

T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA

CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

DESELÜLERİZE ALSTROEMERİA ÇİÇEK SAPINDAN ELDE EDİLMİŞ İLAÇ SALINIMSIZ VE IGF-1 LR3 KONTROLLÜ İLAÇ SALINIMI YAPAN SİNİR KONDUİTLERİNİN SIÇAN SİYATİK SİNİR DEFEKTİ MODELİNDE OTOLOG SİNİR GREFTİ VE STANDART SİNİR KONDUİTİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ UZMANLIK TEZİ

Dr. ERSİN YAVUZ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. ANIL DEMİRÖZ

İSTANBUL – 2024

T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA

CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

DESELÜLERİZE ALSTROEMERIA ÇİÇEK SAPINDAN ELDE EDİLMİŞ İLAÇ SALINIMSIZ VE IGF-1 LR3 KONTROLLÜ İLAÇ SALINIMI YAPAN SİNİR KONDUİTLERİNİN SIÇAN SİYATİK SİNİR DEFEKTİ MODELİNDE OTOLOG SİNİR GREFTİ VE STANDART SİNİR KONDUİTİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ UZMANLIK TEZİ

Dr. ERSİN YAVUZ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. ANIL DEMİRÖZ

İSTANBUL – 2024

ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve becerilerinin yanı sıra tecrübelerinden büyük kazanç sağladığım ve yetişmemde sonsuz emekleri olan değerli hocalarım Sn. Prof. Dr. Oğuz ÇETİNKALE, Sn. Prof. Dr. Yağmur AYDIN, Sn. Prof. Dr. Arif TÜRKMEN, Sn. Prof. Dr. Hakan ARSLAN, Sn. Doç. Dr. Semih BAĞHAKİ, Sn. Doç. Dr. Anıl DEMİRÖZ'e, Sn. Doç. Dr. Berrak KARATAN'a ve Doç. Dr. Alp ERCAN'a sonsuz teşekkürlerimi arz ederim.

Asistanlığım süresince benden destek, birikim ve hoşgörülerini esirgemeyen sayın tez danışmanım Doç. Dr. Anıl DEMİRÖZ'e, tez çalışması için yaptığı katkılardan dolayı İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Nanoteknoloji e Biyoteknoloji Anabilimdan Doç. Dr. Fırat Barış BARLAS'A, Doç.Dr. Merve Erginer HASKÖYLÜ'ye, Ar. Gör. Şima KILIÇ'a, Ar. Gör. İsmail Bergutay KALAYCILAR'a tezim sürecinde yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarım, Dr. Başak DAĞHAN'a, Dr. Koray TEMİZ'e, Dr. Uğur ÇELİK'e, Dr. Fatih ÇINAR'a, Dr. Servert Yekta AYDIN'a, Dr. Can Ege YALÇIN'a, Dr. Cemal Burak SİRKECİ'ye, Dr. Serkan MELENKİŞ'e, Dr. Mehmet DEMİR'e, Dr. İsmail ÖZPÜR'e, Dr. Esra Zeynep KURTOĞLU'na, Dr. Emre Berk BULUT'a, Dr. Tolga SARIGÖZ'e, Dr. Levent DEMİR'e, Dr. Oğuz YILDIRIM'a, Dr. Çağlar YILMAZ'a, Dr. Melih SAĞIR'a, Dr. Furkan Taner OKUR'a, Dr. Oğuzhan KESKİN'e, Dr. Emre GÖK'e, Dr. Çağdaş BULUT, Dr. Berat Çalışkan, Dr. Sabit İlke RİZELİOĞLU, Dr. Alper GÜNEL, Dr. İrem Okay TAŞCAN'a, Dr. Osman ACUN'a ve ayrıca tez sürecimdeki tüm aşamaların medikal çizimlerini yapan Gökçe TANIYAN'a da sonsuz teşekkür ederim. Plastik Cerrahi Kliniği hemşire, personel ve tüm çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Tüm hayatım boyunca desteklerini benden esirgemeyen sevgili annem Sn. Nuran YAVUZ'a, sevgili babam Sn. Hasan YAVUZ'a, sevgili abim Sn. Ender YAVUZ'a, her zaman yanımda olan sevgili Dr. Elif YAZICI'ya sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Dr. Ersin YAVUZ

İstanbul 2024

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ **3**
İÇİNDEKİLER ..... **IV**
SİMGE VE KISALTMALAR ..... **I**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **III**
TABLO DİZİNİ ..... **V**
GRAFİK DİZİNİ ..... **VII**
ETİK KURUL ONAYI ..... **VIII**
TEZ/PROJE FİNANSAL DESTEK BİLDİRİMİ ..... **X**
ÖZET ..... **XI**
ABSTRACT ..... **XII**
1.GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **4**
2.1. SİNİR SİSTEMİ VE PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ ANATOMİSİ 4
2.2. SİNİR EMBRİYOLOJİSİ VE HİSTOLOJİSİ 12
2.3. PERİFERİK SİNİR YARALANMALARI VE SİNİR İYİLEŞMESİ 18
2.4. SİNİR KONDÜİTLERİ 26
2.5. DESELÜLARİZE BİYOMATERYALLER VE TIBBİ UYGULAMALARI 29
2.6. ALSTROEMERİA ÇİÇEĞİ (PERU ZAMBAĞI) ÖZELLİKLERİ 32
2.7. İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ-1 UZUN ARJİNİN-3 (IGF-1 LR3) 34
3. GEREÇ VE YÖNTEM **37**
3.1. BITKI SAPLARININ DESELÜLERIZASYONU **37**
3.2. BITKI SAPLARININ KARAKTERIZASYONU **38**
3.2.1. MORFOLOJİK ANALİZ 39
3.2.2. GÖZENEKLİLİK ANALİZİ 39
3.2.3. MEKANİK ANALİZ 39
3.3. NIOZOM SENTEZI VE İLAÇ YÜKLENILMESI **39**
3.3.1. NİOZOM SENTEZİ 39
3.3.2. ENKAPSÜLASYON VERİMİ (EV) 40
3.4. NIOZOM KARAKTERIZASYONU VE İLAÇ SALINIM ÇALIŞMALARI **40**
3.4.1. KARAKTERİZASYON ANALİZLERİ 40
3.4.2. İLAÇ SALINIM ÇALIŞMALARI 41
3.5. İN- VITRO BIYOUYUMLULUK ÇALIŞMALARI **42**
3.5.1. HÜCRE KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARI 42
3.5.2. ISO 10993-5 HÜCRE VİABİLİTESİ (MTT) 43
3.5.3. HÜCRE FİKSASYONU, AKTİN İŞARETLEME VE DAPI BOYAMA (FLORESAN BOYAMA) 44
3.6. DENEY GRUPLARI **45**
3.7. CERRAHI YÖNTEM **45**

4. BULGULAR 56
4.2. YÜRÜME ANALİZİ SONUÇLARI 56
4.3. KAS AĞIRLIK ANALİZİ SONUÇLARI 61
4.4. ELEKTROFİZYOLOJİK ANALİZ SONUÇLARI 64
4.5. HİSTOKİMYASAL SONUÇLAR 66
5. TARTIŞMA 91
6. SONUÇ 99
7. KAYNAKLAR 100
8. ÖZGEÇMİŞ 107
9. İNTİHAL TARAMA RAPORU 111

SİMGE VE KISALTMALAR

IGF-1 : İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü -1

IGF-1 LR3 : Uzun Arjin 3 İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü -1

