Bu halkalar A,B, C, D olarak isimlendirilir. Steroid halka sisteminin çeşitli yerlerine metil veya etil grubu getirilerek androjenler, kortikosteroidler ve estrogenler gibi temel steroid türevleri oluşturulur.

Yapay kortikosteroidler başlarda kolesterol ve safra asitlerini başlangıç maddesi olarak kullanarak üretilmişlerdir fakat günümüzde çok daha basit başlangıç maddelerinden üretilmektedirler. Doğal glukokortikoidlerden farklı yapıda olan yeni steroidler sentezlemenin amacı bu ilaçların önemli yan etkilerinden olan su ve tuz tutulumunu en aza indirmektir. Yapay kortikosteroidler genellikle oral yolla

kullanılır ve mide bağırsak mukozasından kolayca emilir. En sık kullanılanları prednizon, prednizolon, triamsinolon, deksametazon, betametazon, beklometazon, flunisolid, budesoniddir.

Deksametazon florometilprednizolondur. Yapay glukokortikoidler içinde en yüksek antiinflamatuvar etkiye sahip olandır. Hedef organda hücre zarını geçerek sitoplazmaya girerler ve orada reseptör proteine bağlanırlar. Kortikosteroidlere özgü reseptör protein, estrojenik ve androjenik diğer steroid maddeleri bağlamaz. Kortikosteroid reseptör protein kompleksi hücre çekirdeğine girer ve orada kromatin ile birleşir. Ardından kendine özgü genleri etkileyerek ekspresyonunu artırır. Sonuçta hücrenin ribozomlarında belirli proteinlerin sentezi hızlanır. Hücre içi bu etkileşimden sonra hedef organ ve tüm vücut düzeyinde fizyolojik ve farmakolojik etkiler meydana gelir:

- Karbonhidrat metabolizması
- Protein metabolizması
- Yağ metabolizması
- Antiinflamatuvar etki
- İmmünosupresif etki
- Hematopoietik sistem
- Santral sinir sistemi
- Böbrekler
- Kalsiyum metabolizması
- Çizgili kaslar
- Strese karşı korunma
- Doğum eylemindeki etkiler
- ACTH salgılanmasının inhibisyonu ve korteks atrofisi

Konuyla alakalı olması nedeniyle antiinflamatuvar ve immünosupresif etkiden bahsetmek yerinden olacaktır

Antiinflamatuvar etki: Glukokortikoidler fizyolojik konsantrasyonların üzerinde akut iltihabı ve özellikle kronik iltihabı baskırlar. İltihap bağlı olduğu etken (mikroorganizma, kimyasal etkenler, mekanik etkenler, irradyasyon gibi)

gözetmeksizin baskılanır. İltihabın makroskopik belirtileri (rubor, dolor, kolor, tumor, fonksiyon kaybı) bu ilaçlarla ortadan kaldırılır. İltihabın erken fizyolojik belirtileri olan olayları (kapiller dilatasyon, damar çeperine fibrin çökmesi, serodiapedez ve lokal ödem, lökositlerin iltihap alanına migrasyonu ve fagositik etkinlik artması gibi) ve geç histolojik belirtilerini oluşturan olayları (fibrozis, kapillerlerin proliferasyonu, kollajen birikmesi ve nihayet nedbeleşme gibi) baskırlarlar.

İmmünoşüpresif etki: Glukokortikoidler immün lenfositlerin sayısını lenfolitik etkileri ile azaltırlar ve kalanların antijenle aktivasyonu sonucu meydana gelen ikincil olayları baskırlarlar. Yüksek dozlarda antikor sentezini azaltırlar.

Yukarıda bahsedilen hedef organ ve vücut düzeyindeki fizyolojik ve farmakolojik etkiler aslında aynı zamanda yan etkileri de açıklamaktadır. Glukokortikoidler özellikle yüksek dozda ve uzun bir süre kullanıldıklarında fazla sayıda ve ciddi yan etkiler meydana getirirler. Bunlar şu alt başlıklarda görülebilir [158] :

- İatrojenik Cushing Sendromu
- Psişik bozukluklar
- Peptik ülser oluşumu ve yara nedbeleşmesinde gecikme
- Enfeksiyon gelişmesinin kolaylaşması
- Ciltte atrofi
- Diabet oluşumu
- Myopati ve halsizlik
- Büyümenin şüpresyonu
- Ödem ve hipokalemi
- Oftalmolojik yan etkiler
- Kafa İçi Basınç Artışı Sendromu

- Ateroskleroz gelişmesinin hızlanması

Steroidlerin temel amacı postoperatif ödemi azaltmaktır. Bu ilaçlar inflamatuvar cevabı inhibe ederler ve bunun sonucunda makrofaj göçünü baskırlar [6]. Ratlarda oluşturulan sinir hasarı modelinde, fosfolipaz A2 ile yapılan immünhistokimyasal bir çalışmada, fosfolipaz A2'nin periferel sinirlerde meydana gelen wallerian dejenerasyondaki miyelin yıkımının erken safhalarına katıldığına dair bulgular elde edilmiştir [6]. Fosfolipaz A2 inflamatuvar ajanların üretiminde anahtar enzimdir [159]. Steroidler fosfolipaz A2 inhibisyonu yaparak antiinflamatuvar ajan olarak işlev görürler. Fosfolipaz A2 granüositlerin, mast hücrelerinin ve makrofajların degranülasyonunu önleyerek, makrofaj inhibitör faktörü baskılayarak, lizozomal ve diğer membranları stabilize ederek araşidonik asit salınımını inhibe eder [9].

Periferel sinir hasarı sonrası lipit peroksidasyonunun steroidler ile inhibisyonu, travma sonrası disfonksiyonu azaltmakta ve iyileşmeyi hızlandırmaktadır [160]. Lipit peroksidaz inhibitörlerinin aksotomi sonrası meydana gelen anterograd ve retrograd sinir dejenerasyonunu engellediği gösterilmiştir [9].

Deksametazon ve diğer kortikosteroidler NF- κ B inhibisyonu yaparlar [161]. Deksametazonun, IL-10 gibi antiinflamatuvar mediatör up-regüleasyonu ve IL-8, IL-5, IL-25 gibi inflamatuvar mediatör down-regülasyonu yaptığı bilinmektedir [162]. Ayrıca deksametazon antiinflamatuvar fonksiyonlara sahip anti-aging bir protein olan ve I κ B α ile karşılıklı etkileşimi bulunan Klotho'yu artırır [163]. Nazal mukoza, hava yolu epiteli ve bazı organ hastalıklarında anti-NF- κ B fonksiyon varlığı gösterilmiştir [162-164]. Deksametazon NF- κ B'nin spesifik bir inhibitörü değildir. Ratlarda inferior alveolar sinir hasarında deksametazon uygulamasının NF- κ B inhibisyonu yaparak sinir rejenerasyonunu arttırdığı bildirilmiştir [165].

Glukokortikoid uygulaması Schwann hücrelerini aktive ederek miyelin kılıfın bozunmasını, aksonal dejenerasyonu ve miyelin kılıfın yeniden şekillenmesini hızlandırmaktadır [166]. Glukokortikoidlerin Schwann hücre mitojenlerinin etkinliğini arttırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur [167].

Çalışmada topikal uygulama amacıyla deksametazon seçilmesinin nedenleri yüksek potensi, göreceli olarak uzun yarı ömrü ve lokal etkinliğinin bilinmesidir. İlaç sinir hasarını takiben meydana gelen akut enflamasyon sırasında uygulanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada ağırlıkları 300 gram olan 36 adet Wistar tipi dişi rat kullanıldı. Hayvan 12 saat gece 12 saat gündüz döngüsünde, $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ 'lik ortamda bulunduruldu. Standart rat yemi ve suyla ad libitum besleme yapıldı. Ratlar altılı gruplar halinde plastik tabanlı tel kafeslerde muhafaza edildi.

Cerrahi işlemler 40-50 mg/kg Ketamine-HCL (Alfamine) ve 2-5 mg/kg Ksilazin-HCL (Alfazyne) kullanılarak oluşturulan anestezi altında gerçekleştirildi. İşlem öncesinde hayvanlar prone pozisyonu verilerek özel tespit tahtasına sabitlendi. Grupların hepsinde sağ alt ekstremitte cerrahi işlem için kullanıldı, sol alt ekstremitte ise kontrol grubu olarak korundu. Tüm cerrahi işlemler aynı cerrah tarafından standart teknikler kullanılarak gerçekleştirildi.

Cerrahi işlemlerde sham grubunda siyatik sinir diseke edilip kas ve deri kapatıldı. Diğer beş grupta siyatik sinire forseps kullanılarak 30 saniye kompres yapıldı. Daha sonra her birine salin, takrolimus, deksametazon ve artesunate emdirilmiş jelatin sünger siniri saracak şekilde yerleştirilip kas ve deri kapatıldı.

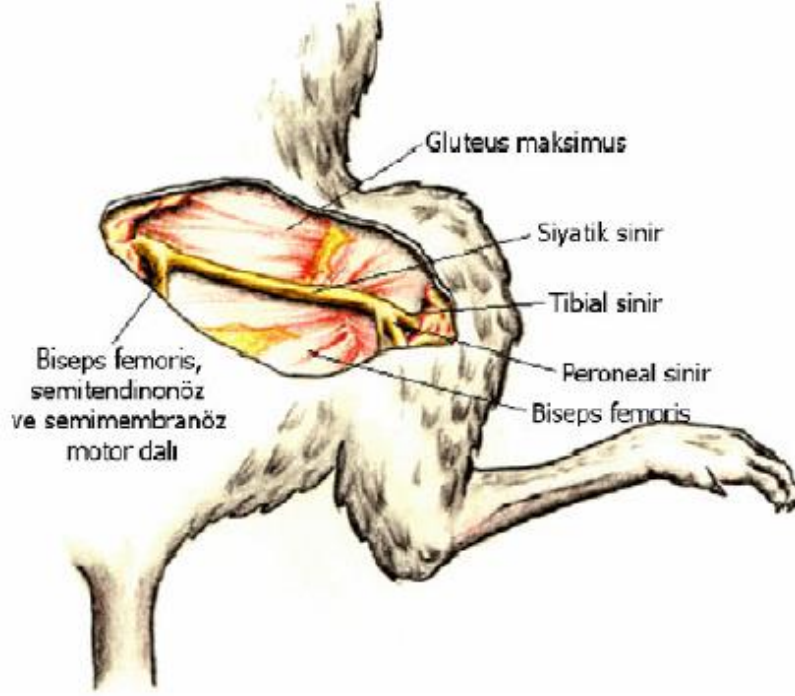
Cerrahi işlemden 12 hafta sonra ratlara SFI(siyatik fonksiyon indeksi) ve EMG ölçümü yapıldı. Siyatik sinir histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelendi. İşlem tamamlandıktan sonra eter ile ötenazi gerçekleştirildi.

Siyatik Sinir Anatomisi

Siyatik sinir L₄,L₅,L₆ ve S₁'den gelen spinal sinirler tarafından oluşturulan lumbo-sakral turunkustan çıkar ve rattaki periferik sinirler içinde en kalın olanıdır. Değişkenlik gözlenmekle birlikte L₅,L₆ ve S₁'den kaynaklanan liflerin birleşmesiyle oluşur [168].

Pelvis içerisinde siyatik sinir adını alıp iskiyumun dorsal kenarı ile kuyruk sokumu arasındaki derin olukta ilerler ve siyatik çentikten çıktıktan sonra piriform

kasın ventralinde gözlenir. Sırt derisinin yaklaşık yarısını ve arka bacak kaslarının çoğunun innervasyonundan sorumludur. Siyatik sinirin ana gövdesi, piriform kas seviyesinin 1-2 mm aşağısında kuadratus femoris kasının üzerinden ilerleyerek abduktor femoris fasyasının üzerinde oblik olarak bacağa doğru iner [168].



Şekil 3. Rat siyatik sinir anatomisi (Koyuncu Y. Rat siyatik sinirinde oluşturulan kompresyon hasarına çinko aspartatın etkisinin araştırılması. Uzmanlık Tezi. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, S: 19, 2009)

Piriformis seviyesinde siyatığın ana gövdesiyle birlikte çıkan ince bir dalcık ventrale doğru kuadratus femorisin altından geçer ve biceps femoris, semitendinöz ve semimembranöz kasların motor innervasyonunu sağlar [168]

Siyatik sinir diz eklemi seviyesinin yaklaşık yarım cm üzerinde tibial sinir ve peroneal sinir dallarına ayrılır. Peroneal sinir aşağıya doğru gastrokinemiusun lateral karnını ve derin parmak fleksörlerini çaprazlar ve önce ince peroneus longus dalını verir ve sonra yüzeysel ve derin peroneal sinirlere ayrılarak sonlanır. Yüzeysel dal peroneus longus ve brevis kaslarını ve parmak ekstensorlarını innerve eder ve ayak sırtı ve parmakların bir kısmının duyusunu sağlar. Derin dal ise tibialis anterior ve uzun parmak ekstensorlarının innervasyonunu sağlayarak ikinci parmak arası bölgeye ulaşır. Ventrale doğru uzanan tibial sinir ise, ilk dalı olan sural siniri, ayırım

noktasının 1-2 mm distalinde popliteaya girmeden hemen önce gastrokinemiusun iki başı arasında verir ve plantaris, soleus, gastrokinemiuslar, fleksor hallucis longus, fleksor digitorum longus ve tibialis posteriorları innerve eder. Bu dallardan sonra lateral ve medial plantar sinirlere ayrılarak sonlanır [168]

Çalışma Grupları

Cerrahi işlemler 36 adet sıçanda 6 farklı grup oluşturularak gerçekleştirildi.

Grup 1: Sham kontrol (n=6). Eksternal sirkumferensiyel nöroliz uygulanan grup

Grup 2: Kontrol (n=6). Forseps ile 1 dakika kompres uygulanan ardından jelatin süngere emdirilmiş salin uygulanan grup

Grup 3: Deney grubu (n=6). Forseps ile 1 dakika kompres uygulanan ardından jelatin süngere emdirilmiş vazelin uygulanan grup

Grup 4: Deney grubu (n=6). Forseps ile 1 dakika kompres uygulanan ardından jelatin süngere emdirilmiş %8'lik artesunate uygulanan grup

Grup 5: Deney grubu (n=6). Forseps ile 1 dakika kompres uygulanan ardından jelatin süngere emdirilmiş 10 ng/ml takrolimus uygulanan grup

Grup 3: Deney grubu (n=6). Forseps ile 1 dakika kompres uygulanan ardından jelatin süngere emdirilmiş 2 mg/kg deksametazon uygulanan grup

Cerrahi Teknik

Ratlarda 40-50 mg/kg Ketamine-HCL (Alfamine) ve 2-5 mg/kg Ksilazin-HCL (Alfazyne) kullanılarak anestezi oluşturuldu. Ratlar prone pozisyonda tespit edildi. Ratların gluteal ve uyluk bölgeleri tıraş edildikten sonra %10'luk povidon iyot çözeltisiyle temizlendi. Sağ alt ekstremitede kalça eklemi katlantısını izleyecek oblik gluteal alanda insizyon yapıldı, biceps femoris kası künt bir şekilde diseke edilerek siyatik sinir açığa çıkarıldı.



A



B

Resim 1. Siyatik sinir diseksiyonu A) Operasyon bölgesinin hazırlanması ve işaretlenmesi
B) Biceps femoris diseksiyonu ile siyatik sinirin açığa çıkarılması

Siyatik sinir ince uçlu bir diseksiyon makası yardımıyla, siyatik çentikten popliteal alandaki dallanma bölgesine kadar çevre dokulardan serbestleştirildi. Daha sonra siyatik sinire forseps yardımıyla 30 saniye boyunca kompresyon yapıldı. Grup 1 hariç diğer tüm gruplara aynı işlemler uygulandı.



Resim 2. Siyatik sinire kompresyon uygulandıktan sonraki görünüm

Grup 1: Sham grubu (n=6): Bu grupta siyatik sinir diseke edildi, ek bir cerrahi işlem uygulanmadı.

Grup 2: Kontrol grubu (n=6): Siyatik sinir diseke edildikten sonra 1 dakika boyunca forseps yardımıyla kompresyon uygulandı. Daha sonra sinir üzerindeki kompresyon alanı salin emdirilmiş jelatin sünger ile sarıldı.

Grup 3: Kontrol grubu (n=6): Siyatik sinir diseke edildikten sonra 1 dakika boyunca forseps yardımıyla kompresyon uygulandı. Daha sonra sinir üzerindeki kompresyon alanı vazelin emdirilmiş jelatin sünger ile sarıldı.

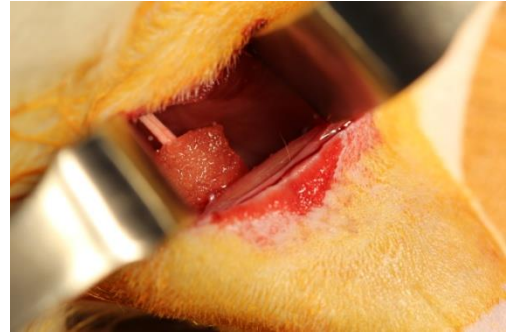
Grup 4: Kontrol grubu (n=6): Siyatik sinir diseke edildikten sonra 1 dakika boyunca forseps yardımıyla kompresyon uygulandı. Daha sonra sinir üzerindeki kompresyon alanı %8'lik artesunate emdirilmiş jelatin sünger ile sarıldı.

Grup 5: Kontrol grubu (n=6): Siyatik sinir diseke edildikten sonra 1 dakika boyunca forseps yardımıyla kompresyon uygulandı. Daha sonra sinir üzerindeki kompresyon alanı 10 ng/ml takrolimus emdirilmiş jelatin sünger ile sarıldı.