PSS : Periferik Sinir Sistemi

SSS : Santral Sinir Sistemi

ÖVD : Özel Visseral Duyusal

GSD : Genel Somatik Duyusal

GVD : Genel Visseral Duyusal

ÖSD : Özel Somatik Duyusal

GSM : Genel Somatik Motor

GVM : Genel Visseral Motor

ÖVM : Özel Visseral Motor

SVM : Somatik Visseral Motor

CN : Kranyal Sinir

NBF : Nöron Büyüme Faktörü

SNF : Siliyer Nörotrofik Faktör

VEGF : Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

MUP : Motor Ünite Potansiyeli

PSW : Pozitif Diken Dalgası

Fib : Fibrilasyon

MACB : Medial Antebrakiyal Kütanöz Sinir

LACB : Lateral Antebrakiyal Kütanöz Sinir

SBRN : Süperfisyal Radyal Sinir

PGA : Poliglikolik Asit

PGLA : Polilaktid-ko-glikolid

PLA: Polilaktik asit

PCL: Polilaprolakton

PDLLA: Poly-d,l-lactic acid

H/E: Hematoxilen/Eozin

IGFBP-3: IGF Bağlayıcı Protein-3

SDS: Sodium dodesil sulfat

PBS: Tamponlanmış Fosfat Solüsyonu

FEGSEM: Alan Emisyon Tabancalı Taramalı Elektron Mikroskobu

ASTM: Amerikan Test Malzemeleri Standardı

STEM: Taramalı Geçirimli Elektron Mikroskobunda

DLS : Dinamik Işık Saçılımı

DMEM: Dulbecco'nun Modifiye Kartal Ortamı

EDTA: Etilendiamintetraasetik Asit

MTT: Hücre Viabilite Testi

DAPI: 4',6-diamidino-2-fenilindol

µm: Mikrometre

mA: Miliamper

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1- Servikal Pleksus kökleri ve dalları
Şekil 2- Brakiyal Pleksus kökleri ve dalları
Şekil 3- Lumbar Pleksus kökleri ve dalları
Şekil 4- Sakral Pleksus kökleri ve dalları
Şekil 5- Kranyal Sinirlerin Şematik Görüntüsü
Şekil 6- Myelin kılıfı ve Ranvier Nodlarının görüntüsü
Şekil 7- Myelinli sinir liflerinin elektron mikroskop altındaki görüntüsü
Şekil 8- Kranyal Sinirlerin Kökenleri
Şekil 9- Sinir Yaralanmaların Derecelendirilmesinin Şematik Görüntüsü
Şekil 10- Periferik sinir hasarını takiben Wallerian dejenerasyonunun şematik çizimi. (a) Schwann hücreleri tarafından oluşturulan miyelin kılıf ile çevrili aksonu ile tipik bir motor nöronun anatomisi. (b)
Şekil 11- Epinöral nörorafinin şematik görüntüsü
Şekil 12- Sinir grefti ile onarım için alınan donör sural sinir greftleri (A), Sural sinir greftinin periferik fasyal sinir onarımı için kullanıması (B)
Şekil 13- Sol el 2.parmakta dijital sinir kesisinin görüntüsü (A), Sol el 2.parmaktaki dijital sinir kesisinin primer epinöral onarım sonrası görüntüsü (B), Başka bir hastada sağ el 2.parmaktaki dijital sinir kesisinin MACB sinir grefti ile onarımı sonrasındaki görüntüsü (C)
Şekil 14- Sinir konduitlerin biyolojik etkileri
Şekil 15- Ticari sinir konduiti Neuragen görüntüsü (A), Sinir konduitinin proksimal ve distal sinir uçlarınına uygulanışının şematik görüntüsü (B)
Şekil 16- Bitkilerin Deselülarizasyonunun Kullanım Etkinliği
Şekil 17- Bitkilerin Deselülarizasyonun Metodları
Şekil 18- Sarı renkli Alstroemeria Çiçeğinin doğal görüntüsü
Şekil 19- Çalışmamızda kullandığımız Alstromeria çiçeğinin sapı ve kesilmiş hallerinin görüntüsü (A), Işık mikrokopu altında Alstroemeria çiçeği sapının H/E boya ile kanallı yapısının gösterilmesi (B)
Şekil 20- İnsülin ve IGF-1 reseptörlerinin yapısı
Şekil 21- IGF-I LR3 ve IGF-1 insülin aminoasit sıralamaları
Şekil 22- Bitki saplarının deselülerizasyon öncesi görüntüsü
Şekil 23- Bitki saplarının SDS solüsyonunda bekletilmesi
Şekil 24- Deselülerize edilmiş bitki sapınının görüntüsü
Şekil 25- İlaç içermeyen niozomların taramalı geçirimli elektron mikroskobunda(STEM) görüntüsü (A), IGF-1 LR3 ilaç içeren niozomların taramalı geçirimli elektron mikroskobunda(STEM) görüntüsü (B)
Şekil 26- ISO 10993-5 Hücre Viabilitesi (MTT) ölçümleri için besi yeri hazırlanması
Şekil 27- IGF-1 LR3 salınımı yapan sinir kondüitlerinin DAPI boyama altında hücrelerin görüntüsü (A), IGF-1 LR3 ilaç salınımı yapan sinir kondüitlerinin transvers kesitte DAPI boyama altındaki görüntüsü (B)
Şekil 28- Tıraş sonrası cerrahi hazırlık
Şekil 29- Sol arka ekstremite insizyonun çizimi (A), Gluteus maksimus kası split edikdikten sonra siyatik sinirin görüntüsü (B)
Şekil 30- Siyatik sinir üzerinde oluşturalacak 1 cm defektin ölçülmesi(A), Sinir üzerinde oluşan defektin görüntüsü (B)
Şekil 31- Üçüncü grubun sinir greftinin adapte edilmeden önceki görüntüsü(A), Sinir greftinin defekte sütüre edildikten sonraki görüntüsü (B)
Şekil 32- Üçüncü grupta ticari sinir kondüitinin mikroskop altında sütüre edilmesi

Beşinci grup ilaç salınımsız sinir kondüitin görüntüsü(A), Altıncı grup IGF-1 LR3 ilaç salınımı yapan sinir kondüitinin mikroskop altında görüntüsü(B)
Şekil 33- Beşinci grup ilaç salınımsız sinir kondüitin görüntüsü(A), Altıncı grup IGF-1 LR3 ilaç salınımı yapan sinir kondüitinin mikroskop altında görüntüsü(B)
Şekil 34- Gluteus maksimus kasın sütüre edilmesi (A), Cildin kapatılmış hali(B) Sol arka ekstremitenin atellenmiş görüntüsü (C)
Şekil 35- Yürüme analizi için ayakların boyanması (A), Yürüme analizi sırasında sıçanın düzenekte görüntüsü (B) Yürüme analizi sırasında kağıt görüntüsü(C)
Şekil 36- Elektrofizyolojik inceleme için elektrodların yerleştirilmesi (A), 0.1 miliamper(mA) verilmesi sonrasında alınan uyarının görüntüsü(B)
Şekil 38- Alınan sinir örneğinin görüntüsü (A), Alınan kas örneklerinin görüntüsü (B), Kasın hassas terazide ağırlık ölçümü görüntüsü(C)
Şekil 39- Hasarlı sinirlerde akson hasarı, aksonal şişme ve myelin dejenerasyonunun görüntüsü
Şekil 40- TM boyama ile siyatik sinirin detayları
Şekil 41- MBP İHK boyama ile siyatik sinirin detayları
Şekil 42- NRF İHK boyama ile siyatik sinirin detayları
Şekil 43- S100 İHK boyama ile siyatik sinirin detayları

TABLO DİZİNİ

Tablo 1- Kranyal sinirlerin köken aldıkları yer
Tablo 2- Tüm Kranyal Sinirlerin Özellikleri
Tablo 3- Periferik sinir sistemi glia hücreleri ve fonksiyonları
Tablo 4- Sinir Yaralanmaların Derecelendirilmesi
Tablo 5: Sinir greftlemesinde kullanılabilen donör sinirler
Tablo 6: Tıbbi Araştırma Konseyinin motor ve duyusal iyileşme skalası
Tablo 7: Sinir yaralanmalarında elektrodiagnostik bulgular
Tablo 8: Çeşitli biyolojik konduit örnekleri ve referansları
Tablo 9: Çeşitli kullanılmış olan büyüme faktörleri ve hücreleri ve referansları
Tablo 10: Patenti alınmış FDA onayı bulunan sinir konduitleri ve üretildiği materyaller
Tablo 11: IGF-1 LR3'ün saatlere göre salım değerleri
Tablo 12: Deney gruplarının ve tekrar sayılarının tablosal gösterimi
Tablo 13: Yürüme analizi tüm gruplardaki hesaplamalar sonucu değerleri
Tablo 14: Yürüme analizi 4.haftada grupların dağılım verileri
Tablo 15: Yürüme analizi 4.haftada grupların Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 16: Yürüme analizi 8.haftada grupların dağılım verileri
Tablo 17: Yürüme analizi 8.haftada grupların Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 18: Yürüme analizi 12.haftada grupların dağılım verileri
Tablo 19: Yürüme analizi 12.haftada grupların Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 20: Kas ağırlık oranlarının tüm gruplardaki hesaplamalar sonucu değerleri
Tablo 21: Kas ağırlık oranlarının gruplardaki dağılım verileri
Tablo 22: Kas ağırlık oranlarının Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 23: Elektrofizyolojik iletim amplitüdlerinin tüm gruplardaki hesaplamalar sonucu değerleri
Tablo 24: Elektrofizyolojik iletim amplitüdlerinin gruplardaki dağılım verileri
Tablo 25: Elektrofizyolojik iletim amplitüdlerinin Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 26: Proksimal kesitte akson sayılarının miktarları
Tablo 27: Proksimal kesitte akson sayılarının gruplar arasında dağılımı
Tablo 28: Proksimal kesitte akson sayılarının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 29: Orta kesitte akson sayılarının miktarları
Tablo 30: Orta kesitte akson sayılarının gruplar arasında dağılımı
Tablo 31: Orta kesitte akson sayılarının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 32: Distal kesitte akson sayılarının miktarları
Tablo 33: Distal kesitte akson sayılarının gruplar arasında dağılımı
Tablo 34: Distal kesitte akson sayılarının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 35: Proksimal bölge Myelin Kılıfı Kalınlığının gruplardaki değerleri
Tablo 36: Proksimal bölge Myelin Kılıfı Kalınlığının gruplardaki dağılımı
Tablo 37: Proksimal bölge Myelin kılıfı kalınlığının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 38: Orta aksonal bölgede Myelin Kılıfı Kalınlığının gruplardaki değerleri
Tablo 39: Orta bölge Myelin Kılıfı Kalınlığının gruplardaki dağılımı
Tablo 40: Orta bölge Myelin kılıfı kalınlığının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 41: Distal aksonal bölgede Myelin Kılıfı Kalınlığının gruplardaki değerleri

Tablo 42: Distal bölge Myelin Kılıfı Kalınlığının gruplardaki dağılımı
Tablo 43: Distal bölge Myelin kılıfı kalınlığının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 44: MBP İHK boyamasının gruplardaki değerleri
Tablo 45: MBP İHK boyamasının gruplardaki dağılımı
Tablo 46: MBP İHK boyamasının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 47: NRF İHK boyamasının gruplardaki değerleri
Tablo 48: NRF İHK boyamasının gruplardaki dağılımı
Tablo 49: NRF İHK boyamasının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 50: S100 İHK boyamasının gruplardaki değerleri
Tablo 51: S100 İHK boyamasının gruplardaki dağılımı
Tablo 52: S100 İHK boyamasının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 53: Kas H/E boyamasının gruplardaki değerleri
Tablo 54: Kas H/E boyamasının gruplardaki dağılımı
Tablo 55: Kas H/E boyamasının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması
Tablo 56: Kas MT boyamasının gruplardaki değerleri
Tablo 57: Kas MT boyamasının gruplardaki dağılımı
Tablo 58: Kas MT boyamasının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1- İlaç salınım çalışmasında IGF-1 LR3 salınım grafiği
Grafik 2- Hücre Kültürü sırasında kontrol, ilaç salınımlı ve ilaç salınım sinir kondütilerinin hücre canlılığın testinin verileri
Grafik 3: Yürüme analizi 4.haftada grupların grafik dağılımı
Grafik 4: Yürüme analizi 8.haftada grupların grafik dağılımı
Grafik 5: Yürüme analizi 12.haftada grupların grafik dağılımı
Grafik 6: Kas ağırlık oranlarının grafik dağılımı
Grafik 7: Elektrofizyolojik iletim amplitüdlerinin grafik dağılımı
Grafik 8: Proksimal kesitte akson sayılarının grafiksel dağılımı
Grafik 9: Orta kesitte akson sayılarının grafiksel dağılımı
Grafik 10: Distal kesitte akson sayılarının grafiksel dağılımı
Grafik 11: Proksimal bölge Myelin kılıfı kalınlığının grafiksel dağılımı
Grafik 12: Orta bölge Myelin kılıfı kalınlığının grafiksel dağılımı
Grafik 13: Distal bölge Myelin kılıfı kalınlığının grafiksel dağılımı
Grafik 14: MBP İHK boyamasının grafiksel dağılımı
Grafik 15: NRF İHK boyamasının grafiksel dağılımı
Grafik 16: S100 İHK boyamasının grafiksel dağılımı
Grafik 17: Kas H/E boyamasının grafiksel dağılımı
Grafik 18: Kas MT boyamasının grafiksel dağılımı

ETİK KURUL ONAYI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

Sayı : E-74555795-050.04.01-789324 21.09.2023
Konu : 2023/35 Sayılı Etik Kurul Onayı

Sayın Doç. Dr. Anıl DEMİRÖZ

İlgi : 04.08.2023 tarihli proje başvurunuz.

Sorumluluğunu üstlendiğiniz Araştırma Görevlisi Dr**. Ersin YAVUZ'**un *"Deselülerize Alstroemeria çiçek sapından elde edilmiş ilaç salınımsız ve IGF-1 LR3 kontrollü ilaç salınımı yapan sinir kondüitlerinin sıçan siyatik sinir defekti modelinde otolog sinir grefti ve standart sinir kondüiti ile karşılaştırılması"* başlıklı **"Tıpta Uzmanlık Tez"** projeniz Etik Kurulumuzun 25.08.2023 tarihli toplantısında görüşülmüş olup, **2023/35 No'lu** Etik Kurulu Onay formu ilişikte gönderilmiştir.

Gereği için bilgileriniz rica olunur.

Prof. Dr. Pınar ATUKEREN
Başkan

Ek:1 Etik Kurul Onayı

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu :BSEPK4A583 Belge Takip Adresi : https://www.turkiye.gov.tr/istanbul-universitesi-cerrahpasa-ebys

Adres:İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Rektörlüğü, 34320 Avcılar-İstanbul
Telefon:0212 404 03 00 Faks:0212 404 07 01
Web:https://www.iuc.edu.tr
Kep Adresi:iuc@hs01.kep.tr

Bilgi için: Canan SÖNMEZTÜRK

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Başvuru Tarihi: 04.08.2023

Toplantı Karar No:2023/35

İlgili Makama;
İÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Plastik,Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi **Doç. Dr. Anıl DEMİRÖZ'ün** yürütücülüğünü üstlendiği **Araştırma Görevlisi Dr Ersin YAVUZ'un "***Deselülerize Alstroemeria çiçek sapından elde edilmiş ilaç salınımsız ve IGF-1 LR3 kontrollü ilaç salınımı yapan sinir kondüitlerinin sıçan siyatik sinir defekti modelinde otolog sinir grefti ve standart sinir kondüiti ile karşılaştırılması"* başlıklı "**Tıpta Uzmanlık Tez**" başvurusu ile "İÜC Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna" başvurmuş olup, Kurulumuzun **25.08.2023** tarihinde gerçekleştirilen toplantısında incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Ünvanı / Adı / Soyadı	Kurumu	Raporlörün araştırma İle ilişkisi	Karar
Prof. Dr. Pınar ATUKEREN (Başkan)	İÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E ○ H ☑	☑ Onay ○ Katılmadı ○ Ret ○ M.Katılmadı
Prof. Dr.Çağatay TEK (Başkan Vekili)	İÜC Veteriner Fakültesi	E ○ H ☑	☑ Onay ○ Katılmadı ○ Ret ○ M.Katılmadı
Prof. Dr. Hasret YARDİBİ (Sorumlu (Veteriner Hekim)	İÜC Veteriner Fakültesi	E ○ H ☑	☑ Onay ○ Katılmadı ○ Ret ○ M.Katılmadı
Prof. Dr. Erdinç DURSUN	İÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E ○ H ☑	☑ Onay ○ Katılmadı ○ Ret ○ M.Katılmadı
Prof. Dr. Hakan ARSLAN	İÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E ○ H ☑	☑ Onay ○ Katılmadı ○ Ret ○ M.Katılmadı
Doç.Dr. Şenol EMRE	İÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E ○ H ☑	☑ Onay ○ Katılmadı ○ Ret ○ M.Katılmadı
Doç.Dr. Halit Eren Taşkın	İÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E ○ H ☑	☑ Onay ○ Katılmadı ○ Ret ○ M.Katılmadı
Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe BORAN	İÜC Eczacılık Fakültesi	E ○ H ☑	☑ Onay ○ Katılmadı ○ Ret ○ M.Katılmadı
Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin BEŞİROĞLU	İÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E ○ H ☑	☑ Onay ○ Katılmadı ○ Ret ○ M.Katılmadı
Öğr. Gör.Dr. Bilge BATU OTO	İÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E ○ H ☑	☑ Onay ○ Katılmadı ○ Ret ○ M.Katılmadı
Arş. Gör. Şima KILIÇ (Veteriner Hekim)	İÜC Nanoteknoloji ve Biyoteknoloji Enstitüsü	E ○ H ○	☑ Onay ○ Katılmadı ○ Ret ○ M.Katılmadı
Mim. Güzin AYDIN	Sivil Toplum Kuruluşu üyesi TC vatandaşı	E ○ H ○	☑ Onay ○ Katılmadı ○ Ret ○ M.Katılmadı
Uzm. Dr. Muzaffer Onur ŞERAN (Veteriner Hekim)	Sivil üye	E ○ H ☑	☑ Onay ○ Katılmadı ○ Ret ○ M.Katılmadı

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Rektörlüğü, 34320 Avcılar-İstanbul
Tel : (0 212)) 4040300/16601-16602
Web:https://www.iuc.edu.tr
Kep Adresi:iuc@hs01.kep.tr

Bilgi için: Canan SÖNMEZTÜRK
Zeynep CÖMERT

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Evrak doğrulaması https://www.turkiye.gov.tr/istanbul-universitesi-cerrahpasa-ebys?eD=BS5P5Z14SZ&eS=786054 adresinden yapılabilir.