Grup 6: Kontrol grubu (n=6): Siyatik sinir diseke edildikten sonra 1 dakika boyunca forseps yardımıyla kompresyon uygulandı. Daha sonra sinir üzerindeki kompresyon alanı 2 mg/kg deksametazon emdirilmiş jelatin sünger ile sarıldı.



A



B

Resim 3. Hasarlı bölgeye ilaç uygulaması A) İlaç emdirilmiş jelatin sünger B) Jelatin süngerin hasarlı sinir bölgesine tatbiki

Tüm deneklerde, cerrahi işlemlerin tamamlanmasının ardından, kaslar 4/0 vicryl, cilt ise 4/0 ipek suture ile kapatıldı.



A



B

Resim 4. Operasyon bölgesinin suture edilmesi A) Kasların suture edilmesi B) Cildin suture edilmesi

İlaç Uygulaması

Deneye dahil olan ratlara üç farklı ilaç uygulaması yapıldı

Artesunate (Sigma Aldrich St. Louis, MO, USA) %8

Takrolimus (Prograf®, Astellas Pharma) 10 ng/ml

Deksametazon (Dekort®, Deva İlaç, Türkiye) 2 mg/kg



A



B

Resim 5. Çalışmada kullanılan ilaçlar A) Deksametazon B) Takrolimus

Li ve ark. yaptıkları çalışmada farelerin kulaklarında gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonu oluşturmuş ve daha sonra % 2, %4 ve %8 konsantrasyonlardaki artesunat uygulamasının hipersensitivite reaksiyonunu belirgin bir biçimde baskıladığını bildirmişlerdir [142].

Mekaj ve ark. takrolimus ve hyalüronik asidin perinöral skar formasyonu ve sinir rejenerasyonuna etkisini araştırdıkları çalışmalarında, orijinal ampülünde 5 mg/ml takrolimus bulunan Prograf® isimli ilacı iki kez dilüe ederek 10 ng/ml konsantrasyona ulaşmışlardır. Çalışmanın sonucunda takrolimus ve hyaluronik asidin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında skar formasyonu ve sinir rejenerasyonunda olumlu etkiye sahip oldukları gösterilmiştir [169].

Süslü ve ark. rat siyatik sinir hasarında sistemik ve topikal deksametazon uygulamasının etkisini karşılaştırdıkları çalışmalarında jelatin süngere emdirilmiş 2 mg/kg deksametazonun intraperitoneal uygulanan 2 mg/kg deksametazondan daha etkili olduğunu ortaya koymuşlardır [170]

DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ

Genel Değerlendirme

Çalışma süresinde değerlendirmeye alınan hayvanlarda gözlenen genel değişiklikler belirlendi.

Fonksiyonel Değerlendirme

Çalışmadaki ratlar yürüme analizi ve elektromiyografi kullanılarak fonksiyonel olarak değerlendirildi. Yürüme analizi ile postoperatif siyatik fonksiyon indeksi (SFİ) değerleri hesaplandı.

1. Yürüme Analizi ve SFİ

Hayvanlar yürüme analizi yapmak amacıyla bir tarafında karanlık bir kutu olan 15 cm x 50 cm boyutlarında bir düzeneğe koyuldu. Düzeneğin tabanı uygun ölçülerde kesilmiş beyaz A4 kağıdı ile döşendi. Daha sonra sıçanların arka ayakları mürekkeple boyandı ve hazırlanan kulvarda yürütölerek ayak izleri kaydedildi.

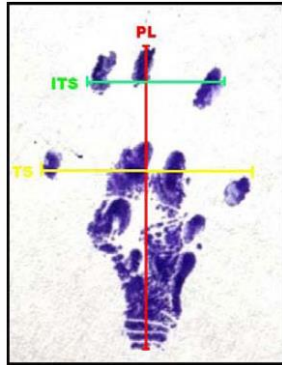


A

B

Resim 6. Yürüme Analizi A) Sıçanların ayaklarının boyanması B) Yürüme analizinde kullanılan düzenek

Kağıttaki en belirgin ayak izleri kullanılarak topuk ve parmak ucu arasındaki mesafe [print length (PL)], birinci ve beşinci parmaklar arasındaki mesafe [toe spread (TS)], ikinci ve dördüncü parmaklar arasındaki mesafe [intermediate toe spread (IT)] milimetrik cetvel ile ölçüldü (Şekil 1). Ölçümlerin sonuçları siyatik fonksiyon indeks skalasına uyarlandı. Bain, Mackinnon ve Hunter tarafından geliştirilen formül yardımıyla Siyatik Fonksiyon indeksleri (SFİ) hesaplandı (Şekil 2).



Şekil 4. Siyatik fonksiyon indeksi. PL(print length), TS (toe spread), ITS (intermediate toe spread)

$$SFİ = \frac{(EPL - NPL)}{NPL} + 109,5 \frac{(ETS - NTS)}{NTS} + 13,3 \frac{(EIT - NIT)}{NIT} - 8,8$$

Şekil 5. Siyatik fonksiyon indeksinin hesaplanması için kullanılan formül

2. Elektromiyografik değerlendirme

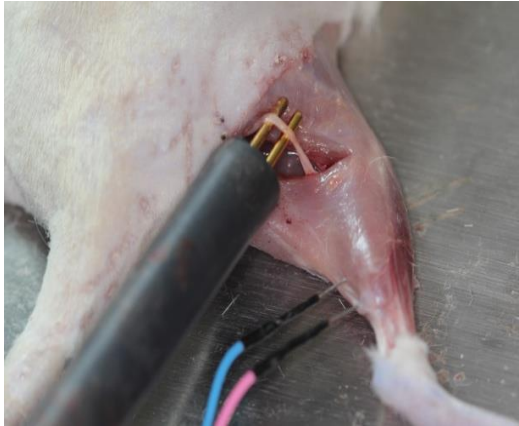
Cerrahi işlemden dört hafta sonra yürüme analizlerinin ardından tüm ratlara EMG ölçümü yapıldı. İşlem öncesi anestezi 50 mg/kg Ketamine-HCL (Brema®) ile sağlandı. EMG ölçümleri PowerLab 26T cihazı ve LabChart EMG yazılımı (ADInstruments, Sydney, Australia) kullanılarak gerçekleştirildi. İlk cerrahi işlemde olduğu gibi siyatik sinir çevre dokulardan serbestleştirildi ve kompresyon uygulanmış alan bulundu. Ratın sakral bölgesine iğne elektrod topraklama olarak yerleştirildi. İşlemler ratların vücut sıcaklığını korumak amacıyla ısıtıcı üzerinde gerçekleştirildi.



A



B



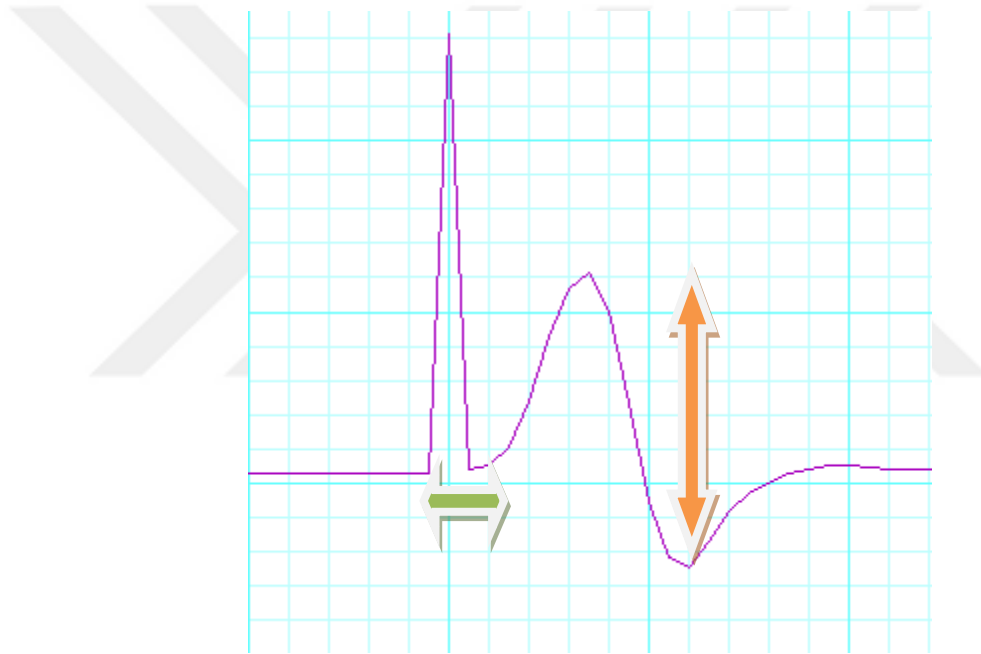
C



D

Resim 7. EMG ölçümü A) Ratın EMG ölçümü amacıyla ısıtıcı üzerinde pozisyonlandırılması B) Aktif ve referans elektrotların gastrokinemius kası içine yerleştirilmesi C) Bipolar elektrot yardımıyla sinire uyarı verilmesi D) EMG ölçümü için oluşturulan düzenek

Sinir uyarımları siyatik sinirde oluşturulmuş kompresyon hattının 1 cm proksimalinden bipolar elektrotlar ile yapıldı. Kayıtlar aktif elektrot ve referans elektrot ile alındı. EMG kayıtları, 1 miliamper akım aralığında, akım hızı %0 ile %100 arasında arttırılıp azaltılarak her bir hayvan için supramaksimal uyarı eşikleri bulunduktan sonra alındı. Sağ ve sol siyatik sinire uygulanan elektrotlar ile gastrokinemius kasının maksimum büyüklükte birleşik kas aksiyon potansiyeli (CMAP) ölçüldü. Oluşan aksiyon potansiyeli eğrilerinde uyarının verildiği andan defleksiyonun başladığı ana kadar geçen süre, yani latans değerleri ve oluşan potansiyelin tepe-tepe amplitüd değerleri ölçüldü. Daha sonra bu değerler opere bacak/normal bacak olarak oranlandı ve sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.



Şekil 6. EMG dalgası. Yatay ok latansı, dikey ok tepe-tepe amplitüdünü göstermekte

3. Sinirlerin Histolojik Değerlendirilmesi

Makroskopi

Siyatik sinirde meydana gelen makroskopik değişiklikler belirlendi. Çevre dokulara yapışıklık ve kompresyon hattında skar varlığı değerlendirildi.

Mikroskopi ve Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik inceleme için alınan örnekler skar dokusundaki kollajenleri izlemek amacıyla masson trikrom ile boyandı. Sinir iyileşme bölgesindeki fibroblast sayımı x40 büyütmede yapıldı. Kesitlerde gözlenen fibrozis miktarı 0 normal, 1 minimal, 2 orta, 3 ileri ve 4 çok ileri olacak şekilde skorlandı. Hematom ve enflamasyon ise 0 yok, 1 az, 2 orta ve 3 çok olacak şekilde skorlandı.

İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen tüm verilerin istatistiksel analiz SPSS 22.0 kullanılarak yapıldı (Statistical Package for Social Sciences - Version 22.0, SPSS, Chicago, ABD). Normal dağılım gösteren değişkenler için gruplar arasındaki istatistiksel fark tek yönlü ANOVA analizi ile tespit edilirken, grupların ikili karşılaştırması için Bonferroni testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenler için gruplar arasındaki istatistiksel fark Kruskal-Wallis testi ile tespit edilirken, grupların ikili karşılaştırması için Mann Whitney U testi kullanıldı. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

GENEL DEĞERLENDİRME BULGULARI

Deksametazon grubunun tamamında, artesunat grubunda üç hayvanda, salin ve vazelin grubunda iki hayvanda otokanibalizasyon-mutilasyon gözleendiği için siyatik fonksiyon indeksi ölçümü yapılamadı. Takrolimus ve vazelin grubundan birer hayvan deneyi tamamlayamadan kaybedildi. Deksametazon grubunda EMG ölçümü amacıyla ikinci kez opere edilen bir ratta siyatik sinirde devamlılık kaybı olduğu görüldü ve EMG ölçümü ve histopatolojik inceleme gerçekleştirilemedi. Sham grubunda histopatolojik kesit hazırlama sırasında meydana gelen bir sorundan dolayı bir hayvanın histopatolojik incelemesi gerçekleştirilemedi. Artesunat ve vazelin grubunda birer hayvan anestezi sırasında kaybedildiği için EMG ölçümü yapılamadı. Ratların opere bacaklarında kontrol bacakla mukayese edildiğinde belirgin kas atrofisi görüldü.



Resim 8. Otokanibalizasyon davranışı sonucu ekstremitede meydana gelen deformasyon



Resim 9. Otokanibalizasyon davranışı sonucu ekstremitede meydana gelen deformasyon



Resim 10. Opere bacakta belirgin kas atrofisi

FONKSİYONEL DEĞERLENDİRME BULGULARI

Yürüme Analizi ve Siyatik Fonksiyon İndeksi Bulguları

Operasyondan dört hafta sonra deksametazon haricindeki bütün gruplara yürüme analizi yapıldı ve siyatik fonksiyon indeksi değerleri hesaplandı. Sham grubunda ortalama $-5,15 \pm 2,87$, salin grubunda ortalama $-37,7 \pm 11,03$, vazelin grubunda ortalama $-33,42 \pm 3,82$, artesunat grubunda ortalama $-14,95 \pm 10,78$ ve takrolimus grubunda ortalama $-10,96 \pm 3,13$ idi.

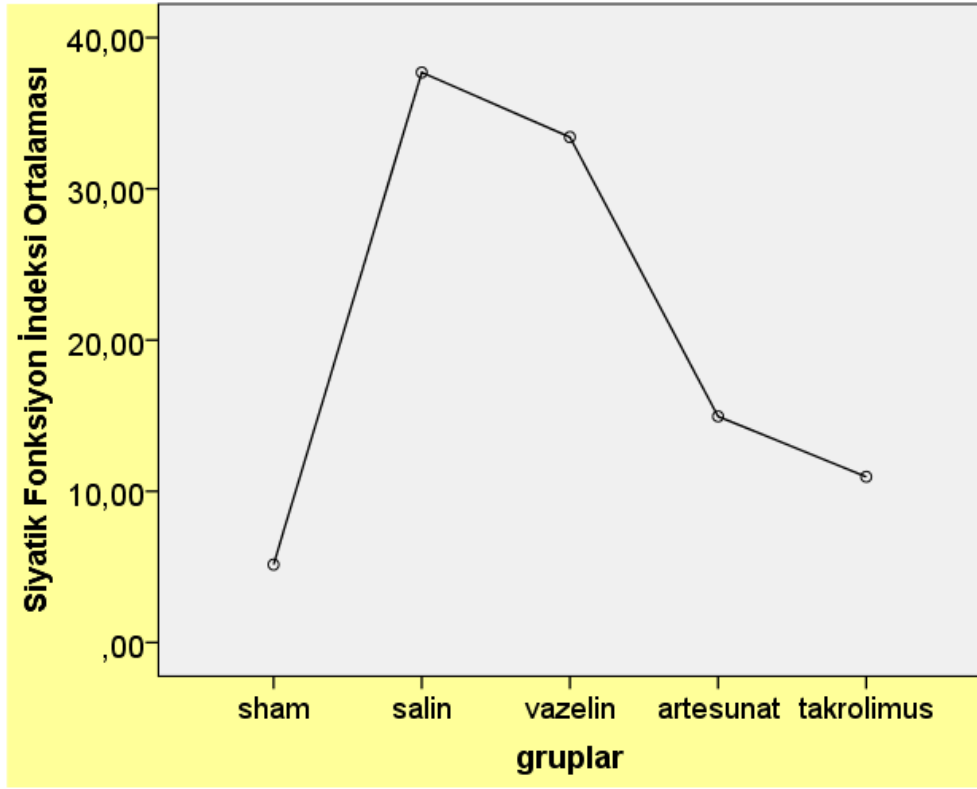
Tablo 1. Siyatik Fonksiyon İndeksi (SFI) Değerleri

Denek	Sham	Salin	Vazelin	Artesunat	Takrolimus
1	-8,8	-31,01	-33,55	-10	-16,31
2	-3,04	-26,13	-33,1	-27,31	-10
3	-2,5	-50	-28,84	-7,53	-8,8
4	-3,21	-43,66	-38,19		-8,68
5	-8,68				-11,01
6	-4,7				
Ort±SD	$-5,15 \pm 2,87$	$-37,7 \pm 11,03$	$-33,42 \pm 3,82$	$-14,95 \pm 10,78$	$-10,96 \pm 3,13$

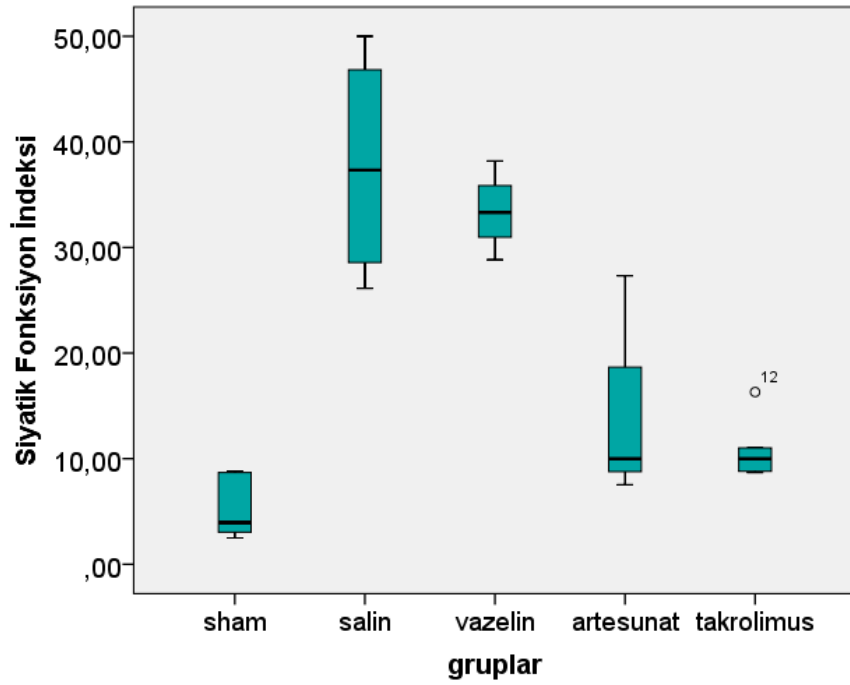
Bonferroni testi ile yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda sham grubunun siyatik fonksiyon indeksi değerleri vazelin ve salin grubundan istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$). Salin grubunun siyatik fonksiyon indeksi değerleri sham, artesunat ve takrolimus grubundan istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Vazelin grubunun siyatik fonksiyon indeksi değerleri sham, artesunat ve takrolimus grubundan istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Artesunat grubunun siyatik fonksiyon indeksi değerleri salin ve vazelin grubundan istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$). Takrolimus grubunun siyatik fonksiyon indeksi değerleri salin ve vazelin grubundan istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$). Artesunat, takrolimus ve deksametazon gruplarının siyatik fonksiyon indeksi değerleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p>0,05$)

Tablo 2. Siyatik fonksiyon indeksi değerlerinin Bonferroni testi ile karşılaştırılması

Gruplar		p değeri
Sham	Salin*	,000
	Vazelin*	,000
	Artesunat	,486
	Takrolimus	1,000
Salin	Sham*	,000
	Vazelin	1,000
	Artesunat*	,003
	Takrolimus*	,000
Vazelin	Sham*	,000
	Salin	1,000
	Artesunat*	,017
	Takrolimus*	,001
Artesunat	Sham	,486
	Salin*	,003
	Vazelin*	,017
	Takrolimus	1,000
Takrolimus	Sham	1,000
	Salin*	,000
	Vazelin*	,001
	Artesunat	1,000



Şekil 7. Siyatik Fonksiyon İndeksi Ortalamasının Gruplara Göre Dağılımı



Şekil 8. Siyatik Fonksiyon İndeksi (SFI) Değerlerinin Grafikselsel Gösterimi

Elektromiyografik Değerlendirme Bulguları

Dört haftanın sonunda yapılan EMG ölçümleri sonucu elde edilen latans ve amplitüd değerleri opere bacak/normal bacak olarak oranlandı. Gastrokinemius kası opere bacak/normal bacak kasılma latansı oranları sham grubunda ortalama $0,95\pm0,3$, salin grubunda ortalama $3,16\pm0,4$, vazelin grubunda ortalama $3,2\pm0,91$, artesunat grubunda ortalama $1,98\pm0,68$, takrolimus grubunda ortalama $2,19\pm0,29$ ve deksametazon grubunda ortalama $2,34\pm0,48$ olarak hesaplandı.

Tablo 3. Opere Bacak/Normal Bacak Latans Oranları

Denek	Sham	Salin	Vazelin	Artesunat	Takrolimus	Deksametazon
1	0,75	2,66	4	3	2	2,25
2	1,3	3,66	2,66	1,28	2	2,66
3	0,6	3	3	1,66	2,33	2
4	1,33	3	4	2,33	2,66	3
5	1	3		1,66	2	1,8
6	0,75	3,66				
Ort±SD	0,95±0,3	3,16±0,4	3,41±0,68	1,98±0,68	2,19±0,29	2,34±0,48

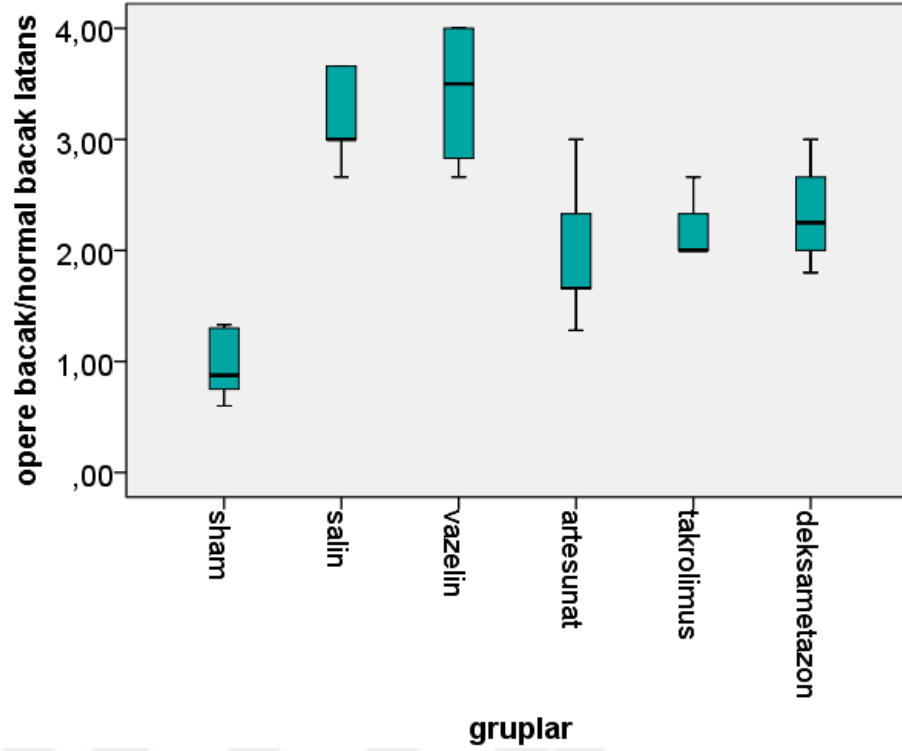
Mann Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda sham grubunun opere bacak/normal bacak latans değerleri salin, vazelin, artesunat, takrolimus ve deksametazon grubundan istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$). Salin grubunun opere bacak/normal bacak latans değerleri sham, artesunat, takrolimus ve deksametazon grubundan istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Vazelin grubunun opere bacak/normal bacak latans değerleri sham, artesunat, takrolimus ve deksametazon grubundan istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Artesunat grubunun opere bacak/normal bacak latans değerleri salin ve vazelin grubundan istatistiksel olarak düşük bulurken, sham grubundan istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Takrolimus grubunun opere bacak/normal bacak latans değerleri salin ve vazelin grubundan istatistiksel olarak düşük bulurken, sham grubundan istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Deksametazon grubunun

opere bacak/normal bacak latans deęerleri salin grubundan istatistiksel olarak dūřuk bulurken, sham grubundan istatistiksel olarak yūksek bulundu ($p<0,05$).



Tablo 4. Opere bacak/normal bacak latans değerlerinin Mann Whitney U testi ile karşılaştırılması

Gruplar		p değeri
Sham	Salin*	,002
	Vazelin*	,01
	Artesunat*	,017
	Takrolimus*	,004
	Deksametazon*	,004
Salin	Sham*	,002
	Vazelin	,61
	Artesunat*	,017
	Takrolimus*	,004
	Deksametazon*	,03
Vazelin	Sham*	,01
	Salin	,61
	Artesunat*	,032
	Takrolimus*	,016
	Deksametazon*	,063
Artesunat	Sham*	,017
	Salin*	,017
	Vazelin*	,032
	Takrolimus	,421
	Deksametazon	,310
Takrolimus	Sham*	,004
	Salin*	,004
	Vazelin*	,016
	Artesunat	,421
	Deksametazon	,841
Deksametazon	Sham*	,004
	Salin*	,03
	Vazelin	,063
	Artesunat	,310
	Takrolimus	,841



Şekil 9. Opere Bacak/Normal Bacak Latans Oranlarının Grafiksel Gösterimi

Gastrokinemius kası opere bacak/normal bacak kasılma amplitüdü oranları sham grubunda ortalama $0,97 \pm 0,17$, salin grubunda $0,17 \pm 0,12$, vazelin grubunda $0,16 \pm 0,03$, artesunat grubunda $0,36 \pm 0,2$, takrolimus grubunda $0,34 \pm 0,18$ ve deksametazon grubunda $0,45 \pm 0,04$ olarak hesaplandı.

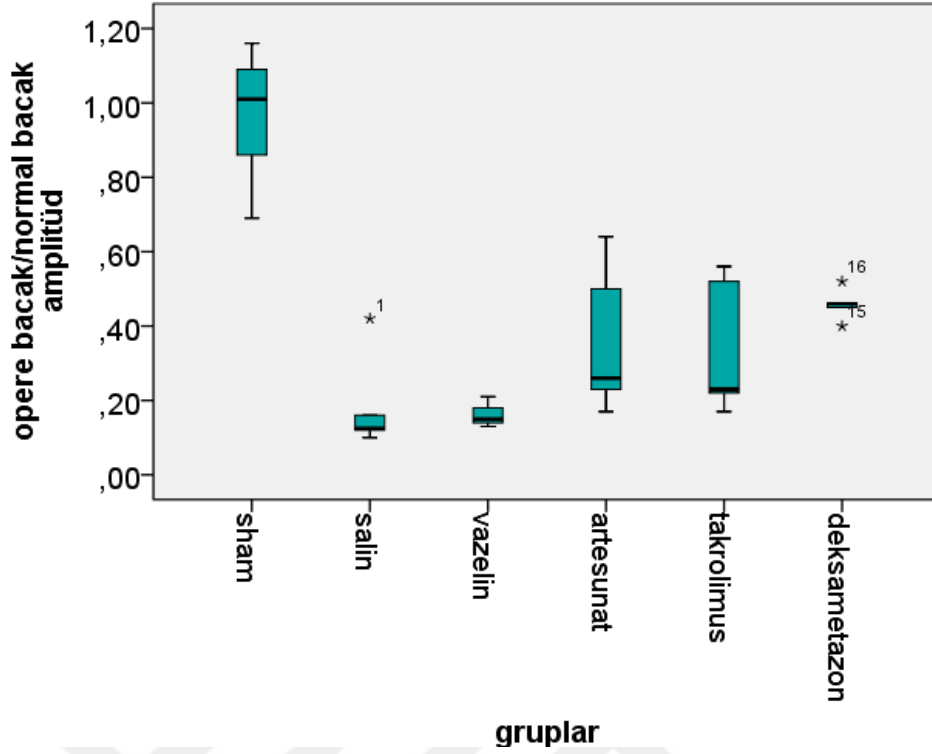
Tablo 5. Opere Bacak/normal Bacak Kasılma Amplitüdü Oranları

Denek	Sham	Salin	Vazelin	Artesunat	Takrolimus	Deksametazon
1	0,96	0,42	0,15	0,17	0,17	0,46
2	1,16	0,12	0,15	0,5	0,22	0,45
3	0,69	0,12	0,21	0,64	0,56	0,46
4	1,09	0,13	0,13	0,26	0,52	0,4
5	1,06	0,1		0,23	0,53	0,52
6	0,86	0,16				
Ort±SD	$0,97 \pm 0,17$	$0,17 \pm 0,12$	$0,16 \pm 0,03$	$0,36 \pm 0,2$	$0,34 \pm 0,18$	$0,45 \pm 0,04$

Mann Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda sham grubunun opere bacak/normal bacak amplitüd değerleri salin, vazelin, artesunat, takrolimus ve deksametazon grubundan istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Salin grubunun opere bacak/normal bacak amplitüd değerleri sham, artesunat, takrolimus ve deksametazon grubundan istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$). Vazelin grubunun opere bacak/normal bacak amplitüd değerleri sham, artesunat, takrolimus ve deksametazon grubundan istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$). Artesunat grubunun opere bacak/normal bacak amplitüd değerleri salin ve vazelin grubundan istatistiksel olarak yüksek bulurken, sham grubundan istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$). Takrolimus grubunun opere bacak/normal bacak amplitüd değerleri salin ve vazelin grubundan istatistiksel olarak yüksek bulurken, sham grubundan istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$). Deksametazon grubunun opere bacak/normal bacak amplitüd değerleri salin ve vazelin grubundan istatistiksel olarak yüksek bulurken, sham grubundan istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$).

Tablo 6. Opere bacak/normal bacak amplitüdü oranlarının Mann Whitney U testi ile karşılaştırılması

Gruplar		p değeri
Sham	Salin*	,002
	Vazelin*	,01
	Artesunat*	,004
	Takrolimus*	,004
	Deksametazon*	,004
Salin	Sham*	,002
	Vazelin	,352
	Artesunat*	,03
	Takrolimus*	,03
	Deksametazon*	,009
Vazelin	Sham*	,01
	Salin	,352
	Artesunat*	,032
	Takrolimus*	,032
	Deksametazon*	,016
Artesunat	Sham*	,004
	Salin*	,03
	Vazelin*	,032
	Takrolimus	,841
	Deksametazon	,548
Takrolimus	Sham*	,004
	Salin*	,03
	Vazelin*	,032
	Artesunat	,841
	Deksametazon	,548
Deksametazon	Sham*	,004
	Salin*	,009
	Vazelin*	,016
	Artesunat	,548
	Takrolimus	,548



Şekil 10. Opere Bacak/Normal Bacak Amplitüd Oranlarının Grafiksel Gösterimi

SİNİRLERİN HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRMESİ

Makroskopi

Vazelin ve artesunat dışındaki tüm gruplarda dört haftanın sonunda hasarlı sinir bölgesine uygulanan jelatin süngerin rezorbe olduğu görüldü. Vazelin ve artesunat uygulanan grupta jelatin süngerin rezorbe olmadığı ve sinire hafif yapışıklık gösterdiği gözlemlendi. Deksametazon uygulanan grupta bir ratta sinir devamlılığında bozulma görüldü.

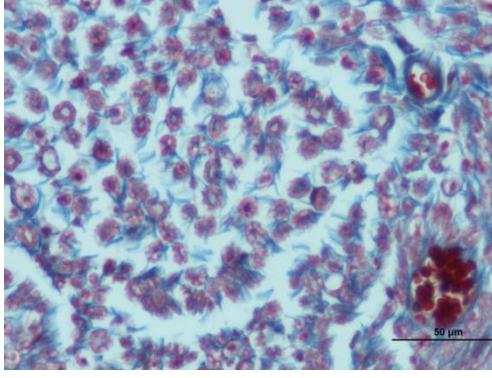
Fibrozis

Histolojik kesitlerdeki fibrozis miktarı 0 normal, 1 minimal, 2 orta, 3 ileri ve 4 çok ileri olacak şekilde skorlandı. Fibrozis skoru sham grubunda ortalama 0, salin grubunda ortalama $3,2 \pm 0,83$, vazelin grubunda ortalama $1,6 \pm 1,34$, artesunat grubunda ortalama $1,2 \pm 1,3$, takrolimus grubunda ortalama $0,75 \pm 0,5$ ve deksametazon grubunda ortalama $1,25 \pm 0,95$ olarak hesaplandı.

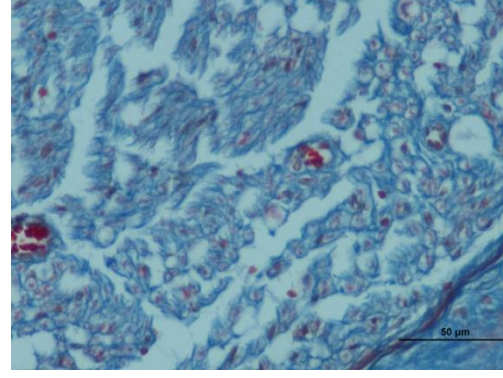
Tablo 7. Gruplara Göre Fibrozis Skorları

Denek	Sham	Salin	Vazelin	Artesunat	Takrolimus	Deksametazon
1	0	2	1	0	0	1
2	0	4	3	2	1	0
3	0	3	3	1	1	2
4	0	4	1	3	1	2
5	0	3		0		
6						
Ort±SD	0	3,2±0,83	1,6±1,34	1,2±1,3	0,75±0,5	1,25±0,95

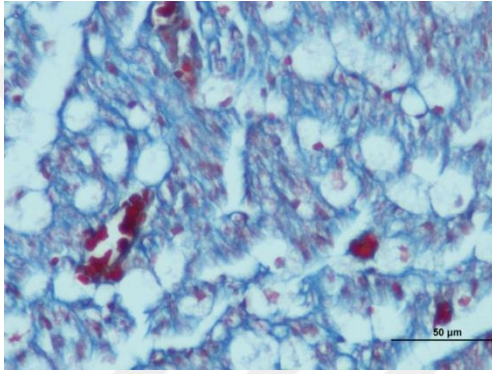
Mann Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu sham grubunun fibrozis değeri salin ve vazelin grubundan istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$). Salin grubunun fibrozis değeri sham, artesunat, takrolimus ve deksametazon grubundan istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Vazelin grubunun fibrozis değeri sham grubundan istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Artesunat grubunun fibrozis değeri salin grubundan istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$). Takrolimus grubunun fibrozis değeri salin grubundan istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$). Deksametazon grubunun fibrozis değeri salin grubundan istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$).