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

TEZ/PROJE FİNANSAL DESTEK BİLDİRİMİ

Bu çalışma, Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı (TÜSEB) tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 31745

Ayrıca çalışmamız ile, İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa tarafından desteklenerek **Türk patent kurumuna** başvuru yapılmıştır ve başvuru numarası alınmıştır. Başvuru numarası: 2024/012517

ÖZET

Deselülerize Alstroemeria Çiçek Sapından Elde Edilmiş İlaç Salınımsız ve IGF-1 LR3 Kontrollü İlaç Salınımı yapan Sinir Kondüitlerinin Sıçan Siyatik Sinir Defekti Modelinde Otolog Sinir Grefti ve Standart Sinir Kondüiti ile Karşılaştırılması

Amaç: Periferik sinir yaralanmaları, tıp alanında çok sık karşılaşılan ve hasta açısından ciddi fonksiyonel kayıplara yol açabilen bir sağlık sorunudur. Özellikle geniş sinir defektine sebep olabilen periferik sinir yaralanmalarında, sinir greftlerine alternatif olabilcek bir kondüiti üretmeyi planlandığımız bu çalışmada, İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü -1 Uzun Arjinin 3 (IGF-1 LR3) salınımı yapan veya yapmayan Alstroemeria (Peru Zambağı) çiçek sapından elde ettiğimiz sinir kondüitlerinin periferik sinir iyileşmesi üzerine etkisini sıçanda siyatik defekti oluşturararak fonksiyonel, histopatolojik, immünohistokimyasal ve elektrofizyolojik açıdan sinir grefti ve ticari sinir kondüitleri ile karşılaştıralarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Otuz adet Wistar Albino sıçan, her grupta beş adet olacak şekilde altı gruba ayrıldı. İlk iki grup pozitif ve negatif kontrol grubu, 3.grup sinir grefti uygulaması, 4.grup ticari sinir kondüiti, 5 ve 6.gruplar da IGF-1 LR3 ilaç salınımı yapan ve yapmayan sinir kondüitleri olarak belirlendi. 4-8-12. haftalarda yürüme analizi, 12. Haftada tüm hayvanların sinir monitorizasyonu ile proksimal ve distal sinir uçları arasında ileti hızı ve amplitüdü ve histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme için alındı. Sonuçların değerlendirilmesi amacıyla ANOVA ve Post-Hoc Tukey testi uygulandı.

Bulgular: IGF-1 LR3 salınımı yapan konduit grubunda, sinir grefti ve ticari konduitlere kıyasla akson sayısı, miyelin kılıfı kalınlığı, MBP ve NRF immünohistokimyasal boyamalarda istatistiksel olarak anlamlı iyileşmeler gözlenmiştir. Yürüme analizinde 4 ve 8. haftalarda anlamlı iyileşme sağlanırken, 12. haftada fark izlenmemiştir. Kas ağırlığı oranları ve elektrofizyolojik ölçümlerde belirgin fark bulunmamıştır.

Sonuç: Deselülerize Alstroemeria sapından elde edilmiş ve kontrollü IGF-1 LR3 salınımı yapan sinir konduitleri herhangi bir toksik etki bırakmadan, sinir greftlerinden daha başarılı şekilde sinir rejenerasyonunu artırmıştır.

Anahtar kelimeler: Alstroemeria çiçeği, IGF-1 LR3, periferik sinir iyileşmesi, sinir kondüiti

Bu çalışma, Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı (TÜSEB) tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 31745

ABSTRACT

Comparison of Drug-Release-Free and IGF-1 LR3-Controlled Drug-Release Nerve Conduits from Desellularized Alstroemeria Flower Stem with Autologous Nerve Graft and Standard Nerve Condoms in Rat Sciatic Nerve Defect Model

Aim: Peripheral nerve injuries are a common clinical problem, often leading to significant functional impairments. In cases of extensive nerve defects, there is a pressing need for alternatives to nerve grafts. This study aimed to evaluate the effects of nerve conduits derived from decellularized Alstroemeria (Peruvian lily) stalks, with or without controlled Insulin-Like Growth Factor-1 Long R3 (IGF-1 LR3) release, on peripheral nerve regeneration. A rat sciatic nerve defect model was used to compare functional, histopathological, immunohistochemical, and electrophysiological outcomes with those of nerve grafts and commercial nerve conduits.

Material and Method: Thirty Wistar Albino rats were divided into six groups: positive and negative controls, a nerve graft group, a commercial nerve conduit group, and two groups using conduits with or without IGF-1 LR3 release. Walking analyses were conducted at weeks 4, 8, and 12. At week 12, nerve conduction velocity and amplitude were measured, and histopathological and immunohistochemical evaluations were performed. Data were analyzed using ANOVA and post hoc Tukey tests.

Results: IGF-1 LR3-releasing conduits showed significant improvements in axon count, myelin thickness, and MBP and NRF immunostaining compared to the nerve graft and commercial conduit groups. Walking analysis revealed better functional recovery at weeks 4 and 8, although no differences were observed at week 12. Muscle weight ratios and electrophysiological measurements showed no significant differences.

Conclusion: Nerve conduits derived from decellularized Alstroemeria stalks with controlled IGF-1 LR3 release enhanced nerve regeneration more effectively than nerve grafts, with no observed toxic effects.

Keywords: Alstroemeria flower, IGF-1 LR3, peripheral nerve healing, nerve conduit

This study was supported by the Presidency of Turkish Institutes of Health (TÜSEB). Project no: 31745

1.GİRİŞ

Sinir sistemi , vücuttan gelen bilgilerin merkezi sinir sistemine taşınması ve buna verilen yanıtların vücuda aktarılmasını sağlayan vücut ileti sistemidir. Sinir sistemi; bilgileri yorumlayıp vücuda komutlandıran beyin ve omurilikten oluşan santral sinir sistemi ve bu bilgileri vücuda ileten periferik sinirler olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır [1].

Sinirler, temel olarak ezilmeye bağlı veya direkt olarak kesiye bağlı olarak yaralanabilirler ve yaralanmaya bağlı sinirin yukarıda belirtilen katmanlarının bir kısmı zarar görebileceği gibi tüm sinir katmanları da haraplanabilir. Bu yaralanma sonrasında hastada duyu kaybı, motor fonksiyonlarda kayıp veya her ikisi birlikte görülebilir. Sinir yaralandıktan sonra sinirin kesildiği yerin distal kısmında bulunan akson ve sinir hücreleri ölmeye başlar ve Wallerian dejenerasyonu denilen bir olay ile makrofajlar tarafından temizlenir [2]. Kesildiği noktanın proksimalinde kalan kısım ise sinir hücre gövdesinin ürettiği proteinler sayesinde ve çevredeki glial hücrelerin yönlendirmesiyle proksimaldeki aksonlar distale doğru uzamaya başlar ve hedef sinir ucuna ulaşarak fonksiyonu sağlamak amacıyla rejenerasyonu gerçekleştirir. En ideal şartlarda sinir günde 1 mm uzama gösterir[3]. Bu uzama sürecinde, proksimaldeki akson lifleri distaldeki akson ucuna doğru aynı bir tüp içinde uzuyormuş gibi uç uca gelecek şekilde büyümesi gerekmektedir. Eğer bu şekilde aksonların uzamasını sağlayacak yol oluşturulamaz ise akson uçları distale uzamak yerine çevre dokulara doğru farklı şekilde uzama gösterir ve nöroma denilen bir tümöral yapı oluştururlar. Bu durumda hastada hem fonksiyon kaybı gerçekleşir hem de çok ağrılı bir medikal durum oluşur. Bu onarım sürecinde cerrahi olarak kısa bir süre içinde eğer kesiye bağlı bir sinir doku kaybı yok ise uç uca proksimal ve distal sinir uçları epinörium tabakaları doğru düzlemde dikilerek uzamasını sağlayacak kılavuz tüp formasyonu oluşturulur. Ancak onarım için belli bir süre geçtiyse dejenerasyona bağlı sinir lifinde kısalma oluşur ve uç uca bir araya getirmek mümkün olmamaktadır. Bu durumda sinir ucunun distalde kalan uca doğru uzayıp doğru şekilde ulaşmasını sağlamak ve yönlendirmek amacıyla yönlendirici tüp oluşturmak gerekmektedir. Bu amaçla altın standart olarak vücudun başka bir yerinden duyu liflerini taşıyan sinir greftleri hasarlı sinir bölgesindeki boşluğa yerleştirilir. Sinir grefti, vücudun başka bir yerinden gerekli uzunlukta ve kalınlıkta o sinir segmentini besleyen damarı olmadan alınıp defekt