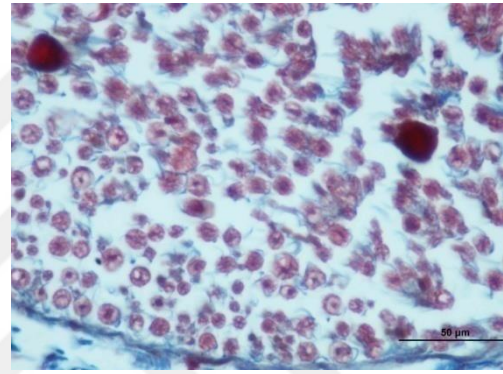
A



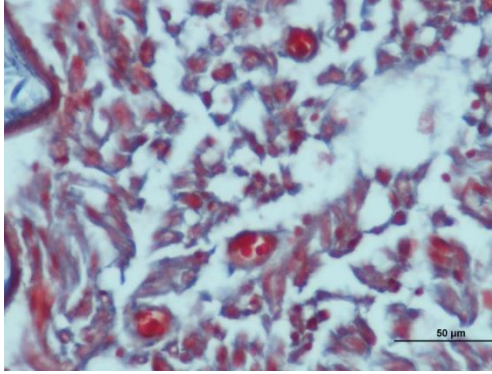
B



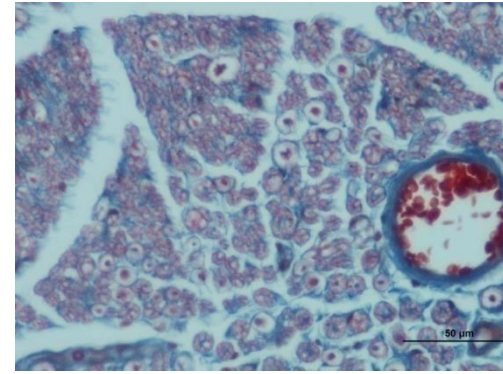
C



D



E

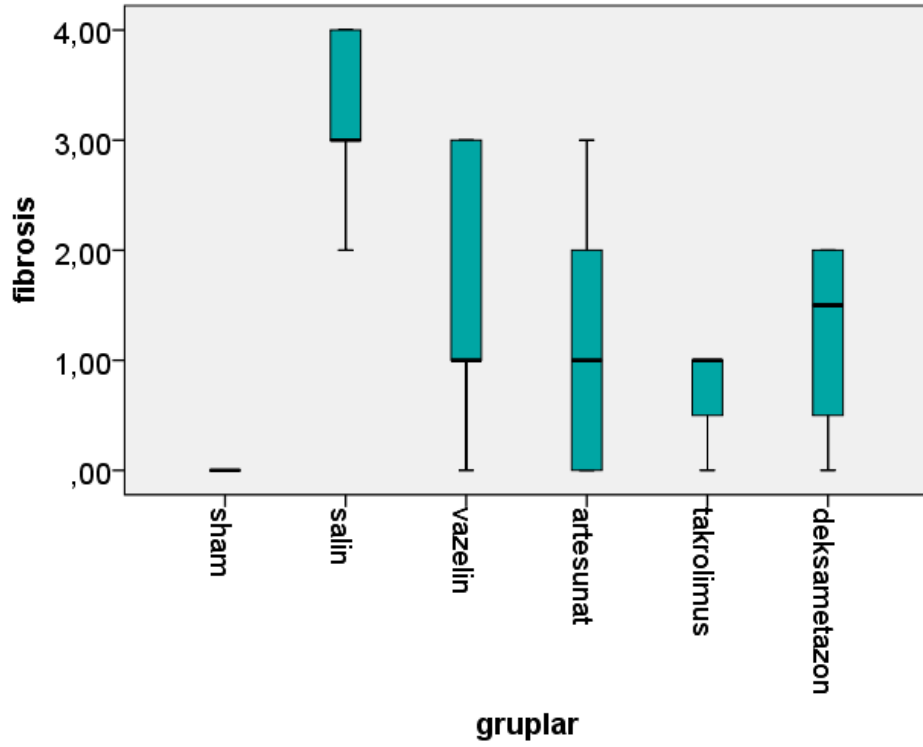


F

Resim 11. Histolojik kesitler A) Sham B) Salin C) Vazelin D) Artesunat E) Takrolimus F) Deksametazon. Salin ve vazelin grubunda, sham, artesunat, takrolimus ve deksametazon gruplarıyla karşılaştırıldığında fibrozis, fibroblast sayısı, enflamasyon ve hematon artışı dikkat çekmektedir.

Tablo 8. Fibrozis değerlerinin Mann Whitney U testi ile karşılaştırılması

Gruplar		p değeri
Sham	Salin*	,008
	Vazelin*	,032
	Artesunat	,151
	Takrolimus	,063
	Deksametazon	,063
Salin	Sham*	,008
	Vazelin	,095
	Artesunat*	,032
	Takrolimus*	,016
	Deksametazon*	,032
Vazelin	Sham*	,032
	Salin	,095
	Artesunat	,690
	Takrolimus	,413
	Deksametazon	,730
Artesunat	Sham	,151
	Salin*	,032
	Vazelin	,690
	Takrolimus	,730
	Deksametazon	,905
Takrolimus	Sham	,063
	Salin*	,016
	Vazelin	,413
	Artesunat	,730
	Deksametazon	,486
Deksametazon	Sham	,063
	Salin*	,032
	Vazelin	,730
	Artesunat	,905
	Takrolimus	,486



Şekil 11. Fibrosis Skorlarının Grafiksel Gösterimi

Fibroblast Sayısı

Histolojik kesitlerde gözlenen fibroblast sayısı sham grubunda ortalama $14,6 \pm 3,84$, salin grubunda ortalama $54 \pm 15,74$, vazelin grubunda ortalama $35,4 \pm 17,7$, artesunat grubunda ortalama $28,4 \pm 17,51$, takrolimus grubunda ortalama $18 \pm 8,67$, deksametazon grubunda ortalama $23,5 \pm 17,74$ olarak hesaplanmıştır.

Tablo 9. Gruplara Göre Fibroblast Sayıları

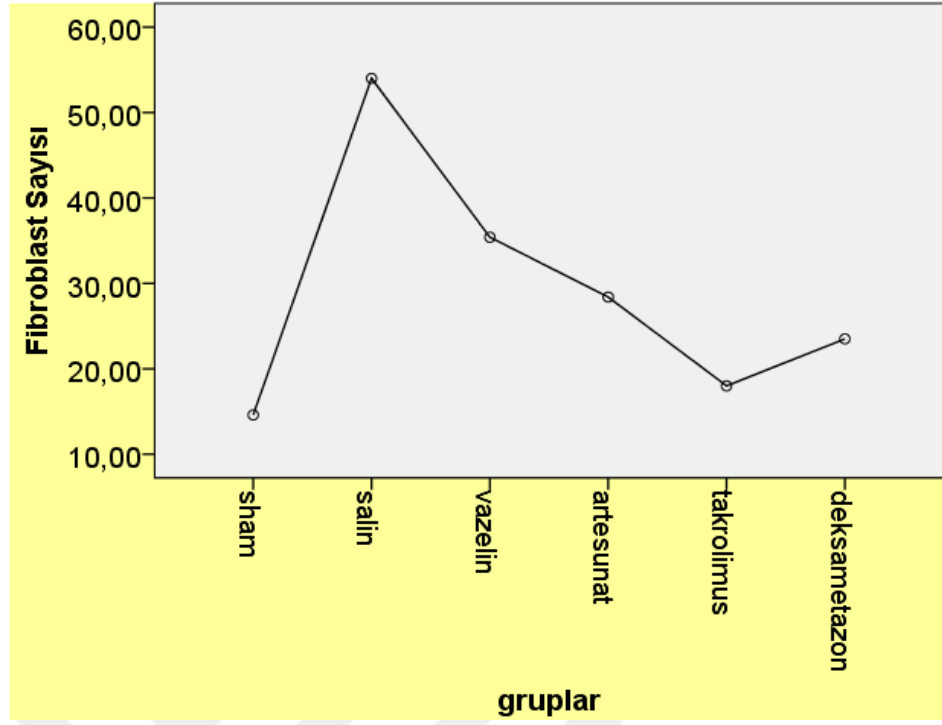
Denek	Sham	Salin	Vazelin	Artesunat	Takrolimus	Deksametazon
1	18	50	25	14	7	12
2	14	70	55	44	20	9
3	19	66	50	22	28	48
4	10	30	35	50	17	25
5	12	54		12		
6						
Ort±SD	14,6±3,84	54±15,74	35,4±17,7	28,4 ±17,51	18±8,67	23,5±17,74

Bonferroni testi ile yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu sham grubunda fibroblast sayısının salin grubundan istatistiksel olarak düşük olduğu bulundu ($p<0,05$). Salin grubunda fibroblast sayısının sham ve takrolimus grubundan yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bulunmadı ($p>0,05$).

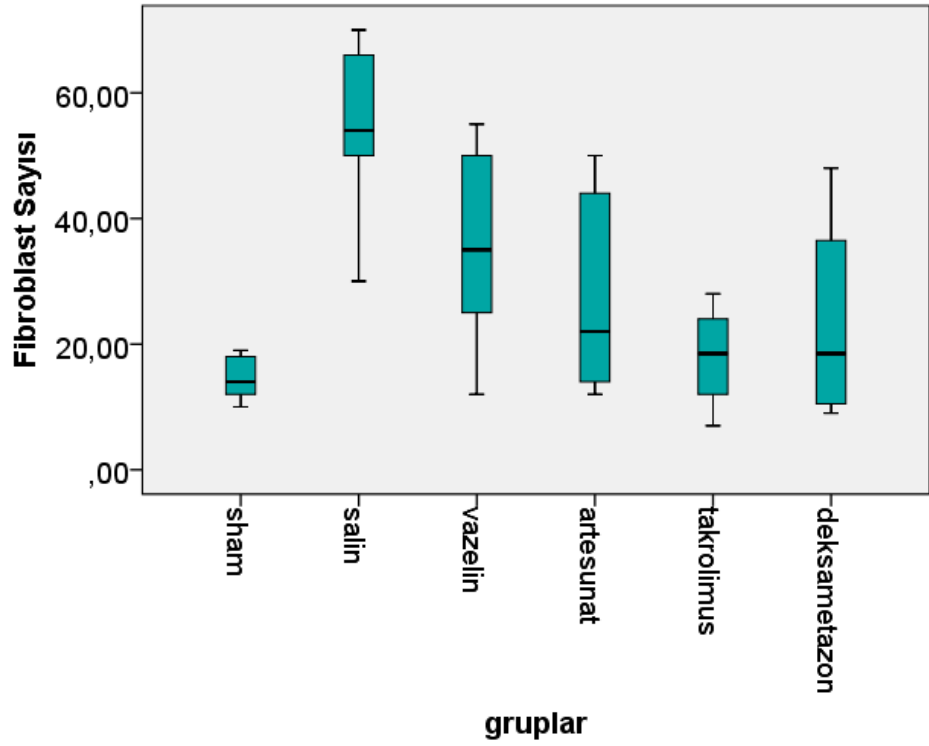


Tablo 10. Fibroblast sayısının Bonferroni testi ile karşılaştırılması

Gruplar		p değeri
Sham	Salin*	,005
	Vazelin	,522
	Artesunat	1,000
	Takrolimus	1,000
	Deksametazon	1,000
Salin	Sham*	,005
	Vazelin	,850
	Artesunat	,168
	Takrolimus*	,020
	Deksametazon	,077
Vazelin	Sham	,522
	Salin	,850
	Artesunat	1,000
	Takrolimus	1,000
	Deksametazon	1,000
Artesunat	Sham	1,000
	Salin	,168
	Vazelin	1,000
	Takrolimus	1,000
	Deksametazon	1,000
Takrolimus	Sham	1,000
	Salin*	,020
	Vazelin	1,000
	Artesunat	1,000
	Deksametazon	1,000
Deksametazon	Sham	1,000
	Salin	,077
	Vazelin	1,000
	Artesunat	1,000
	Takrolimus	1,000



Şekil 12. Fibroblast Sayısı Ortalamasının Gruplara Göre Dağılımı



Şekil 13. Fibroblast Sayısının Grafiksel Gösterimi

Enflamasyon

Histolojik kesitlerdeki enflamasyon miktarı 0 normal, 1 minimal, 2 orta, 3 ileri ve 4 çok ileri olacak şekilde skorlandı. Enflamasyon skoru sham grubunda ortalama 0, salin grubunda ortalama $2,4\pm0,54$, vazelin grubunda ortalama $1,6\pm1,34$, artesunat grubunda ortalama $1,2\pm0,44$, takrolimus grubunda ortalama $1\pm0,81$ ve deksametazon grubunda ortalama $1,25\pm0,95$ olarak hesaplandı.

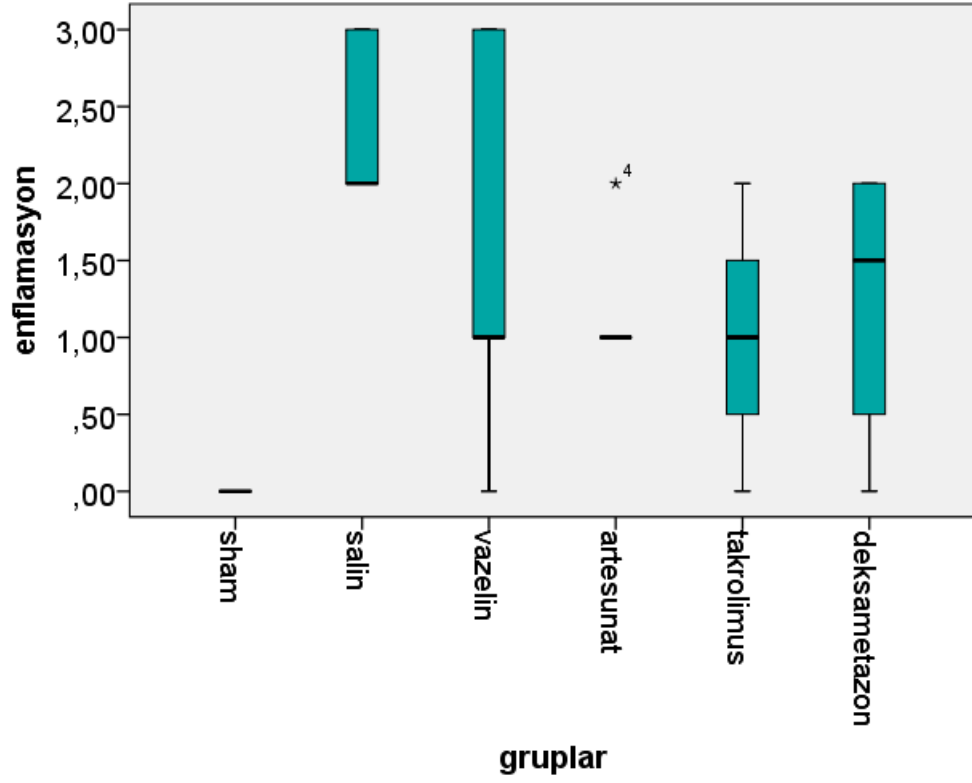
Tablo 11. Gruplara göre Enflamasyon Skorları

Denek	Sham	Salin	Vazelin	Artesunat	Takrolimus	Deksametazon
1	0	2	1	1	2	1
2	0	3	3	1	1	0
3	0	2	3	1	1	2
4	0	3	1	2	0	2
5	0	2		1		
6						
Ort±SD	0	$2,4\pm0,54$	$1,6\pm1,34$	$1,2\pm0,44$	$1\pm0,81$	$1,25\pm0,95$

Mann Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu sham grubunun enflamasyon skorunun salin, vazelin ve artesunat grubundan istatistiksel olarak düşük olduğu bulundu ($p<0,05$). Salin grubunun enflamasyon skorunun sham, artesunat ve takrolimus grubundan istatistiksel olarak yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). Vazelin grubunun enflamasyon skorunun sham grubundan istatistiksel olarak yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). Artesunat grubunun enflamasyon skorunun sham grubunda istatistiksel olarak yüksek, salin grubundan istatistiksel olarak düşük olduğu bulundu ($p<0,05$). Takrolimus grubunun enflamasyon skorunun sham grubundan istatistiksel olarak yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). Deksametazon grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 12. Enflamasyon derecesinin Mann Whitney U testi ile karşılaştırılması

Gruplar		p değeri
Sham	Salin*	,008
	Vazelin*	,032
	Artesunat*	,008
	Takrolimus	,063
	Deksametazon	,063
Salin	Sham*	,008
	Vazelin	,421
	Artesunat*	,016
	Takrolimus*	,032
	Deksametazon	,111
Vazelin	Sham*	,032
	Salin	,421
	Artesunat	,841
	Takrolimus	,556
	Deksametazon	,730
Artesunat	Sham*	,008
	Salin*	,016
	Vazelin	,841
	Takrolimus	,730
	Deksametazon	,905
Takrolimus	Sham	,063
	Salin*	,032
	Vazelin	,556
	Artesunat	,730
	Deksametazon	,686
Deksametazon	Sham	,063
	Salin	,111
	Vazelin	,730
	Artesunat	,905
	Takrolimus	,686



Şekil 14. Enflamasyon Skorunun Grafiks gösterimi

Hematom

Histolojik kesitlerdeki hematoma oluşumu 0 normal, 1 minimal, 2 orta, 3 ileri ve 4 çok ileri olacak şekilde skorlandı. Hematom skoru sham grubunda ortalama 0, salin grubunda ortalama $1 \pm 0,7$, vazelin grubunda ortalama $1,2 \pm 0,83$, artesunat grubunda ortalama $0,8 \pm 0,44$, takrolimus grubunda ortalama $0,25 \pm 0,5$ ve deksametazon grubunda ortalama 0 olarak hesaplandı.

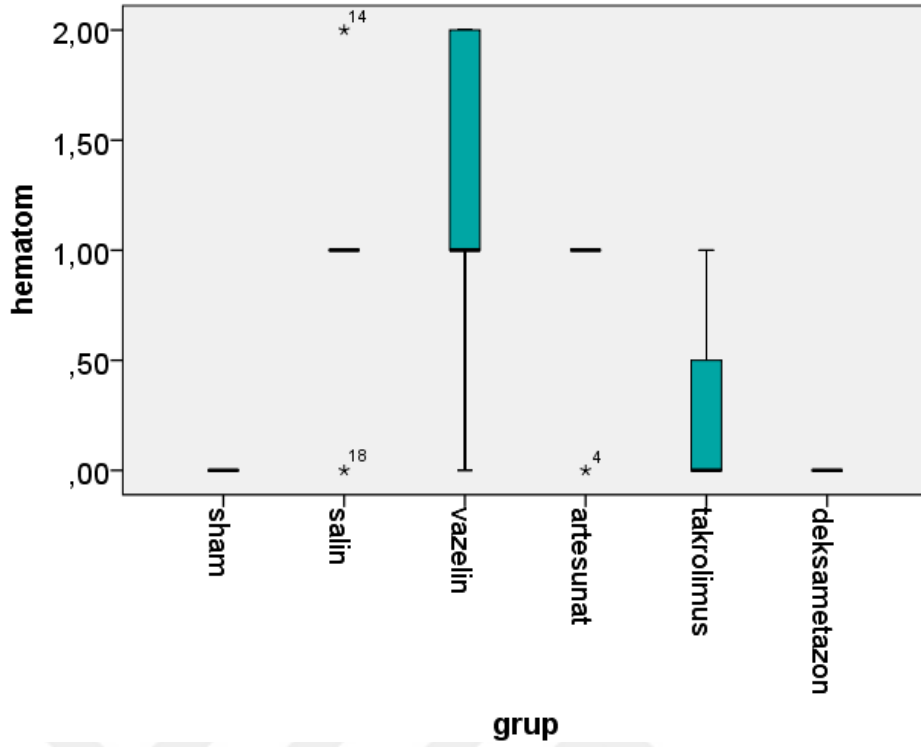
Tablo 13. Gruplara Göre Hematom Skorları

Denek	Sham	Salin	Vazelin	Artesunat	Takrolimus	Deksametazon
1	0	2	2	1	0	0
2	0	1	2	1	0	0
3	0	1	1	1	0	0
4	0	1	1	0	1	0
5	0	0	1	1		
Ort±SD	0	1±0,7	1,2±0,83	0,8±0,44	0,25±0,5	0

Mann Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu sham grubunun hematom skorunun salin, vazelin ve artesunat grubundan istatistiksel olarak düşük olduğu bulundu ($p<0,05$). Salin grubunun hematom skorunun sham grubundan istatistiksel olarak yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). Vazelin grubunun hematom skorunun sham grubundan istatistiksel olarak yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). Artesunat grubunun hematom skorunun sham grubundan istatistiksel olarak yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 14. Hematom derecesinin Mann Whitney U testi ile karşılaştırılması

Gruplar		p değeri
Sham	Salin*	,032
	Vazelin*	,032
	Artesunat*	,032
	Takrolimus	,566
	Deksametazon	1,000
Salin	Sham*	,032
	Vazelin	,690
	Artesunat	,690
	Takrolimus	,190
	Deksametazon	,063
Vazelin	Sham*	,032
	Salin	,690
	Artesunat	,421
	Takrolimus	,111
	Deksametazon	,063
Artesunat	Sham*	,032
	Salin	,690
	Vazelin	,421
	Takrolimus	,190
	Deksametazon	,063
Takrolimus	Sham	,556
	Salin	,190
	Vazelin	,111
	Artesunat	,190
	Deksametazon	,686
Deksametazon	Sham	1,000
	Salin	,063
	Vazelin	,063
	Artesunat	,063
	Takrolimus	,686



Şekil 15. Hematom Skorunun Grafiksel Gösterimi

Miyelinli Akson Çapı

Histolojik kesitlerde gözlenen miyelinli akson çapı Sham grubunda ortalama $8,33 \pm 0,51$, salin grubunda ortalama $3,56 \pm 0,35$, vazelin grubunda ortalama $5,55 \pm 0,53$, artesunat grubunda ortalama $6,14 \pm 1,93$ ve takrolimus grubunda ortalama $5,87 \pm 1,48$ deksametazon grubunda ortalama $4,8 \pm 1,07$ idi.

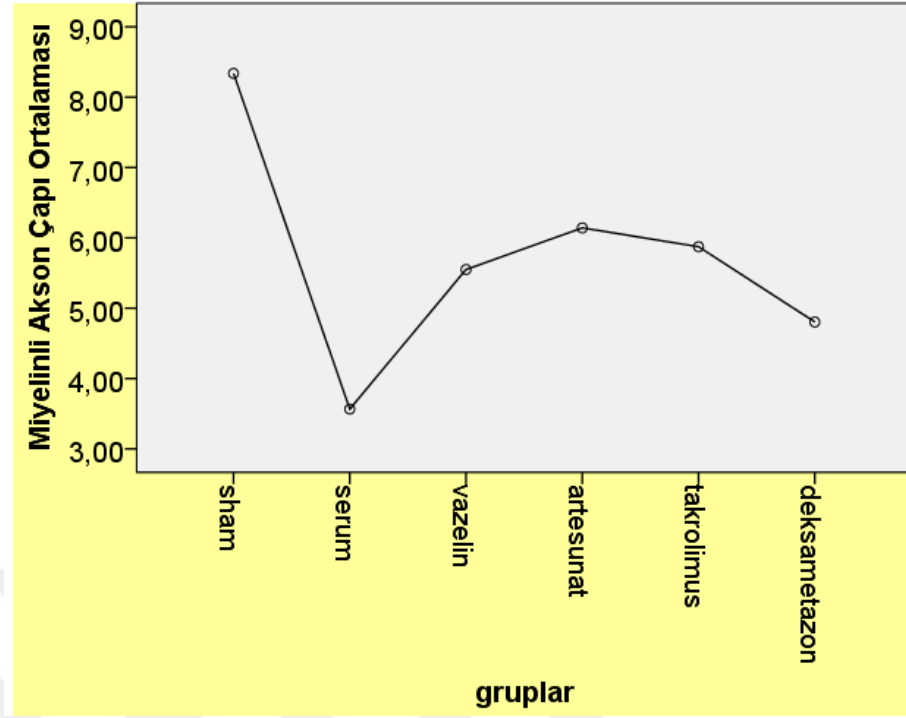
Tablo 15: Miyelinli akson çapları

Denek	Sham	Salin	Vazelin	Artesunat	Takrolimus	Deksametazon
1	7,7	3,52	5,46	9,13	6,49	5,47
2	8,45	4,03	5,48	4,6	4,27	3,36
3	8,51	3,51	4,8	5,65	4,53	5,59
4	7,71	3,87	6,3	6,48	6,21	3,94
5	8,85	3,45	5,71	3,74	7,87	5,66
6	8,8	3,02		7,25		
Ort±SD	8,33±0,51	3,56±0,35	5,55±0,53	6,14±1,93	5,87±1,48	4,8±1,07

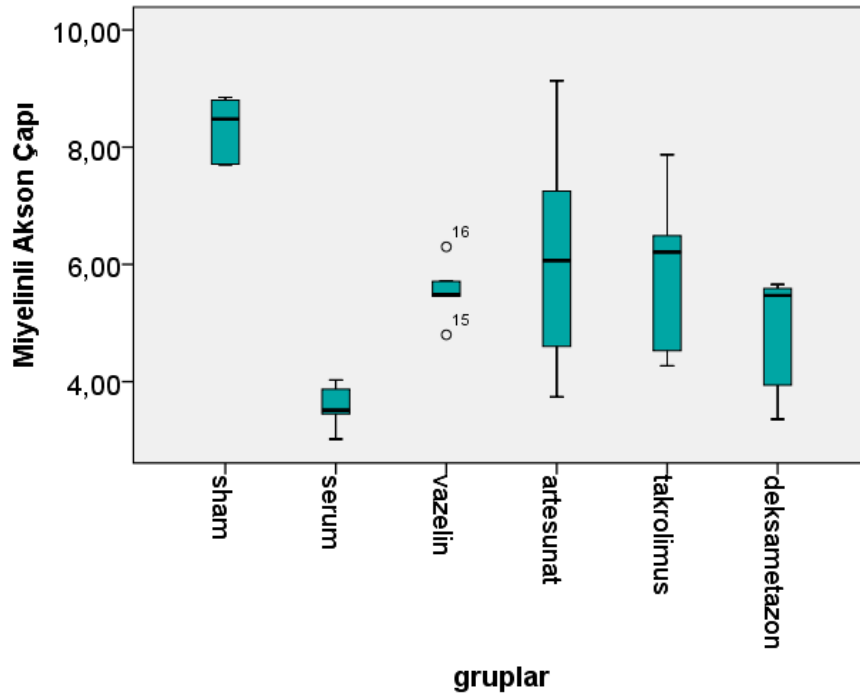
Bonferroni testi ile yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu sham grubunun miyelinli akson çaplarının salin, vazelin, artesunat, takrolimus ve deksametazon grubundan istatistiksel olarak yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). Salin grubunun miyelinli akson çaplarının artesunat ve takrolimus grubundan istatistiksel olarak düşük olduğu bulundu ($p<0,05$). Vazelin grubunun miyelinli akson çaplarının sham grubundan istatistiksel olarak düşük olduğu bulundu ($p<0,05$). Artesunat grubunun miyelinli akson çaplarının sham grubundan istatistiksel olarak düşük, salin grubundan istatistiksel olarak yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). Takrolimus grubunun miyelinli akson çaplarının sham grubundan istatistiksel olarak düşük, salin grubundan istatistiksel olarak yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). Dekasametazon grubunun miyelinli akson çaplarının sham grubundan istatistiksel olarak düşük olduğu bulundu ($p<0,05$). Artesunat, takrolimus ve deksametazon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 16: Miyelinli akson çaplarının Bonferroni testi ile karşılaştırılması

Gruplar		p değeri
Sham	Salin*	,000
	Vazelin*	,006
	Artesunat*	,038
	Takrolimus*	,021
	Deksametazon*	,000
Salin	Sham*	,000
	Vazelin	,119
	Artesunat*	,009
	Takrolimus*	,037
	Deksametazon	1,000
Vazelin	Sham*	,006
	Salin	,119
	Artesunat	1,000
	Takrolimus	1,000
	Deksametazon	1,000
Artesunat	Sham*	0,38
	Salin*	,009
	Vazelin	1,000
	Takrolimus	1,000
	Deksametazon	,956
Takrolimus	Sham*	0,21
	Salin*	,037
	Vazelin	1,000
	Artesunat	1,000
	Deksametazon	1,000
Deksametazon	Sham*	,000
	Salin	1,000
	Vazelin	1,000
	Artesunat	,956
	Takrolimus	1,000



Şekil 16. Miyelinli akson çaplarının ortalamasının gruplara göre dağılımı



Şekil 17. Miyelinli akson çaplarının grafiksel gösterimi

TARTIŞMA

Periferal sinir hasarı oral ve maksillofasiyal cerrahide sıkça karşılaşılan bir durumdur. Gömülü diş çekimleri, fasiyal travmalar ve tedavileri, ortognatik cerrahi, temporomandibular eklem cerrahisi, dental implant cerrahisi, baş boyun bölgesinde bulunan lezyonların tedavisi ve preprotetik cerrahi işlemler bu sinir hasarının başlıca nedenleridir.

Alanımızda en çok uygulanan cerrahi prosedür olan üçüncü molar diş çekimi sırasında trigeminal sinirin periferal dalları özellikle inferior alveolar ve lingual sinir yaralanmaları sıkça görülmektedir. Bu sinir hasarı hasta için oldukça güç bir durumdur çünkü konuşma, çiğneme, yutma fonksiyonlarını ve sosyal hayatını etkilemektedir. Titiz bir cerrahi teknik, iyi bir anatomi bilgisi ve deneyimli bir cerrah varlığında sinir hasarı riski azalsa da sıfıra indirilemez. Üçüncü molar cerrahisi sonrası inferior alveolar sinir hasarı oluşma riski %0,35 ila %8,4 arasında değişirken [171-174], lingual sinir hasarı meydana gelme riski %0,5 ila %22 arasında değişmektedir [175].

Ratlarda oluşturulan sinir ezilme hasarında deneysel olarak steroidler, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, düşük doz radyoterapi ve vitaminler gibi pek çok ilaç ve yöntem kullanılmıştır [176-180]. Bu deneylerin amacı sinir rejenerasyon sürecini ve terapötik müdahalelerle oluşan sinir iyileşmesini anlayabilmektir. Postoperatif disfonksiyonu minimize eden bir yöntemin geliştirilmesi, klinik açıdan oldukça önemli bir gelişme olacaktır.

Deneysel sinir rejenerasyonu çalışmalarında rejenerasyonun etkin, hızlı ve ucuza mal edilebilir olması ve insan periferik sinirine benzemesi nedeniyle rat siyatik siniri çok sık kullanılmaktadır [181]. Biz de araştırmamızda daha önce çok çalışılmış olması ve çalışma kolaylığı nedeniyle rat siyatik sinirini kullandık.

Siyatik sinir hasarı modeli oluşturmak amacıyla forseps, anevrizma klibi, hemostatik forseps, portegü ve klip kullanılan çalışmalar mevcuttur [182-188]. Li ve ark. rat siyatik sinirine portegü ile 30 saniye boyunca kompresyon uygulamışlar ve

sinir hasarı oluşturmuşlardır [187]. Ghayour ve ark. hemostatik forseps ile 30 saniye kompresyon uygulayarak rat siyatik sinir hasarı oluşturmuşlardır [188]. Çalışmamızda sinir hasarı oluşturmak için hemostatik forseps kullandık ve sinire 30 saniye boyunca kompresyon uyguladık.

Çalışmamızda sistemik ilaç uygulamasının komplikasyonlarından ve istenmeyen etkilerinden kaçınmak amacıyla topikal uygulama yolunu seçtik.

Periferel sinir rejenerasyonunda topikal takrolimus uygulamasının etkinliğini araştıran çalışmalarda, takrolimus 10 ng/ml konsantrasyonda ven greftine, poliglikolik asit tüpe veya rezorbe olabilen jelatin süngere uygulanarak kullanılmıştır [25, 189, 190]. Çalışmamızda orijinal 5 mg/ml'lik ampulünün 2 kez sulandırılmasıyla elde edilmiş 10 ng/ml konsantrasyonda takrolimus rezorbe olabilen jelatin süngere emdirerek kullandık.

Mohammadi ve ark. deksametazonun topikal uygulamasının periferel sinir rejenerasyonuna etkisini araştırdıkları çalışmalarında 0.1 mg/ml konsantrasyondaki 10 µl deksametazonu silikon tüpe uygulayarak kullanmışlardır [6]. Galloway ve ark. 4 mg/ml deksametazon ile doyurulmuş jelatin süngeri oluşturdukları sinir hasarına uygulamışlardır [160]. Süslü ve ark. rezorbe olabilen jelatin süngeri 2 mg/kg dozdaki deksametazon ile doyurarak kullanmışlardır [170]. Seth ve ark. deksametazonu 2 mg/ml ve 4 mg/ml konsantrasyonlarda topikal olarak kullanmışlardır [191]. Çalışmamızda rezorbe olabilen jelatin süngeri 4 mg/ml konsantrasyondaki deksametazon ile doyurarak kullandık.

Artesunatın periferel sinir rejenerasyonundaki etkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Artesunatın topikal kullanımıyla ilgili çalışmalar da çok sınırlıdır. Disbrow ve ark. artesunatın gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonuna etkisini araştırdıkları çalışmalarında artesunatı %2, %4 ve %8'lik konsantrasyonlarda merhem hazırlayarak topikal olarak kullanmışlardır [192]. Ülkemizde artesunatın suda çözünebilir flakon formu (Artesun®, Guilin Pharmaceutical, Shanghai, China) bulunmamaktadır. Artesunat Sigma'dan (Sigma Aldrich St. Louis, MO, USA) temin edilmiştir ve firmanın verdiği bilgiye göre asetonda çözünebilmektedir. Asetonun nörotoksik etkisi nedeniyle çalışmamız için uygun bir çözücü olmadığı düşünerek

Disbrow ve ark. gibi %8 konsantrasyonda, çözücü olarak vazelin kullanarak topikal kullanıma uygun bir karışım hazırladık.

Siyatik fonksiyon indeksi deneklerde meydana gelen fonksiyonel iyileşmeyi ortaya koyan basit, güvenilir, tekrarlanabilir ve eskimeyen bir yöntemdir. Bununla birlikte ratlarda görülen otokanibalizasyon-mutilasyon davranışı bu ölçümün yapılmasını zorlaştırmaktadır. Distal hiperaljezi ve nöropatik ağrının otokanibalizasyon davranışının nedeni olabileceğini bildiren çalışmalar vardır [193-195] Bizim çalışmamızda deksametazon grubunun tamamında, artesunat grubunda üç hayvanda, salin ve vazelin grubunda iki hayvanda otokanibalizasyon görüldü ve bu hayvanlarda yürüme analizi gerçekleştirilemedi. Siyatik fonksiyon indeksi sonuçlarına göre artesunat ve takrolimus grubu, salin ve vazelin grubundan istatistiksel olarak daha iyi bir iyileşme gösterdi ($p<0,05$). Sham, artesunat ve takrolimus grupları arasında siyatik fonksiyon indeksi değerleri açısından istatistiksel bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Salin ve vazelin grupları arasında da siyatik fonksiyon indeksi değerleri açısından istatistiksel bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Sham grubunun siyatik fonksiyon indeksi değerleri vazelin ve salin grubundan istatistiksel olarak daha iyi bulundu ($p<0,05$).

Periferel sinir rejenerasyonunun değerlendirilmesinde EMG çok önemli bir inceleme yöntemidir. Oluşan aksiyon potansiyeli eğrilerinde uyarının verildiği andan defleksiyonun başladığı ana kadar geçen süre latans değerini, oluşan dalganın genliği ise amplitüd değerini oluşturur. Amplitüd değeri aktif nöron sayısı ile ilişkililikten, latans değeri miyelinize lifler ile paralellik göstermektedir [196]. EMG ölçümü sonucu elde edilen latans ve amplitüd değerlerine göre artesunat, takrolimus ve deksametazon grubu salin ve vazelin grubundan istatistiksel olarak daha iyi bir iyileşme gösterdi ($p<0,05$). Artesunat, takrolimus ve deksametazon grupları arasında EMG değerleri açısından istatistiksel bir fark bulunamadı ($p>0,05$). Sham grubunun EMG ölçümü sonuçları salin, vazelin, artesunat, takrolimus ve deksametazon grubundan istatistiksel olarak daha iyi bulundu ($p<0,05$). Vazelin ve salin grubunun EMG ölçümü sonuçları arasında istatistiksel bir fark bulunamadı ($p>0,05$).