alanına taşınan sinir parçası olarak tanımlanır [4]. Taşınan bu sinir grefti fonksiyon göstermekten ziyade proksimaldeki uzayan sinir aksonlarının distaldeki sinir aksonlarına doğru büyümesini sağlamak ve yönlendirmesini sağlayan kılavuz tüp yapısı oluşturmak amacıyla yerleştirilir. Sinir grefti alınan bölgede motor fonksiyonlarda bir kayıp gözlenmez ancak alınan sinir parçasının taşıdığı duyu bölgesinde his kaybı görülür ve aynı şekilde o sinir ucu düzgün şekilde bağlanmamışsa o bölgede de nöroma gelişme ihtimali bulunmaktadır. Sinir greftinin alınabilmesi içinde alınan bölgede kesiye bağlı iz oluşur. Bu sebeple vücutta ekstra bir kesi izi oluşturmamak, yeni bir his kaybı oluşan bölge oluşmasını önlemek ve nöroma gelişim riski oluşturmanın önüne geçebilmek için yıllardır araştırmalar yapılmaktadır. Sinir hasarı oluşan durumlarda onarım yapıldıktan sonra, sinir iyileşmesindeki temel başarı kriteri, sinirin inerve ettiği temel kas dokusuna veya duyu siniri ise duyu taşıdığı organa ulaşan fonksiyonel akson lifi sayısını artırmak ve sinirin fonksiyon görebilmesini sağlayabilmektir. Bu amaçla vücut dışındaki veya içindeki yapılardan üretilmiş olan çeşitli sentetik veya biyolojik yapay tüpler oluşturulmuştur ve halen bu amaçla araştırmalar sürmektedir. Bu tarzda oluşturulan biyolojik veya yapay kılavuz tüplere sinir yönlendirici tüpler veya konduit denilmektedir [5]. İdeal olarak oluşturulan bu tüplerin sinir grefti ile karşılaştırıldığında eşit ya da daha iyi bir sinir uzaması sağlaması, sinirin fonksiyonun sağlaması için gerekli biyokimyasal ve biyofizyolojik rehberliği yapması ve vücuda yerleştirildiğinde sinir uzamasını sağlama sürecinde işlevi bittikten sonra kendiliğinden kaybolması ve vücuda zararlı metabolik artıklar üretmemesi gerekmektedir. Gelişmiş tüp tasarımı ve üretim teknikleri sonucunda inanılmaz bir hassasiyetle otogreft benzeri sinir konduitlerin üretilmesini mümkün kılmıştır. Bu amaçla, son yıllarda biyopolimerlerin, hücrelerin, büyüme faktörlerinin ve fiziksel uyaranların kullanımını içeren stratejiler geliştirildi ve basit içi boş tüplerden bir veya daha fazlasını içeren karmaşık kanallara kadar çeşitli sinir konduitlerin geliştirilmesine yol açtı [6,7]. Ancak bugüne kadar üretilen hiçbir sinir konduitinin altın standart olan sinir greftine karşı bir üstünlüğü bulunamamıştır.

Son yıllarda gelişen biyomateryal ve nanoteknoloji sayesinde, rejenerasyon amacı ile sağlık alanında gelişmeler artmaktadır. Çeşitli insan, hayvan, bitki veya embriyo gibi dokularının hücrelerinden arındırma tekniklerinin deselülerize edilerek çeşitli organ ve doku fonksiyonlarının rejenere edilmesini sağlayacak deselülerize matriksler geliştirilmeye ve kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle doku ve organ

transplantasyonlarında, bu şekilde hücreden arındırılmış biyomateriyellerin doku rejeksiyonu ve limitli donör şansının azaltılabileceği düşünülerek popülerize olmaktadır [8]. Gelişen 3 boyutlu yazıcı teknolojisi sayesinde, üretilen deselülerize matriks yapılarının tasarımı da popülerize olmaktadır. Bu şekilde üretilen materyaller özellikle ortopedi ve plastik cerrahi alanlarında tendon, kemik, kas gibi dokularda, meme rekonstrükisyonunda, yara iyileşmesi için yeni yara yeri örtülerinin geliştirilmesinde, genel cerrahide herni operasyonlarında, doku nakilleri gibi durumlarda ve artan birçok medikal alanda kullanılmaya başlanmıştır. Son yıllarda, insan ve hayvan dokuları dışında bitkilerden elde edilen deselülerize materyallerin kullanımı popülerize hale gelmeye başlamıştır. Çeşitli bitki yaprak ya da köklerinden deselülerize edilerek elde edilmiş çeşitli biyomateryaller; kemik, cilt, damar ya da diş gibi doku fonksiyonlarının sağlanması ve iyileştirilmesi amacıyla kullanılmıştır ve kullanımı daha popüler hale gelmektedir [9]. Deselülerize edilmiş bitki biyomateryalleri çeşitli amaçlarla kullanılsa da sinir iyileşme çalışmalarında henüz kullanılmamıştır. Bu şekilde deselülerize edilmiş bitkilerden elde edilen sinir kondüitlerin biyolojik olarak uyumlu olup fonksiyonu bittikten sonra vücuttan elimine edilmektedir ve herhangi bir zararlı metobolik toksin oluşturmamaktadır. Aynı zamanda 3 boyutlu teknolojilerle üretilen sinir konduitlerine göre daha düşük maliyetli üretimi sağlanabilecektir.

Bu araştırmada, plastik cerrahinin temel uğraşı alanı periferik sinir yaralanmalarında, iyileşmeyi hızlandırmak amacıyla sinir greftlerine alternatif olabilecek ve maliyet olarak daha düşük olan yeni bir sinir kondüit üretilmesi ve bunu da değerlendirmek için 1 cm'lik siyatik sinir defekti oluşturulmuş hayvan modeli çalışması planlanmıştır. Bu amaçla, sıçanların sol arka bacağı üzerinde siyatik sinir eksplore edilecek ve 3 dalını vermeden hemen önceki kısımdan başlanarak proksimale doğru 1 cm uzunluğunda siyatik sinir defekti oluşturulmuştur. Sinir greftleri ve ticari piyasa konduiti (Neuragen) ile periferik sinir iyileşmesi üzerine etkisini karşılaştırmak için Alstroemeria Çiceğinin saplarının deselülerizasyonu ile yapısında doğal kanalları olan sinir kondüiti üretilerek niozomlar ile IGF-1 LR3 salınımı yapması sağlandı ve etkinliğinin değerlendirilmesi amacıyla hayvan modeli tasarlandı ve fonksiyonel, elektrofizyolojik, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenerek istatistiki olarak karşılaştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sinir Sistemi ve Periferik Sinir Sistemi Anatomisi

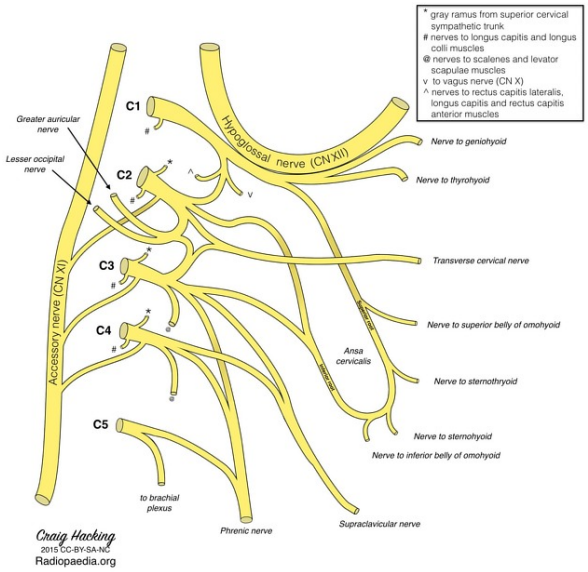
Sinir sistemi, vücudun iç yapılarıyla dış çevre arasındaki iletişimi sağlayan ve bunlara yanıt veren vücut yapısıdır. Bu sistematik oluşum, **santral sinir sistemi** (beyin ve omurilik) ve bunu vücudun periferik organlarına bağlayan **periferik sinir sistemi** olmak üzere 2 kısımda incelenir [1]. Santral sinir sistemi, vücuttan veya çevreden gelen bilgileri işleyip bunlara yanıt verilmesini sağlayan yapılar iken, periferik sinir sistemi bu uyarıların alınması veya uygulanmasını sağlayan yapılardır.

Periferik sinir sistemi (PSS), santral sinir sistemiyle karşılaştırıldığında göreceli olarak daha basit yapısal bir oluşumdur. PSS, sinir gövdeleri dorsal kök gangliyonlarında bulunan duyusal spinal sinirlerden ve sinir gövdeleri anterior boynuzda bulunan somatik motor sinirlerden oluşmaktadır. Somatik PSS, istemli istemli hareketlerimizi kontrol ederken, otonomik sinir sistemi ise kontrolümüz dışında olan vücut homeostazını kontrol eden sinir yapılarıdır.

Spinal sinirler, dorsal köklerden spinal korda girerken, spinal korddan ventral köklerden çıkarlar [10]. Bu sürede, servikal spinal kord boyun ve üst ekstremiteyi, torakal spinal kord göğüs ve torakal organları, lomber spinal kord abdominal organları, sakral pleksus ise pelvik organ ve alt ekstremiteyi kontrol etmektedir. Somatik sinir sistemi, 8 çift servikal sinir, 12 çift torakal spinal sinir, 5 çift lomber spinal sinir, 5 çift sakral spinal sinir ve birkaç koksigeal spinal sinirden oluşmakta olup bu sinir kökleri çeşitli pleksuslar oluşturarak somatik periferik sinir sistemini oluşturmaktadır. Bunun yanında, 12 çift olmak üzere kranyal sinirlerimiz de periferik sinir sistemimizin bir bölümünü oluşturmaktadır [11].