Histolojik inceleme sonuçlarına göre sham, vazelin, artesunat ve deksametazon grupları arasında fibroblast sayıları açısından istatistiksel bir fark bulunamadı

($p>0,05$). Salin grubundaki fibroblast sayısı sham grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Takrolimusun salin grubuyla karşılaştırıldığında fibroblast sayısını anlamlı şekilde azalttığı bulundu($p<0,05$).

Fibrozis değerleri açısından incelendiğinde sham, artesunat, takrolimus ve deksametazon grupları arasında istatistiksel bir fark bulunamadı ($p>0,05$). Salin grubuyla karşılaştırıldığında artesunat, takrolimus ve deksametazon gruplarında fibroziste istatistiksel olarak azalma görüldü ($p<0,05$). Vazelin ve salin grubunun fibrozis değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunamadı ($p>0,05$).

Sham, artesunat ve deksametazon grubu salin grubuyla karşılaştırıldığında enflamasyon değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($p<0,05$). Salin, vazelin ve artesunat grubu sham grubuyla karşılaştırıldığında enflamasyon değerlerinde anlamlı bir artış görüldü ($p<0,05$). Vazelin ve salin grubunun enflamasyon değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunamadı ($p>0,05$). Deksametazon grubu enflamasyon derecesi açısından hiçbir gruba istatistiksel bir fark göstermedi ($p>0,05$).

Salin, vazelin ve artesunat grubunda sham grubundan istatistiksel olarak daha fazla hematoma oluşumu görüldü ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel bir farka rastlanmadı ($p>0,05$).

Mekaj ve ark. topikal takrolimusun ve hyalüronik asidin epinöral skar formasyonu ve sinir rejenerasyonuna etkisini araştırdıkları çalışmalarında, salin uygulanan grupla karşılaştırıldığında takrolimus uygulanan grupta fibroblast ve enflamatuar hücre sayısında anlamlı bir azalma görmüşlerdir. Ayrıca skar doku indeksi de takrolimus grubunda salin grubuna göre anlamlı şekilde az bulunmuştur. Çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızın sonuçlarıyla paralellik göstermektedir [189].

Azizi ve ark. sadece inside-out ven grefti uyguladıkları ratlarla, takrolimus uygulanmış inside-out ven grefti uyguladıkları ratlardaki sinir rejenerasyonunu karşılaştırmışlardır. Siyatik fonksiyon indeksi değerleri incelendiğinde takrolimus uygulanan grupta, uygulanmayan gruba göre fonksiyonel iyileşmede istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. Inside-out ven grefti ve takrolimus uygulanan

grupta miyelinli akson çaplarının sadece inside-out ven grefti uygulanan gruptan istatistiksel olarak yüksek olduğu bulunmuştur. Çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızın sonuçlarıyla paralellik göstermektedir [25].

Diaz ve ark. tavşanlarda entübülasyon nörorafi ile tamir edilmiş fasial sinir modelinde topikal takrolimus uygulamasının etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada kullanılan 25 hayvan sham, kontrol, interpozisyonel otogreft, entübülasyon nörorafi, ve FK506 uygulanmış entübülasyon nörorafi olarak beş gruba ayrılmıştır. Çalışmada kullanılan FK506, orijinal 5 mg/ml ampulün iki kez sulandırılmasıyla elde edilen 10ng/ml konsantrasyonda kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda topikal takrolimus uygulanan grupta elektromiyografik ölçümler neticesinde sinir rejenerasyonunda artış olduğu görülmüştür ve bu bulgu bizim çalışmamızın bulgularıyla örtüşmektedir [197].

Mohammadi ve ark. topikal deksametazon uygulamasının sinir rejenerasyonu üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında deksametazon grubunda siyatik fonksiyon indeksi değerlerinde salin uygulanan gruba göre anlamlı şekilde iyileşme gözlemlemişlerdir. Çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızın sonuçlarını destekler niteliktedir [6].

Galloway ve ark. topikal deksametazon uygulamasının sinir rejenerasyonundaki etkisini inceledikleri çalışmalarında ratlara postoperatif 2, 4, 7, 11, 14, 18, 22, 25 ve 32. günlerde yürüme analizi uygulamışlardır. Topikal deksametazon uygulanan grupta 14. günde rejenerasyonda artış görülmüştür. Çalışmanın sonunda deksametazon uygulanan grupta sinir iyileşmesinin salin uygulanan gruptan üstün olduğu bulunmuştur [160]. Sonuçlar bizim çalışmamızın sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.

Süslü ve ark. topikal ve sistemik deksametazon uygulamasının sinir rejenerasyonuna etkisini karşılaştırdıkları çalışmalarında ratlara yürüme analizi uygulamışlardır. Siyatik fonksiyon indeksi değerlerine göre topikal ve sistemik deksametazon uygulanan gruplar kontrol grubundan, topikal deksametazon uygulanan grup ise sistemik deksametazon uygulanan gruptan anlamlı derecede iyi

iyileşme göstermiştir [170]. Çalışmanın sonuçları bizim bulgularımızı destekler niteliktedir.

Seth ve ark. topikal ve sistemik deksametazon uygulamasının tavşanlarda fasiyal sinir rejenerasyonundaki etkisini araştırdıkları çalışmalarında sinir rejenerasyonunu değerlendirmek amacıyla bileşik sinir aksiyon potansiyelini ölçmüşlerdir. Uyguladıkları elektrofizyolojik ölçümler sonucunda sistemik deksametazon uygulamasının sinir rejenerasyonunu anlamlı ölçüde artırdığını fakat topikal deksametazon uygulamasının aynı etkiyi göstermediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızın sonucunu desteklememektedir.

Du ve ark. siyatik sinir hasarı oluşturdukları farelere düşük, orta ve yüksek dozlarda 7,8-dihidroksikumarin uygulamış ve L4-6 spinal kord segmentlerindeki NF-κB seviyesini ölçmüşlerdir. Orta ve yüksek dozda 7,8-dihidroksikumarin uygulanan gruplarda NF-κB seviyesinin, düşük doz 7,8-dihidroksikumarin uygulanan gruba ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür. Orta ve yüksek doz grubunda, düşük doz ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında fonksiyonel sinir iyileşmesinde artış ve apoptozda azalma görülmüştür. Çalışmanın sonuçları NF-κB'nin immün aktivitesinin baskılanmasının inflamatuvar hücrelerin fokal infiltrasyonunu azalttığını, sinir rejenerasyonu için optimum koşullar sağladığını ortaya konmuştur [198].

Mietto ve ark. periferik sinir hasarı sonrası IL-10'un enflamasyonun çözülmesinde ve sinir iyileşmesindeki etkilerini incelemiştir. Çalışmanın sonucunda IL-10 yokluğunun, akson rejenerasyonunda bozulmaya, motor ve duyuşal iyileşmede kayba neden olacak şekilde hasar görmüş sinirin proenflamatuvar çevresinde artmaya neden olduğunu ortaya koymuşlardır [77]

Salihi ve ark. olfaktör sinir hasarı oluşturdukları ve TNF-α antagonisti uyguladıkları farelerde lokal enflamatuvar cevabın baskılandığını ve sinir iyileşmesinin hızlandığını gözlemlemiştir [199].

Artesunatın deneysel hayvan modellerinde, TNF- α seviyesini düşürerek, IL-1 β , IL-6 ve IL-8 ekspresyonunu ve NF- κ B ilişkili sinyal yolağını baskılayarak enflamasyon ve kolitte tedavi edici etkinlik gösterdiği kanıtlanmıştır [33, 200]. Artesunatın yararlı etkilerinin çoğu antioksidan özellikleriyle ilişkilendirilmiştir [127].

Verma ve ark. artesunat uygulanan ratların gastrik mukozasında proenflamatuar bir sitokin olan TNF- α 'nın doku seviyesinde belirgin bir düşüş meydana geldiğini, IL-1 β , IL-6 ve NF- κ B'nin doku ekspresyonunda azalma görüldüğünü ortaya koymuşlardır. Artesunatın hücre koruyucu, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri sayesinde gastrik mukozal hasarı azalttığı gösterilmiştir. Bu etkiyi NF- κ B ilişkili sinyal yolağını baskılayarak göstermektedir [201].

Jiang ve ark. artesunatın TNF- α ve IL-6 gibi proenflamatuar sitokinleri ve MCP-1 ve IL-8 gibi proenflamatuar kemokinleri inhibe etmek suretiyle ateroskleroz oluşumunu azalttığını ortaya koymuşlardır [32].

Okorji ve ark. artesunatın LPS ve IFN γ ile indüklenmiş mikrogliyal enflamasyonu belirgin bir şekilde baskıladığını bildirmişlerdir. Çalışmada artesunatın aktive mikrogliyalarda PGE2, TNF- α ve IL-6 üretimini baskıladığı görülmüştür. Prostaglandinler siklooksijenaz ve prostoglandin sentaz tarafından üretilen araşidonik asit türevleridir ve nöroenflamasyonda kritik bir rolleri vardır [202]. Ayrıca Alzheimer gibi nöroenflamasyonla ilişkili nörodejeneratif hastalıklarda da önemli bir rol oynarlar [203].

NF- κ B içlerinde COX-2'nin de bulunduğu pek çok enflamatuar protein kodlayıcı genin ekspresyonundan sorumludur. Artesunatın NF- κ B bağlantılı lusiferaz transkripsiyonunu durdurduğu gösterilmiştir [203].

Li ve ark. artesunatın T lenfosit proliferasyonunu ve gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonunu baskılayarak düşük toksisiteyle birlikte yüksek immünsüpresif aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Artesunatın NF- κ B/p65 ve Smad2/3 bağlı TGF- β yolağını etkileyerek regülatör T hücrelerinin aktivitelerini düzenlemek suretiyle immünsüpresif aktivite gösterebileceğini ortaya koymuşlardır [142].

Li ve ark. artritli ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada artesunatin antiartritlik etkilerini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda Artesunatin enflamasyonu belirgin bir biçimde azalttığı, kemik ve kıkırdak destrüksiyonunu engellediği görölmüştür. Artesunat IL-1 β , TNF- α ve IL-17 α ekspresyonunu azaltmıştır. Antiartritlik etkinin NF- κ B ve MAP kinaz sinyal yolağın baskılanması vasıtasıyla proenflamatuar sitokinlerin ve MMP-9'un inhibisyonu ile elde edilmiş olabileceği bildirilmiştir [31].

Chen ve ark. dinitroklorobenzen kullanarak allerjik kontakt dermatit oluşturdukları gine domuzlarının abdominal derilerine %0.85, %1.5 ve %5'lik konsantrasyonlarda topikal artesunat uygulamışlardır. Çalışmanın sonucunda ilk 1 ila 12 saat arasında artesunat uygulanan domuzlarda tüm konsantrasyonlarda inflamatuvar cilt reaksiyonlarında belirgin bir azalma görölmüştür [126].

Xu ve ark. artesunatin TNF- α ile stimüle edilmiş romatoid artrit fibroblast benzeri sinovisitte IL-1 β , IL-6 ve IL-8 sekresyonunda doz bağımlı olarak azalma meydana getirerek antienflamatuar etkinlik gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Artesunat bu etkisini TNF- α ile indüklenmiş NF- κ B translokasyonunu, DNA bağlayıcı aktiviteyi ve gen transkripsiyonunu önleyerek göstermektedir [33].

Artesunatin yukarıda bahsi geçen antienflamatuar mekanizmalar aracılığıyla sinir rejenerasyonunu arttırdığını düşünmekteyiz.

SONUÇ

Takrolimus ve deksametazonun sistemik ve topikal formunun sinir rejenerasyonuna etkisini gösteren çok sayıda çalışma vardır fakat bu iki ilacın sinir rejenerasyonu üzerindeki etkinliğini karşılaştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Artesunatin antienflamatuvar etkinliğini gösteren pek çok araştırma mevcuttur fakat bu ilacın sinir rejenerasyonuna etkinliğini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız bu alanlarda yapılan ilk deneysel çalışmadır.

Çalışmamızda topikal yolla uygulanan %8'lik artesunatin sinir rejenerasyonundaki olumlu etkisi gösterilmiştir. Artesunatin, deksametazonun ve takrolimusun topikal formlarının sinir rejenerasyonunu olumlu yönde etkilediği ve aralarında anlamlı bir fark bulunmadığı gösterilmiştir. Artesunatin nörorejeneratif etkinliğinin hangi mekanizmalarla meydana geldiği anlayabilmek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Shishido, H., et al., *Dexamethasone decreases blood flow in normal nerves and dorsal root ganglia*. Spine (Phila Pa 1976), 2002. **27**(6): p. 581-6.
2. Hirschberg, D.L., et al., *Inflammation after axonal injury has conflicting consequences for recovery of function: rescue of spared axons is impaired but regeneration is supported*. J Neuroimmunol, 1994. **50**(1): p. 9-16.
3. Feng, X. and W. Yuan, *Dexamethasone enhanced functional recovery after sciatic nerve crush injury in rats*. Biomed Res Int, 2015. **2015**: p. 627923.
4. Miyauchi, A., et al., *Role of macrophages in the stimulation and regeneration of sensory nerves by transposed granulation tissue and temporal aspects of the response*. Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg, 1997. **31**(1): p. 17-23.
5. Rabchevsky, A.G., et al., *Efficacy of methylprednisolone therapy for the injured rat spinal cord*. J Neurosci Res, 2002. **68**(1): p. 7-18.
6. Mohammadi, R., M. Azad-Tirgan, and K. Amini, *Dexamethasone topically accelerates peripheral nerve repair and target organ reinnervation: a transected sciatic nerve model in rat*. Injury, 2013. **44**(4): p. 565-9.
7. Gewert, K. and R. Sundler, *Dexamethasone down-regulates the 85 kDa phospholipase A2 in mouse macrophages and suppresses its activation*. Biochem J, 1995. **307 (Pt 2)**: p. 499-504.
8. Li, Y.H., et al., *Inhibition of macrophage proinflammatory cytokine expression by steroids and recombinant IL-10*. Biol Neonate, 2001. **80**(2): p. 124-32.
9. Lee, H.M., et al., *The role of steroids and their effects on phospholipase A2. An animal model of radiculopathy*. Spine (Phila Pa 1976), 1998. **23**(11): p. 1191-6.
10. Shamash, S., F. Reichert, and S. Rotshenker, *The cytokine network of Wallerian degeneration: tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1alpha, and interleukin-1beta*. J Neurosci, 2002. **22**(8): p. 3052-60.
11. Sun, H., et al., *Dexamethasone and vitamin B(12) synergistically promote peripheral nerve regeneration in rats by upregulating the expression of brain-derived neurotrophic factor*. Arch Med Sci, 2012. **8**(5): p. 924-30.
12. Jang, C.H., et al., *Effect of topical dexamethasone in reducing dysfunction after facial nerve crush injury in the rat*. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2014. **78**(6): p. 960-3.
13. Yan, Y., et al., *Efficacy of short-term FK506 administration on accelerating nerve regeneration*. Neurorehabil Neural Repair, 2012. **26**(6): p. 570-80.
14. Jifeng, H., et al., *Evaluation of PRGD/FK506/NGF conduits for peripheral nerve regeneration in rats*. Neurol India, 2010. **58**(3): p. 384-91.
15. Li, X., et al., *Immunophilin FK506 loaded in chitosan guide promotes peripheral nerve regeneration*. Biotechnol Lett, 2010. **32**(9): p. 1333-7.
16. Jost, S.C., et al., *Acceleration of peripheral nerve regeneration following FK506 administration*. Restor Neurol Neurosci, 2000. **17**(1): p. 39-44.
17. Chunasuwankul, R., et al., *Low dose discontinued FK506 treatment enhances peripheral nerve regeneration*. Int Surg, 2002. **87**(4): p. 274-8.

18. Mekaj, A.Y., et al., *Application of topical pharmacological agents at the site of peripheral nerve injury and methods used for evaluating the success of the regenerative process*. J Orthop Surg Res, 2014. **9**: p. 94.
19. Tung, T.H., *Tacrolimus (FK506): Safety and Applications in Reconstructive Surgery*. Hand (N Y), 2010. **5**(1): p. 1-8.
20. Konofaos, P. and J.K. Terzis, *FK506 and nerve regeneration: past, present, and future*. J Reconstr Microsurg, 2013. **29**(3): p. 141-8.
21. Bora, F.W., Jr., *Peripheral nerve repair in cats. The fascicular stitch*. J Bone Joint Surg Am, 1967. **49**(4): p. 659-66.
22. Atkins, S., et al., *Scarring impedes regeneration at sites of peripheral nerve repair*. Neuroreport, 2006. **17**(12): p. 1245-9.
23. Que, J., et al., *Effect of FK506 in reducing scar formation by inducing fibroblast apoptosis after sciatic nerve injury in rats*. Cell Death Dis, 2013. **4**: p. e526.
24. Gold, B.G., K. Katoh, and T. Storm-Dickerson, *The immunosuppressant FK506 increases the rate of axonal regeneration in rat sciatic nerve*. J Neurosci, 1995. **15**(11): p. 7509-16.
25. Azizi, S., et al., *Effects of topically administered FK506 on sciatic nerve regeneration and reinnervation after vein graft repair of short nerve gaps*. Neurosurg Focus, 2012. **32**(5): p. E5.
26. Rosenthal, P.J., *Artesunate for the treatment of severe falciparum malaria*. N Engl J Med, 2008. **358**(17): p. 1829-36.
27. Cheng, C., et al., *Anti-malarial drug artesunate attenuates experimental allergic asthma via inhibition of the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway*. PLoS One, 2011. **6**(6): p. e20932.
28. Ho, W.E., et al., *Anti-malarial drug artesunate ameliorates oxidative lung damage in experimental allergic asthma*. Free Radic Biol Med, 2012. **53**(3): p. 498-507.
29. Jin, O., et al., *A pilot study of the therapeutic efficacy and mechanism of artesunate in the MRL/lpr murine model of systemic lupus erythematosus*. Cell Mol Immunol, 2009. **6**(6): p. 461-7.
30. Li, B., et al., *Artesunate protects sepsis model mice challenged with Staphylococcus aureus by decreasing TNF-alpha release via inhibition TLR2 and Nod2 mRNA expressions and transcription factor NF-kappaB activation*. Int Immunopharmacol, 2010. **10**(3): p. 344-50.
31. Li, Y., et al., *Inhibitory effect of the antimalarial agent artesunate on collagen-induced arthritis in rats through nuclear factor kappa B and mitogen-activated protein kinase signaling pathway*. Transl Res, 2013. **161**(2): p. 89-98.
32. Jiang, W., et al., *Artesunate attenuated progression of atherosclerosis lesion formation alone or combined with rosuvastatin through inhibition of pro-inflammatory cytokines and pro-inflammatory chemokines*. Phytomedicine, 2016. **23**(11): p. 1259-66.
33. Xu, H., et al., *Anti-malarial agent artesunate inhibits TNF-alpha-induced production of proinflammatory cytokines via inhibition of NF-kappaB and PI3 kinase/Akt signal pathway in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes*. Rheumatology (Oxford), 2007. **46**(6): p. 920-6.
34. Mirshafiey, A., et al., *Design of a new line in treatment of experimental rheumatoid arthritis by artesunate*. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2006. **28**(3): p. 397-410.
35. Ross, M., *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. 6 ed. 2014, Ankara: Palme. 352-398.
36. Snell, R., *Klinik Nöroanatomi*. 7 ed. 2011, İstanbul: Nobel. 33-69.
37. Waller, A., *Experiments on the Section of the Glossopharyngeal and Hypoglossal Nerves of the Frog and Observations of the Alterations Produced Thereby in the*

- Structure of Their Primitive Fibres*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 1850. **140**: p. 423-429.
38. Stoll, G., et al., *Wallerian degeneration in the peripheral nervous system: participation of both Schwann cells and macrophages in myelin degradation*. J Neurocytol, 1989. **18**(5): p. 671-83.
 39. Lubinska, L., *Patterns of Wallerian degeneration of myelinated fibres in short and long peripheral stumps and in isolated segments of rat phrenic nerve. Interpretation of the role of axoplasmic flow of the trophic factor*. Brain Res, 1982. **233**(2): p. 227-40.
 40. Schlaepfer, W.W., *Structural alterations of peripheral nerve induced by the calcium ionophore A23187*. Brain Res, 1977. **136**(1): p. 1-9.
 41. George, E.B., J.D. Glass, and J.W. Griffin, *Axotomy-induced axonal degeneration is mediated by calcium influx through ion-specific channels*. J Neurosci, 1995. **15**(10): p. 6445-52.
 42. Ehlers, M.D., *Deconstructing the axon: Wallerian degeneration and the ubiquitin-proteasome system*. Trends Neurosci, 2004. **27**(1): p. 3-6.
 43. Watts, R.J., E.D. Hoopfer, and L. Luo, *Axon pruning during Drosophila metamorphosis: evidence for local degeneration and requirement of the ubiquitin-proteasome system*. Neuron, 2003. **38**(6): p. 871-85.
 44. Zhai, Q., et al., *Involvement of the ubiquitin-proteasome system in the early stages of wallerian degeneration*. Neuron, 2003. **39**(2): p. 217-25.
 45. Waxman, S., *The axon: structure, function and pathophysiology*. 1995, New York: Oxford University Press.
 46. LeBlanc, A.C. and J.F. Poduslo, *Axonal modulation of myelin gene expression in the peripheral nerve*. J Neurosci Res, 1990. **26**(3): p. 317-26.
 47. Esper, R.M. and J.A. Loeb, *Rapid axoglial signaling mediated by neuregulin and neurotrophic factors*. J Neurosci, 2004. **24**(27): p. 6218-27.
 48. Bolin, L.M., et al., *Interleukin-6 production by Schwann cells and induction in sciatic nerve injury*. J Neurochem, 1995. **64**(2): p. 850-8.
 49. Jander, S., et al., *Differential expression of interleukin-10 mRNA in Wallerian degeneration and immune-mediated inflammation of the rat peripheral nervous system*. J Neurosci Res, 1996. **43**(2): p. 254-9.
 50. Kurek, J.B., et al., *Up-regulation of leukaemia inhibitory factor and interleukin-6 in transected sciatic nerve and muscle following denervation*. Neuromuscul Disord, 1996. **6**(2): p. 105-14.
 51. Perry, V.H., M.C. Brown, and S. Gordon, *The macrophage response to central and peripheral nerve injury. A possible role for macrophages in regeneration*. J Exp Med, 1987. **165**(4): p. 1218-23.
 52. Bruck, W., *The role of macrophages in Wallerian degeneration*. Brain Pathol, 1997. **7**(2): p. 741-52.
 53. Martini, R., et al., *Interactions between Schwann cells and macrophages in injury and inherited demyelinating disease*. Glia, 2008. **56**(14): p. 1566-77.
 54. Bastien, D. and S. Lacroix, *Cytokine pathways regulating glial and leukocyte function after spinal cord and peripheral nerve injury*. Exp Neurol, 2014. **258**: p. 62-77.
 55. Mietto, B.S., et al., *Lack of galectin-3 speeds Wallerian degeneration by altering TLR and pro-inflammatory cytokine expressions in injured sciatic nerve*. Eur J Neurosci, 2013. **37**(10): p. 1682-90.
 56. Toews, A.D., C. Barrett, and P. Morell, *Monocyte chemoattractant protein 1 is responsible for macrophage recruitment following injury to sciatic nerve*. J Neurosci Res, 1998. **53**(2): p. 260-7.

57. Taskinen, H.S. and M. Roytta, *Increased expression of chemokines (MCP-1, MIP-1alpha, RANTES) after peripheral nerve transection*. J Peripher Nerv Syst, 2000. **5**(2): p. 75-81.
58. Perrin, F.E., et al., *Involvement of monocyte chemoattractant protein-1, macrophage inflammatory protein-1alpha and interleukin-1beta in Wallerian degeneration*. Brain, 2005. **128**(Pt 4): p. 854-66.
59. Mueller, M., et al., *Macrophage response to peripheral nerve injury: the quantitative contribution of resident and hematogenous macrophages*. Lab Invest, 2003. **83**(2): p. 175-85.
60. Mueller, M., et al., *Rapid response of identified resident endoneurial macrophages to nerve injury*. Am J Pathol, 2001. **159**(6): p. 2187-97.
61. Griffin, J.W., et al., *Macrophage responses and myelin clearance during Wallerian degeneration: relevance to immune-mediated demyelination*. J Neuroimmunol, 1992. **40**(2-3): p. 153-65.
62. Bruck, W., I. Huitinga, and C.D. Dijkstra, *Liposome-mediated monocyte depletion during wallerian degeneration defines the role of hematogenous phagocytes in myelin removal*. J Neurosci Res, 1996. **46**(4): p. 477-84.
63. David, S., et al., *Laminin overrides the inhibitory effects of peripheral nervous system and central nervous system myelin-derived inhibitors of neurite growth*. J Neurosci Res, 1995. **42**(4): p. 594-602.
64. Filbin, M.T., *Myelin-associated inhibitors of axonal regeneration in the adult mammalian CNS*. Nat Rev Neurosci, 2003. **4**(9): p. 703-13.
65. Boivin, A., et al., *Toll-like receptor signaling is critical for Wallerian degeneration and functional recovery after peripheral nerve injury*. J Neurosci, 2007. **27**(46): p. 12565-76.
66. Nadeau, S., et al., *Functional recovery after peripheral nerve injury is dependent on the pro-inflammatory cytokines IL-1beta and TNF: implications for neuropathic pain*. J Neurosci, 2011. **31**(35): p. 12533-42.
67. Mietto, B.S., K. Mostacada, and A.M. Martinez, *Neurotrauma and inflammation: CNS and PNS responses*. Mediators Inflamm, 2015. **2015**: p. 251204.
68. Barrette, B., et al., *Transcriptional profiling of the injured sciatic nerve of mice carrying the Wld(S) mutant gene: identification of genes involved in neuroprotection, neuroinflammation, and nerve regeneration*. Brain Behav Immun, 2010. **24**(8): p. 1254-67.
69. Schäfer, M., et al., *Disruption of the Gene for the Myelin-Associated Glycoprotein Improves Axonal Regrowth along Myelin in C57BL/Wlds Mice*. Neuron, 1996. **16**(6): p. 1107-1113.
70. Stoll, G., S. Jander, and R.R. Myers, *Degeneration and regeneration of the peripheral nervous system: from Augustus Waller's observations to neuroinflammation*. J Peripher Nerv Syst, 2002. **7**(1): p. 13-27.
71. Liefner, M., et al., *The role of TNF-alpha during Wallerian degeneration*. J Neuroimmunol, 2000. **108**(1-2): p. 147-52.
72. Tofaris, G.K., et al., *Denervated Schwann cells attract macrophages by secretion of leukemia inhibitory factor (LIF) and monocyte chemoattractant protein-1 in a process regulated by interleukin-6 and LIF*. J Neurosci, 2002. **22**(15): p. 6696-703.
73. Hirata, K. and M. Kawabuchi, *Myelin phagocytosis by macrophages and nonmacrophages during Wallerian degeneration*. Microsc Res Tech, 2002. **57**(6): p. 541-7.

74. Gaudet, A.D., P.G. Popovich, and M.S. Ramer, *Wallerian degeneration: gaining perspective on inflammatory events after peripheral nerve injury*. J Neuroinflammation, 2011. **8**: p. 110.
75. Moalem, G. and D.J. Tracey, *Immune and inflammatory mechanisms in neuropathic pain*. Brain Res Rev, 2006. **51**(2): p. 240-64.
76. Bendszus, M. and G. Stoll, *Caught in the act: in vivo mapping of macrophage infiltration in nerve injury by magnetic resonance imaging*. J Neurosci, 2003. **23**(34): p. 10892-6.
77. Siqueira Mietto, B., et al., *Role of IL-10 in Resolution of Inflammation and Functional Recovery after Peripheral Nerve Injury*. J Neurosci, 2015. **35**(50): p. 16431-42.
78. Gillen, C., S. Jander, and G. Stoll, *Sequential expression of mRNA for proinflammatory cytokines and interleukin-10 in the rat peripheral nervous system: comparison between immune-mediated demyelination and Wallerian degeneration*. J Neurosci Res, 1998. **51**(4): p. 489-96.
79. Be'eri, H., et al., *The cytokine network of wallerian degeneration: IL-10 and GM-CSF*. Eur J Neurosci, 1998. **10**(8): p. 2707-13.
80. Hirsiger, S., et al., *Danger signals activating the immune response after trauma*. Mediators Inflamm, 2012. **2012**: p. 315941.
81. Brunn, G.J., et al., *Conditional signaling by Toll-like receptor 4*. Faseb j, 2005. **19**(7): p. 872-4.
82. Li, G.S., et al., *Complement components of nerve regeneration conditioned fluid influence the microenvironment of nerve regeneration*. Neural Regen Res, 2016. **11**(4): p. 682-6.
83. de Jonge, R.R., et al., *Expression of complement components in the peripheral nervous system*. Hum Mol Genet, 2004. **13**(3): p. 295-302.
84. Ramaglia, V., et al., *Complement C6 deficiency delays degeneration and facilitates axonal regeneration and recovery in a model of peripheral nerve injury*. Molecular Immunology, 2007. **44**(16): p. 3942.
85. Bruck, W. and R.L. Friede, *The role of complement in myelin phagocytosis during PNS wallerian degeneration*. J Neurol Sci, 1991. **103**(2): p. 182-7.
86. Dailey, A.T., et al., *Complement depletion reduces macrophage infiltration and activation during Wallerian degeneration and axonal regeneration*. J Neurosci, 1998. **18**(17): p. 6713-22.
87. Ramaglia, V., et al., *The membrane attack complex of the complement system is essential for rapid Wallerian degeneration*. J Neurosci, 2007. **27**(29): p. 7663-72.
88. Ramaglia, V., et al., *Soluble Complement Receptor 1 Protects the Peripheral Nerve from Early Axon Loss after Injury*. The American Journal of Pathology, 2008. **172**(4): p. 1043-1052.
89. Dubovy, P., R. Jancalok, and T. Kubek, *Role of inflammation and cytokines in peripheral nerve regeneration*. Int Rev Neurobiol, 2013. **108**: p. 173-206.
90. Austin, P.J. and G. Moalem-Taylor, *The neuro-immune balance in neuropathic pain: involvement of inflammatory immune cells, immune-like glial cells and cytokines*. J Neuroimmunol, 2010. **229**(1-2): p. 26-50.
91. Dubovy, P., et al., *Satellite glial cells express IL-6 and corresponding signal-transducing receptors in the dorsal root ganglia of rat neuropathic pain model*. Neuron Glia Biol, 2010. **6**(1): p. 73-83.
92. Gordon, T., *The physiology of neural injury and regeneration: The role of neurotrophic factors*. J Commun Disord, 2010. **43**(4): p. 265-73.
93. Terenghi, G., *Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors*. J Anat, 1999. **194 (Pt 1)**: p. 1-14.

94. Kirsch, M., et al., *Wallerian degeneration and axonal regeneration after sciatic nerve crush are altered in ICAM-1-deficient mice*. *Cell Tissue Res*, 2009. **338**(1): p. 19-28.
95. Golz, G., et al., *The cytokine/neurotrophin axis in peripheral axon outgrowth*. *Eur J Neurosci*, 2006. **24**(10): p. 2721-30.
96. Basu, A., J.K. Krady, and S.W. Levison, *Interleukin-1: a master regulator of neuroinflammation*. *J Neurosci Res*, 2004. **78**(2): p. 151-6.
97. Rotshenker, S., S. Amar, and V. Barak, *Interleukin-1 activity in lesioned peripheral nerve*. *J Neuroimmunol*, 1992. **39**(1-2): p. 75-80.
98. Boato, F., et al., *Interleukin-1 beta and neurotrophin-3 synergistically promote neurite growth in vitro*. *J Neuroinflammation*, 2011. **8**: p. 183.
99. Conti, G., et al., *Interleukin-1 beta and interferon-gamma induce proliferation and apoptosis in cultured Schwann cells*. *J Neuroimmunol*, 2002. **124**(1-2): p. 29-35.
100. Temporin, K., et al., *Interleukin-1 beta promotes sensory nerve regeneration after sciatic nerve injury*. *Neurosci Lett*, 2008. **440**(2): p. 130-3.
101. George, A., A. Buehl, and C. Sommer, *Wallerian degeneration after crush injury of rat sciatic nerve increases endo- and epineurial tumor necrosis factor-alpha protein*. *Neurosci Lett*, 2004. **372**(3): p. 215-9.
102. Liefner, M., B. Maruschak, and W. Bruck, *Concentration-dependent effects of pentoxifylline on migration and myelin phagocytosis by macrophages*. *J Neuroimmunol*, 1998. **89**(1-2): p. 97-103.
103. Schafers, M., et al., *Tumor necrosis factor-alpha (TNF) regulates the expression of ICAM-1 predominantly through TNF receptor 1 after chronic constriction injury of mouse sciatic nerve*. *Acta Neuropathol*, 2002. **104**(2): p. 197-205.
104. Chen, L.E., et al., *Tumor necrosis factor promotes motor functional recovery in crushed peripheral nerve*. *Neurochem Int*, 1996. **29**(2): p. 197-203.
105. Lu, G., et al., *Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 induce activation of MAP kinase and SAP kinase in human neuroma fibroblasts*. *Neurochem Int*, 1997. **30**(4-5): p. 401-10.
106. Kato, K., et al., *Immediate anti-tumor necrosis factor-alpha (etanercept) therapy enhances axonal regeneration after sciatic nerve crush*. *J Neurosci Res*, 2010. **88**(2): p. 360-8.
107. Saleh, A., et al., *Tumor necrosis factor-alpha elevates neurite outgrowth through an NF-kappaB-dependent pathway in cultured adult sensory neurons: Diminished expression in diabetes may contribute to sensory neuropathy*. *Brain Res*, 2011. **1423**: p. 87-95.
108. Yoon, C., Z. Korade, and B.D. Carter, *Protein kinase A-induced phosphorylation of the p65 subunit of nuclear factor-kappaB promotes Schwann cell differentiation into a myelinating phenotype*. *J Neurosci*, 2008. **28**(14): p. 3738-46.
109. Song, X.Y., et al., *Knockout of p75(NTR) impairs re-myelination of injured sciatic nerve in mice*. *J Neurochem*, 2006. **96**(3): p. 833-42.
110. Kaltschmidt, B., D. Widera, and C. Kaltschmidt, *Signaling via NF-kappaB in the nervous system*. *Biochim Biophys Acta*, 2005. **1745**(3): p. 287-99.
111. Pollock, G., et al., *Activation of NF-kappaB in the mouse spinal cord following sciatic nerve transection*. *Exp Brain Res*, 2005. **165**(4): p. 470-7.
112. Lessard, L., et al., *NF-kappa B nuclear localization and its prognostic significance in prostate cancer*. *BJU Int*, 2003. **91**(4): p. 417-20.
113. S, C., *Degeneration and Regeneration of the Nervous System*. 1928, London: Oxford University Press.