2.1.1. Servikal Pleksus

Servikal pleksus, C1-C4 servikal spinal sinirlerin anterior ramuslarından köken alırlar. Posterior üçgende prevertebral servikal fasya içinde yer alırlar. Musküler ve duyusal dallardan oluşurlar. Musküler dallar; frenik sinir, ansa servikalis ve infrahyoid kasları inerve eder [12]. Duyusal dallar, Sternokleidomastoid kasın posteriorundan çıkar. (Erb noktası)



Şekil 1- Servikal Pleksus kökleri ve dalları[13]

a) **Frenik sinir:** En büyük motor daldır. C3-C5 köklerinden köken alır. Diyaframın inervasyonundan sorumludur. Anterior skalen kasın üzerinden aşağı doğru iner. Pulmoner hilusun anteriorundan geçerek diyaframa ulaşır [12,13].

b) **Ansa servikalis:** C1-C3 köklerinden kaynaklanarak bir loop oluşturur. Omohyoid kasın superior ve inferior başını, sternohyoid ve sternotiroid kaslarını inerve eder.

c) **Greater auriküler sinir:** C2-C3 köklerinden oluşur. Dış kulak ve parotis üzerindeki cildin duyusunu alır.

d) **Transvers servikal dal:** C2-C3 köklerinden köken alır. Ön boyun duyusunu alır.

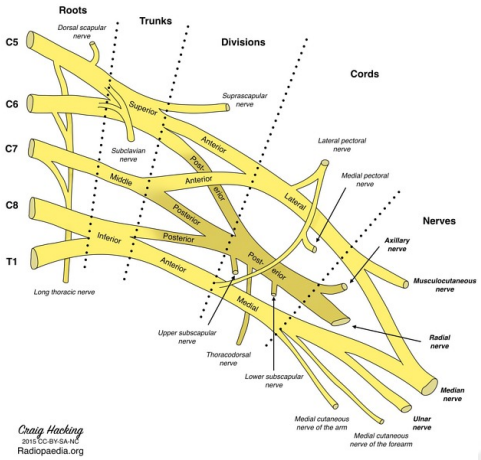
e) **Lesser oksipital sinir:** C2 kökünden çıkar. Posterosüperior scalp bölgesinin duyusunu alır.

f) **Supraklavikular sinir:** C3-C4 köklerinden köken alır. Supraklavikular fossa ve sternoklavikular eklem bölgesinin duyusunu alır.

2.1.2. Brakiyal Pleksus

Brakiyal pleksus, C5, C6, C7, C8 ve T1 ventral ve dorsal köklerden oluşmaktadır. C4 bu pleksusun oluşuma çok ufak bir katkıda bulunurken, sempatik sinir sistemi de bu pleksus içinde bulunur. Bu köklerden çıkan motor sinirler öncelikle 3 adet trunkusu oluşturur (Süperior, Middle, İnferior). Her bir trunkus daha sonra medial, lateral ve posterior kordları oluşturur ve her korddan ayrı olacak şekilde terminal sinirler oluşur.

Kök ve trunkuslar klavikula üzerindeki seviyedeyken, kord ve dallar klavikula altındaki seviyeden çıkmaktadır. Bu terminal dallar; Muskulokutan, median, ulnar, aksiller ve radyal sinirden oluşmaktadır.



Şekil 2- Brakiyal Pleksus kökleri ve dalları [14]

a) **Muskulokutan sinir:** C5-C6 köklerinden oluşur. Lateral korddan çıkar ve biceps brachii, coracobrakialis ve brachialis kaslarını inerve eder. Bu kaslar da, üst kol ve ön kolun fleksiyonu ve süpinasyonundan sorumludur.

b) **Median sinir:** C5-T1 köklerinden oluşur ve hem lateral hem medial korddan çıkan dallardan köken alır. Ön kol fleksör kompartman kaslarının inervasyonunfan sorumludur. Fleksör carpi radialis, pronator teres,palmaris longus, fleksör digitorum süperfisyalis ve 2-3. fleksör digitorum profundus, fleksör pollicis longus, fleksör pollicis brevis, 2-3. lumbrikal kaslar, opponens pollicis kaslarını inerve eder.[15]

c) **Ulnar sinir:** C8-T1 köklerinden oluşur ve medial korddan çıkar. Fleksör carpi ulnaris, 4-5. fleksör digitorum profundus, adductor pollicis, dorsal ve palmar interosseöz kasları inerve eder ve elin palmar ve dorsal yüzünün ulnar yarısının duyusunu alır.

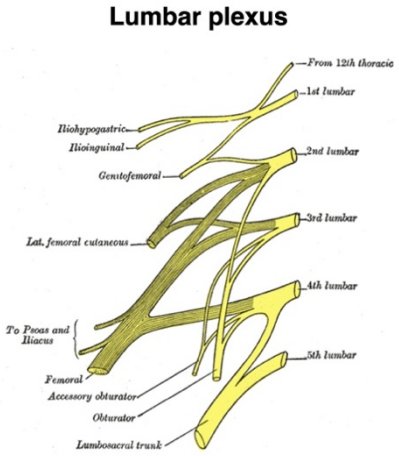
d) **Medial brachii ve antebrachi kutanöz sinir:** C8-T1 köklerinden oluşur ve medial korddan çıkar. Sırasıyla kol ve ön kolun medial bölgesinin duyusal inervasyonunu sağlar. [16]

e) **Radial sinir:** C6-C8 köklerinden oluşur ve posterior korddan çıkar. Triceps, brachioradialis ve tüm extansör kompartman kaslarını inerve eder. Ön kol ve el dorsal yüzünün duyusal inervasyonunu da sağlar [17].

f) **Aksiller sinir:** C5-C6 köklerinden oluşur ve posterior korddan çıkar. Deltoid ve teres minörü inerve ederek kolun abdüksiyon ve dış rotasyonunu kontrol eder [17].

2.1.3. Lumbar Pleksus

L1-L4 spinal sinir köklerinin anterior ramuslarının birleşmesi ile lumbar pleksus oluşur. Lumbar pleksus 6 ana major periferik sinir dalından oluşmaktadır. Bunlar da posterior abdominal duvardan alt ekstermiteye inerler. Bu dallar, iliohipogastrik sinir, ilioinguinal sinir, genitofemoral sinir, lateral femoral kutanöz sinir, femoral sinir ve obturator sinirdir.



Şekil 3- Lumbar Pleksus kökleri ve dalları [18]

a) **İliohipogastrik sinir:** T12'nin katkısı ile L1 köklerinden oluşur. İnternal oblik ve transvers abdominis kasını inerve eder. Pubik bölge hizasında posterolateral gluteal bölge duyusunu alır.[19,20]

b) **İlioinguinal sinir:** L1'den köken alır. İnternal oblik ve transvers abdominis kasını inerve eder.[19] Süperior ve anteromedial uyluk bölgesinin duyusunu alır. Erkeklerde penis kökü, kadınlarda mons pubis bölgesinin de duyusunu alır.

c) **Genitofemoral sinir:** L1-L2 köklerinden köken alır. Kremasterik kası inerve eder. Genital dalı erkeklerde anterior scrotumun, kadınlarda ise labio majoranın duyusunu alır. Femoral dalı ise üst anterior uyluk bölgesinin duyusunu alır.

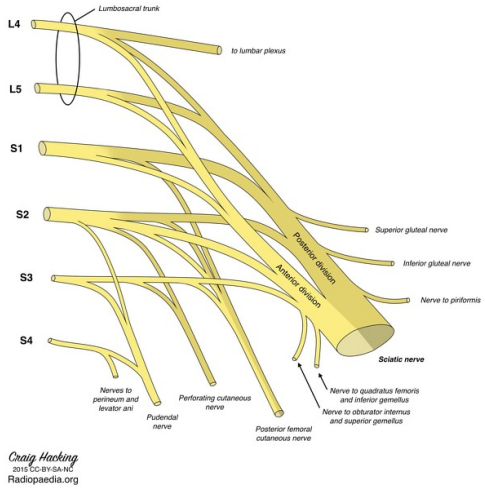
d) **Lateral femoral kutanöz sinir:** L2-L3 köklerinden köken alır. Motor fonksiyonu yoktur. Diz kapağına kadar anterolateral uyluk bölgesinin duyusunu alır [21].

e) **Obturator sinir:** L2-L3-L4 köklerinden köken alır. Adduktor kasları inerve eder. (Obturator externus, adductor longus ve brevis, adductor magnus ve gracilis).Uyluk medialinin duyusunu alır [22].

f) **Femoral sinir:** L2-L3-L4 köklerinden köken alır. Ön uyluk kaslarını inerve eder (İliacus, pectineus, sartorius,quadriceps femoris). Anterior uyluk ve medial bacak duyusunu alır.

2.1.3. Sakral Pleksus

S1-S4 spinal köklerin anterior ramuslarından köken alır. Pelvis ve alt ekstremite kaslarının inervasyonu ve duyusundan sorumludur. Süperior ve inferior gluteal sinir, Siyatik sinir, Posterior kutanöz sinir ve pudendal sinirden oluşmaktadır.