114. McQuarrie, I.G., *Effect of conditioning lesion on axonal sprout formation at nodes of Ranvier*. J Comp Neurol, 1985. **231**(2): p. 239-49.
115. Meller, K., *Early structural changes in the axoplasmic cytoskeleton after axotomy studied by cryofixation*. Cell Tissue Res, 1987. **250**(3): p. 663-72.
116. Friede, R.L. and R. Bischhausen, *The fine structure of stumps of transected nerve fibers in subserial sections*. J Neurol Sci, 1980. **44**(2-3): p. 181-203.
117. Erez, H., et al., *Formation of microtubule-based traps controls the sorting and concentration of vesicles to restricted sites of regenerating neurons after axotomy*. J Cell Biol, 2007. **176**(4): p. 497-507.
118. Goldberg, S., B. Frank, and S. Krayanek, *Axon end-bulb swellings and rapid retrograde degeneration after retinal lesions in young animals*. Exp Neurol, 1983. **79**(3): p. 753-62.
119. Kamber, D., H. Erez, and M.E. Spira, *Local calcium-dependent mechanisms determine whether a cut axonal end assembles a retarded endbulb or competent growth cone*. Exp Neurol, 2009. **219**(1): p. 112-25.
120. Seddon, H.J., *A Classification of Nerve Injuries*. Br Med J, 1942. **2**(4260): p. 237-9.
121. Sunderland, S., *A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function*. Brain, 1951. **74**(4): p. 491-516.
122. Davis, T.M., H.A. Karunajeewa, and K.F. Ilett, *Artemisinin-based combination therapies for uncomplicated malaria*. Med J Aust, 2005. **182**(4): p. 181-5.
123. Tu, Y., *The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from Chinese medicine*. Nat Med, 2011. **17**(10): p. 1217-20.
124. White, N.J., *Qinghaosu (artemisinin): the price of success*. Science, 2008. **320**(5874): p. 330-4.
125. van Hensbroek, M.B., et al., *A trial of artemether or quinine in children with cerebral malaria*. N Engl J Med, 1996. **335**(2): p. 69-75.
126. Chen, H. and H.I. Maibach, *Topical application of artesunate on guinea pig allergic contact dermatitis*. Contact Dermatitis, 1994. **30**(5): p. 280-2.
127. Guruprasad, B., et al., *Artesunate Ameliorates Functional Limitations in Freund's Complete Adjuvant-Induced Monoarthritis in Rat by Maintaining Oxidative Homeostasis and Inhibiting COX-2 Expression*. Inflammation, 2015. **38**(3): p. 1028-35.
128. Keiser, J., et al., *Anthelmintic activity of artesunate against Fasciola hepatica in naturally infected sheep*. Res Vet Sci, 2010. **88**(1): p. 107-10.
129. Efferth, T., et al., *The antiviral activities of artemisinin and artesunate*. Clin Infect Dis, 2008. **47**(6): p. 804-11.
130. Jiang, W., et al., *Artesunate has its enhancement on antibacterial activity of beta-lactams via increasing the antibiotic accumulation within methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. J Antibiot (Tokyo), 2013. **66**(6): p. 339-45.
131. Efferth, T., et al., *The anti-malarial artesunate is also active against cancer*. Int J Oncol, 2001. **18**(4): p. 767-73.
132. Efferth, T., et al., *Molecular modes of action of artesunate in tumor cell lines*. Mol Pharmacol, 2003. **64**(2): p. 382-94.
133. Jiao, Y., et al., *Dihydroartemisinin is an inhibitor of ovarian cancer cell growth*. Acta Pharmacol Sin, 2007. **28**(7): p. 1045-56.
134. Augustin, Y., et al., *The wisdom of crowds and the repurposing of artesunate as an anticancer drug*. Ecancermedicalscience, 2015. **9**: p. ed50.
135. Krishna, S., et al., *A Randomised, Double Blind, Placebo-Controlled Pilot Study of Oral Artesunate Therapy for Colorectal Cancer*. EBioMedicine, 2015. **2**(1): p. 82-90.

136. Efferth, T., *Molecular pharmacology and pharmacogenomics of artemisinin and its derivatives in cancer cells*. *Curr Drug Targets*, 2006. **7**(4): p. 407-21.
137. Adjuik, M., et al., *Artesunate combinations for treatment of malaria: meta-analysis*. *Lancet*, 2004. **363**(9402): p. 9-17.
138. Adjuik, M., et al., *Artesunate combinations for treatment of malaria: meta-analysis*. *Lancet*, 2004. **363**(9402): p. 9-17.
139. Chen, H.H., H.J. Zhou, and X. Fang, *Inhibition of human cancer cell line growth and human umbilical vein endothelial cell angiogenesis by artemisinin derivatives in vitro*. *Pharmacol Res*, 2003. **48**(3): p. 231-6.
140. Aldieri, E., et al., *Artemisinin inhibits inducible nitric oxide synthase and nuclear factor NF-kB activation*. *FEBS Lett*, 2003. **552**(2-3): p. 141-4.
141. He, Y., et al., *The anti-malaria agent artesunate inhibits expression of vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor-1alpha in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocyte*. *Rheumatol Int*, 2011. **31**(1): p. 53-60.
142. Li, T., et al., *Evaluation of the immunosuppressive activity of artesunate in vitro and in vivo*. *Int Immunopharmacol*, 2013. **16**(2): p. 306-12.
143. Shahraki, M., R. Mohammadi, and A. Najafpour, *Influence of Tacrolimus (FK506) on Nerve Regeneration Using Allografts: A Rat Sciatic Nerve Model*. *J Oral Maxillofac Surg*, 2015. **73**(7): p. 1438.e1-9.
144. Yeh, C., D. Bowers, and T.A. Hadlock, *Effect of FK506 on functional recovery after facial nerve injury in the rat*. *Arch Facial Plast Surg*, 2007. **9**(5): p. 333-9.
145. Lan, C.C., et al., *FK506 inhibits tumour necrosis factor-alpha secretion in human keratinocytes via regulation of nuclear factor-kappaB*. *Br J Dermatol*, 2005. **153**(4): p. 725-32.
146. Gupta, A.K., A. Adamiak, and M. Chow, *Tacrolimus: a review of its use for the management of dermatoses*. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2002. **16**(2): p. 100-14.
147. Phan, D.Q. and F. Schuind, *Tolerance and effects of FK506 (tacrolimus) on nerve regeneration: a pilot study*. *J Hand Surg Eur Vol*, 2012. **37**(6): p. 537-43.
148. Chen, B., Y. Song, and Z. Liu, *Promotion of nerve regeneration in peripheral nerve by short-course FK506 after end-to-side neurorrhaphy*. *J Surg Res*, 2009. **152**(2): p. 303-10.
149. Udina, E., et al., *FK506 enhances regeneration of axons across long peripheral nerve gaps repaired with collagen guides seeded with allogeneic Schwann cells*. *Glia*, 2004. **47**(2): p. 120-9.
150. Dumont, F.J., et al., *The immunosuppressive and toxic effects of FK-506 are mechanistically related: pharmacology of a novel antagonist of FK-506 and rapamycin*. *J Exp Med*, 1992. **176**(3): p. 751-60.
151. Felldin, M., et al., *Rescue therapy with tacrolimus (FK 506) in renal transplant recipients--a Scandinavian multicenter analysis*. *Transpl Int*, 1997. **10**(1): p. 13-8.
152. Nielsen, F.T., et al., *Nephrotoxicity of FK-506 in the rat. Studies on glomerular and tubular function, and on the relationship between efficacy and toxicity*. *Nephrol Dial Transplant*, 1995. **10**(3): p. 334-40.
153. Madsen, J.R., et al., *Tacrolimus (FK506) increases neuronal expression of GAP-43 and improves functional recovery after spinal cord injury in rats*. *Exp Neurol*, 1998. **154**(2): p. 673-83.
154. Gold, B.G., et al., *Immunophilin FK506-binding protein 52 (not FK506-binding protein 12) mediates the neurotrophic action of FK506*. *J Pharmacol Exp Ther*, 1999. **289**(3): p. 1202-10.

155. Steiner, J.P., et al., *Neurotrophic actions of nonimmunosuppressive analogues of immunosuppressive drugs FK506, rapamycin and cyclosporin A*. *Nat Med*, 1997. **3**(4): p. 421-8.
156. Fansa, H., et al., *The effect of the immunosuppressant FK 506 on peripheral nerve regeneration following nerve grafting*. *J Hand Surg Br*, 1999. **24**(1): p. 38-42.
157. Gold, B.G., *FK506 and the role of immunophilins in nerve regeneration*. *Mol Neurobiol*, 1997. **15**(3): p. 285-306.
158. Hardman JG, L.L., *The Pharmacological Basis of Therapeutics* 9ed. 1995, New York.
159. Keenan, G.F., *Management of complications of glucocorticoid therapy*. *Clin Chest Med*, 1997. **18**(3): p. 507-20.
160. Galloway, E.B., 3rd, et al., *Role of topical steroids in reducing dysfunction after nerve injury*. *Laryngoscope*, 2000. **110**(11): p. 1907-10.
161. Karki, P., et al., *Transcriptional Regulation of Human Transforming Growth Factor-alpha in Astrocytes*. *Mol Neurobiol*, 2017. **54**(2): p. 964-976.
162. Zeng, M., et al., *Clarithromycin and dexamethasone show similar anti-inflammatory effects on distinct phenotypic chronic rhinosinusitis: an explant model study*. *BMC Immunol*, 2015. **16**: p. 37.
163. Li, L., et al., *Klotho Reduction in Alveolar Macrophages Contributes to Cigarette Smoke Extract-induced Inflammation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. *J Biol Chem*, 2015. **290**(46): p. 27890-900.
164. Kadiyala, V., et al., *Cistrome-based Cooperation between Airway Epithelial Glucocorticoid Receptor and NF-kappaB Orchestrates Anti-inflammatory Effects*. *J Biol Chem*, 2016. **291**(24): p. 12673-87.
165. Gao, W., et al., *Dexamethasone promotes regeneration of crushed inferior alveolar nerve by inhibiting NF-kappaB activation in adult rats*. *Arch Oral Biol*, 2017. **80**: p. 101-109.
166. Becker, K.W., E.W. Kienecker, and I. Andrae, *[Effect of locally applied corticoids on the morphology of peripheral nerves following neurotmesis and microsurgical suture]*. *Neurochirurgia (Stuttg)*, 1987. **30**(6): p. 161-7.
167. Neuberger, T.J., et al., *Glucocorticoids enhance the potency of Schwann cell mitogens*. *J Neurosci Res*, 1994. **38**(3): p. 300-13.
168. Bayramiçli, M., *Sinirde mikrocerrahi çalışması, Deneysel Mikrocerrahi Temel Araştırma Doku ve Organ Nakli Modelleri*. 2005, İstanbul: Argos. 339-364.
169. Mekaj, A.Y., et al., *Effects of hyaluronic acid and tacrolimus on the prevention of perineural scar formation and on nerve regeneration after sciatic nerve repair in a rabbit model*. *Eur J Trauma Emerg Surg*, 2016.
170. Suslu, H., et al., *Comparison of the effects of local and systemic dexamethasone on the rat traumatic sciatic nerve model*. *Turk Neurosurg*, 2013. **23**(5): p. 623-9.
171. Cheung, L.K., et al., *Incidence of neurosensory deficits and recovery after lower third molar surgery: a prospective clinical study of 4338 cases*. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2010. **39**(4): p. 320-6.
172. Haug, R.H., et al., *The American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons Age-Related Third Molar Study*. *J Oral Maxillofac Surg*, 2005. **63**(8): p. 1106-14.
173. Lopes, V., et al., *Third molar surgery: an audit of the indications for surgery, post-operative complaints and patient satisfaction*. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 1995. **33**(1): p. 33-5.
174. Smith, W.P., *The relative risk of neurosensory deficit following removal of mandibular third molar teeth: the influence of radiography and surgical technique*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2013. **115**(1): p. 18-24.

175. Ziccardi, V.B. and J.R. Zuniga, *Nerve Injuries After Third Molar Removal*. Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America, 2007. **19**(1): p. 105-115.
176. Anders, J.J., et al., *Low-Power Laser Irradiation Alters the Rate of Regeneration of the Rat Facial-Nerve*. Lasers in Surgery and Medicine, 1993. **13**(1): p. 72-82.
177. Le Prell, C.G., L.F. Hughes, and J.M. Miller, *Free radical scavengers vitamins A, C, and E plus magnesium reduce noise trauma*. Free Radical Biology and Medicine, 2007. **42**(9): p. 1454-1463.
178. Melcangi, R.C., et al., *Peripheral nerves: a target for the action of neuroactive steroids*. Brain Res Brain Res Rev, 2005. **48**(2): p. 328-38.
179. Subbanna, P.K., et al., *Acetyl salicylic acid augments functional recovery following sciatic nerve crush in mice*. J Brachial Plex Peripher Nerve Inj, 2007. **2**: p. 3.
180. Takimoto, I. and K. Fujibayashi, *Effect of Flunarizine on Experimentally Induced Facial-Nerve Injury*. Acta Oto-Laryngologica, 1988: p. 152-156.
181. Varejao, A.S., et al., *Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis*. J Neurosci Methods, 2001. **108**(1): p. 1-9.
182. Dijkstra, J.R., et al., *Methods to evaluate functional nerve recovery in adult rats: walking track analysis, video analysis and the withdrawal reflex*. J Neurosci Methods, 2000. **96**(2): p. 89-96.
183. Baptista, A.F., et al., *A new approach to assess function after sciatic nerve lesion in the mouse - adaptation of the sciatic static index*. J Neurosci Methods, 2007. **161**(2): p. 259-64.
184. van Meeteren, N.L., et al., *Exercise training improves functional recovery and motor nerve conduction velocity after sciatic nerve crush lesion in the rat*. Arch Phys Med Rehabil, 1997. **78**(1): p. 70-7.
185. van Meeteren, N.L., et al., *Functional recovery from sciatic nerve crush lesion in the rat correlates with individual differences in responses to chronic intermittent stress*. J Neurosci Res, 1997. **48**(6): p. 524-32.
186. Malushte, T.S., et al., *Assessment of recovery following a novel partial nerve lesion in a rat model*. Muscle Nerve, 2004. **30**(5): p. 609-17.
187. Li, R., et al., *Chitosan conduit combined with hyaluronic acid prevent sciatic nerve scar in a rat model of peripheral nerve crush injury*. Mol Med Rep, 2018. **17**(3): p. 4360-4368.
188. Ghayour, M.B., A. Abdolmaleki, and M.B. Rassouli, *Neuroprotective effect of Lovastatin on motor deficit induced by sciatic nerve crush in the rat*. Eur J Pharmacol, 2017. **812**: p. 121-127.
189. Mekaj, A.Y., et al., *Effects of hyaluronic acid and tacrolimus on the prevention of perineural scar formation and on nerve regeneration after sciatic nerve repair in a rabbit model*. Eur J Trauma Emerg Surg, 2017. **43**(4): p. 497-504.
190. Mekaj, A.Y., et al., *Electrophysiological and functional evaluation of peroneal nerve regeneration in rabbit following topical hyaluronic acid or tacrolimus application after nerve repair*. Niger Postgrad Med J, 2015. **22**(3): p. 179-84.
191. Seth, R., et al., *Facial nerve neuroorrhaphy and the effects of glucocorticoids in a rat model*. Otolaryngol Head Neck Surg, 2012. **147**(5): p. 832-40.
192. Disbrow, G.L., et al., *Dihydroartemisinin is cytotoxic to papillomavirus-expressing epithelial cells in vitro and in vivo*. Cancer Res, 2005. **65**(23): p. 10854-61.
193. Lundborg, G., *A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: evolving neuroscientific concepts and clinical significance*. J Hand Surg Am, 2000. **25**(3): p. 391-414.
194. Luo, T.D., et al., *Effects of age and insulin-like growth factor-1 on rat neurotrophin receptor expression after nerve injury*. Muscle Nerve, 2016. **54**(4): p. 769-75.

195. Hsu, M. and F.F. Stevenson, *Wallerian degeneration and recovery of motor nerves after multiple focused cold therapies*. Muscle Nerve, 2015. **51**(2): p. 268-75.
196. Boztosun, G., *Deneysel periferik sinir hasarında farklı formüllerdeki eritropoetinin karşılaştırılması*, in *Uzmanlık Tezi*. 2008, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi: Denizli. p. 64, 65.
197. Diaz, L.M., et al., *The role of topically administered FK506 (tacrolimus) at the time of facial nerve repair using entubulation neuroorrhaphy in a rabbit model*. Ann Plast Surg, 2004. **52**(4): p. 407-13.
198. Du, J.S., et al., *7,8-dihydroxycoumarin may promote sciatic nerve regeneration by suppressing NF-kappaB expression in mice*. Mol Med Rep, 2013. **8**(5): p. 1525-30.
199. Al Salihi, M.O., et al., *Tumor necrosis factor-alpha antagonist suppresses local inflammatory reaction and facilitates olfactory nerve recovery following injury*. Auris Nasus Larynx, 2017. **44**(1): p. 70-78.
200. Yang, Z., et al., *Immunomodulatory and anti-inflammatory properties of artesunate in experimental colitis*. Curr Med Chem, 2012. **19**(26): p. 4541-51.
201. Verma, S. and V.L. Kumar, *Attenuation of gastric mucosal damage by artesunate in rat: Modulation of oxidative stress and NFkappaB mediated signaling*. Chem Biol Interact, 2016. **257**: p. 46-53.
202. Kalinski, P., *Regulation of immune responses by prostaglandin E2*. J Immunol, 2012. **188**(1): p. 21-8.
203. Okorji, U.P. and O.A. Olajide, *A semi-synthetic derivative of artemisinin, artesunate inhibits prostaglandin E2 production in LPS/IFNgamma-activated BV2 microglia*. Bioorg Med Chem, 2014. **22**(17): p. 4726-34.