Şekil 4- Sakral Pleksus kökleri ve dalları [23]

a) **Süperior Gluteal Sinir:** L4-L5-S1 köklerinden köken alır. Gluteus minimus, gluteus medius, tensor fasya lata kasını inerve eder. Duyu fonksiyonu yoktur.

b) **İnferior Gluteal Sinir:** L5-S1-S2 köklerinden köken alır. Gluteus maksimus kasını inerve eder.

c) **Siyatik Sinir:** L4-S3 köklerinden köken alır. Tibial ve common fibular sinirden oluşur [24]. Tibial sinir, uyluk posterior kompartman kaslarını inerve eder. Topuk duyusunu alır. Common fibular sinir, biseps femoris kısa başını, anterior ve lateral bacak kompartman kaslarını inerve eder. Ayak dorsumunu ve lateral bacağı inerve eder [24,25].

d) **Posterior Femoral Kutanöz Sinir:** S1-S3 köklerinden köken alır. Motor fonksiyonu yoktur. Uyluk ve bacak posterior cildinin duyusunu alır.

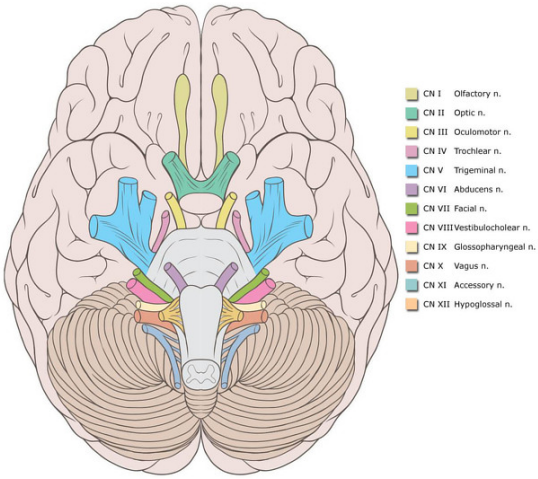
e) **Pudendal Sinir:** S2-S4 köklerinden köken alır. Perine kaslarını, external üretral sfinkter, external anal sfinkter ve levator ani kasını inerve eder. Penis, klitoris duyusunu alır.

2.1.4. Kranyal Sinirler

Kranyal sinirler 12 çifttir ve direkt olarak beyinden çıkan periferik sinir yapılarıdır. İlk 2 çift (Olfaktör ve optik sinir) serebrumdan köken alırken, geri kalan 10 çift beyin sapından çıkar [26].

Orta Beyin	Okulomotor sinir, Trochlear sinir
Pons	Trigeminal sinir, Abducens sinir, Fasyal sinir, Vestibulokohlear sinir
Medulla Oblangata	Glossofarengeal sinir, Vagus sinir, Aksesuar sinir, Hipoglossal sinir

Tablo 1- Kranyal sinirlerin köken aldıkları yer



Şekil 5- Kranyal Sinirlerin Şematik Görüntüsü [27]

Kranyal sinirlerin, motor ve duyusal fonksiyonları olmakla birlikte bazılarının Genel somatik duyusal(GSD), Genel visseral duyusal(GVD), Özel somatik duyusal(ÖSD), Özel visseral duyusal(ÖVD) ve bunların motor formları bulunmaktadır [28]. Aşağıdaki tabloda da herbir kranyal sinirin özellikleri özetlenmiştir.

Kranyal Sinir (KS)	**İsim**	**Çıkış Yeri**	**Sinir Tipi**	**İşlev**
1 (KS I)	Olfaktör	Kribriform plaka	Duyusal (SVD)	Koku
2 (KS II)	Optik	Optik kanal	Duyusal (ÖSD)	Görme
3 (KS III)	Okülomotor	Süperior orbital fissür	Motor (GÖM ve GVM)	GSM: 4 ekstrinsik kas ve Levator palpebra süperior GVM: Gözbebeği sfinkteri
4 (KS IV)	Trochlear	Süperior orbital fissür	Motor (GSM)	Süperior Oblik kas
5 (KS V)	Trigeminal:			
	Oftalmik	Süperior orbital fissür	GSD	Kafa derisi, alın ve burun.
	Maksiller	Foramen rotundum	GSD	Yanaklar, alt göz kapağı, burun mukozası, üst dudak, üst dişler ve damak.

	Mandibular	Foramen ovale	GSD	GSD: ön 2/3 dil, alt çene ve alt dişlerin üzerindeki deri. ÖVM: çiğneme kasları.
6 **(KS VI)**	Abducens	Süperior orbital fissür	Motor (GSM)	Lateral rektus
7 **(KS VII)**	Fasiyal	İnternal akustik kanal > stylomastoid f.	İkisi birden: GSD ÖVD ÖVM GVM	GSS: Dış kulak duyusu SVS: 2/3 dil, sert ve yumuşak damak. SVM: Yüz ifadesinin kasları. GVM: lakrimal, submandibular, dilaltı bezleri ve ağız ve burnun mukoza bezleri.
8 **(KS VIII)**	Vestibulokoklear	İnternal akustik kanal	Duyusal (SSD)	İşitme ve denge
9 **(KS IX)**	Glossofaringeal	Jugular foramen	İkisi birden: GSD GVD ÖVD GVM ÖVM	GSD: 1/3 dil, harici. kulak ve orta kulak boşluğu. GVD: karotis cisim ve sinüs. ÖVD: posterior /3 dil. GVM: parotis bezi. ÖVM: stilofaringeus
10 **(KS X)**	Vagus	Jugular foramen	İkisi birden: GSS GVS SVS GVM DVM	GSS: dahili. kulak, gırtlak ve farenks. GVS: gırtlak, farenks ve torasik ve abdominal iç organlar. SVS: dilin epiglot bölgesinden gelen tat GVM: farenks, gırtlak ve GIT'in çoğunun düz kasları. SVM: Farenks ve gırtlaktaki çoğu kas.
11 **(KS XI)**	Aksesuar	Jugular foramen	Motor (GSM ve SVM)	GSM: trapezius ve sternokleidomastoid. SVM: Birkaç lif CNX ile iç organlara doğru ilerler.
12 **(KS XII)**	Hipoglossal	Hipoglossal kanal	Motor (GSM)	İçsel ve dışsal dil kasları (palatoglossus hariç).

Tablo 2- Tüm Kranyal Sinirlerin Özellikleri

2.2. Sinir Embriyolojisi ve Histolojisi

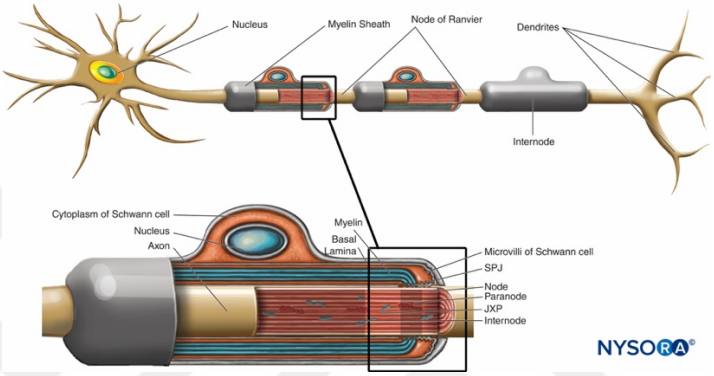
Periferik sinirler, somatik, otonomik ve kranyal sinirlerden oluşmaktadır. Nöronlar, gangliyon ve glia hücrelerinden oluşmaktadır. Nöronlar, hücre gövdesi ile birlikte axonlardan oluşan sinir fasiküllerinden oluşmaktadır. Bu yapılar, Schwann hücreleri tarafından üretilen myelin adı verilen bir kılıfla sarılır.

a) **Nöronlar:** Sinir sisteminin yapısal ve fonksiyonel ünitesini oluşturular. Hücre gövdesi, axon ve dendritlerden oluşmaktadır. Hücre gövdesi(perikaryon), büyük bir nükleusa sahip genişlemiş sinir bölgesidir [29,30]. Dendritler nöronun plazma membranından köken alan, çevre aksonlardan bilgi alan uzantılardır. Aksonlar, dendritlerden daha uzun olan hücre gövdesinden çıkan uzantılardır. Akson çapındaki artış ileti hızını da artırmaktadır. Tüm yapısal ve fonksiyonel materyaller nöron gövdesinden sentezlenmekte olup aksonal taşınma ile diğer hücrelere yönlendirilmektedir. Bu taşınım sırasında hücre gövdesinden akson ucuna doğru olan taşınmaya anterograde taşınma,veya tersi yönde olan taşınmaya da retrograde taşınma denir.

   Vücudumuzda bulunan nöronlar çeşitli boyut ve şekillerde bulunmaktadır. Yapılarına göre bu nöronlar 3 sınıfa ayrılmaktadır. En sık görülen tipi multipolar nöronlar olup multiple dendrit ve tek aksondan oluşmaktadır [30]. Çoğunluğu motor nöronlardır. Psödounipolar nöronlar, hücre gövdesinden çıkan tek bir akson ayrıldıktan hemen sonra T şeklinde iki uca ayrılır. Bu tip nöronlar çoğunlukla duyusal nöronlardır. Bipolar nöronlar ise hücre gövdesinden iki ayrı uzantı olarak çıkarlar ve sadece bazı kranyal sinirlerde bulunurlar.

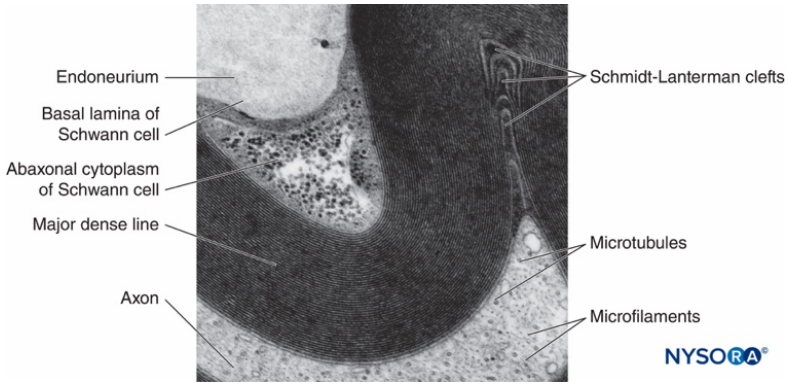
b) **Schwann Hücreleri:** Periferik sinirlerin aksonları Schwann hücreleri tarafından sarılırlar. Bu myelin kılıf, aksonları kendi zarı olan endonörum tabakasından ayırır [31]. Schwann hücreleri, aksonda myelinizasyona göre longitudinal şekilde uzanırlar. Schwann hücreleri, myelin kılıfı üretiminin yanı sıra büyüyen aksonların fonksiyonlarına rehberlik eder [32]. Tüm Schwann hücrelerinin çevresinde bazal lamina bulunur ve Schwann hücrelerinin gelişimini regüle ederler [33].

Sinir lifleri, akson çapına göre, ileti hızına göre, reseptör tipine ve myelin kılıf kalınlığına göre sınıflandırılmaktadır. Myelinli sinir lifleri, Schwann hücrelerinin plazmalemmasının uzantısı olarak başlar ve aksonu çevreler. Myelin yapısına bakıldığında, diğer hücre zarlarından farklı olarak çok daha yüksek lipid/protein oranına sahiptir. Miyelin kılıf aksonu segmentler halinde sarar. Aksonun bu miyelin lamelleri ile sarılmış ve tek bir miyelin üreten Schwann hücresi ile kaplı alanlarına internodal bölge denir. Miyelin kılıfında akson uzunluğu boyunca düzenli aralıklarla meydana gelen ve aksonunun açıkta olduğu bölgelere ise Ranvier düğümleri denir.



Şekil 6- Myelin kılıfı ve Ranvier Nodlarının görüntüsü [34]

Ranvier nodlarının en önemli özelliği çok sayıda iyon kanalına sahip olup saltatory iletim denen atlamalı iletimi sağlamaktadır ve bu uyarıların hızlı iletilmesini sağlar. Myelin kılıf dirençli bölge olup, depolarize olduğunda dışarıya akmaz ve hızlı bir şekilde bir sonraki ranvier boğumuna geçer. Myelin kılıfın kalınlığı akson ve Schwann hücreleri tarafından belirlenir. Nöroglin 1 adı verilen büyüme faktörü tarafından myelin kılıfı sayısı ayarlanırken, myelin bazik protein ve peripheral myelin protein tarafından birleştirilir.[35] Myelinsiz sinirlere göre, sinir gövdesinden bir diğer hücreye iletim hızı ciddi olarak artarak iletilir.



Şekil 7- Myelinli sinir liflerinin elektron mikroskop altındaki görüntüsü[36]

c) **Bağ dokusu ve kılıflar:** Aksonlar, schwann hücre bazal laminalarının altında bulunan 3 farklı yapıda kılıf ile çevrilmektedir. İçerden dışarıya doğru bu kılıf yapısı, endonörum, perinörum ve epinörum olarak sıralanmaktadır.

Epinörum tabakası, gevşek areolar bağ dokusundan oluşmakta olup tüm sinir fasiküllerini dışardan çevreleyen katmandır [37,38]. Eklem bölgelerinde ve dura ile çevrili bölgelerde en kalın yapıda bulunur. Periferik sinirlerin dallandığı veya inceldiği bölgelerde epinörum tabakasının kalınlığı azalır ve bu da daha hassas olmasına sebep olmaktadır. Kollajen ve elastik liflerden zengin olup bu iki yapı longitudinal olarak yerleşimlidir. Tip 1 daha fazla olmakla birlikte tip 1 ve tip 3 kolajen esas kolajeni oluşturmaktadı [39]. Fasiküller arasında da yağ dokusu bulunur ve basınç değişimlerine karşı fasikülleri korur.

Perinörum tabakası, herbir sinir fasikülünü çevreleyen kılıftır. Bu koruyucu tabaka endonörum tabakasından kalın olup ara tabaka olarak bulunmaktadır. Yaklaşık 20 hücre tabakası kalınlığında bulunan bu tabaka, komşu tabakalarda sıkı bağlantılarla bağlıdır. Kolajen lifleri bir ağ yapısı oluşturacak şekilde bulunmaktadır. Çoğunlukla tip 3 kolajenden oluşmaktadır. Daha sert yapıda olduğundan, uzama ve kompresyona daha az toleranslıdır.

Endonörum tabakası, aksonların en iç tabakasını çevreleyen kılıftır ve Schwann hücreleri ile komşudur [40]. Endonörum tabakası Schwann hücreleri tarafından salgılanan kollajen ve interfasiküler sıvıdan oluşmaktadır. Tip1-2-3 kolajen en çok bulunan kolajenlerdir. Az da olsa mast hücreleri ve makrofajlar da bulunmaktadır ve bu makrofaj hücreleri antijen sunucu hücreler olup kan-sinir bariyerini oluşturmaktadır.

Periferik sinirler, iyi kanlanan yapılar olup iki ayrı vasküler sistemden oluşmaktadır. Epinöral tabakadan giren ekstrinsik sistem ile endonörum tabakasında yer alan intrinsik küçük damar sistemi beslenmesini sağlamaktadır [41]. Epinörum daha çok longitudinal yerleşimli damar ağından oluşur ve perinöral yarıklardan geçerek endorörum tabakası ile anastomoz yapar. Endonöral kan yapısı ise daha çok kılcal damarlar gibi ağ yapısı şeklinde yerleşirler ve metabolic ihtiyaçları karşılarlar. Bu tabaka fiziksel ve kimyasal değişimlere daha duyarlıdır. Bu ağ yapısının gelişmişliği, sinirin iskemiye duyarlılığına bağlı olarak değişmektedir.

Glia Hücreleri	**Fonksiyonu**
Schwann Hücreleri	Myelin kılıfını üretir. Rejenerasyonu sağlar.
Satellit Hücreleri	Nörotransmitter seviyelerini düzenler.

Tablo 3- Periferik sinir sistemi glia hücreleri ve fonksiyonları

Periferik sinir sistemi, çok farklı yapılardan gelişse de çoğunlukla nöral krest hücrelerinden gelişmektedir.[42] Periferik sinir sistemi (PSS), nöral krest

hücrelerinden gelişmesine rağmen duyu hücrelerinin hücre gövdeleri santral sinir sistemi(SSS) dışında yerleşimlidir. Vestibülokohlear sinirin spiral gangliyonu dışındaki tüm duyusal hücreler bipolar hücrelerdir.

Her bir afferent nöronun hücre gövdesi, nöral krest hücrelerinden türeyen modifiye Schwann hücresi (Satellit hücreleri) kapsülü tarafından yakından sarılmıştır. Bu kapsül, afferent nöronların aksonlarını çevreleyen nörilemma (Schwann kılıfı) ile devamlılık gösterir. Satellit hücrelerinin dışında, sinir liflerinin endonöriyal kılıfı ile devamlılık gösteren bir bağ dokusu tabakası bulunur. Bu bağ dokusu ve endonöryal kılıf mezenkimal tabakadan türemiştir. Gelişmekte olan beyindeki nöral krest hücreleri sadece trigeminal (CN V), fasiyal (CN VII), vestibülokoklear (CN VIII), glossofaringeal (CN IX) ve vagus (CN X) sinirleriyle ilişkili olarak duyusal ganglionlar oluşturmak üzere göç eder. Nöral krest hücreleri ayrıca otonomik gangliyonların multipolar nöronlarına farklılaşır; bunlar arasında vertebra gövdelerinin yanları boyunca uzanan sempatik gövdelerin gangliyonları; toraks ve karın pleksuslarındaki kollateral (prevertebral) gangliyonlar (örn, kardiyak, çölyak ve mezenterik pleksuslar); ve iç organların içinde veya yakınında bulunan parasempatik (terminal) gangliyonlar (örn. sub-mukozal veya Meissner pleksusu).

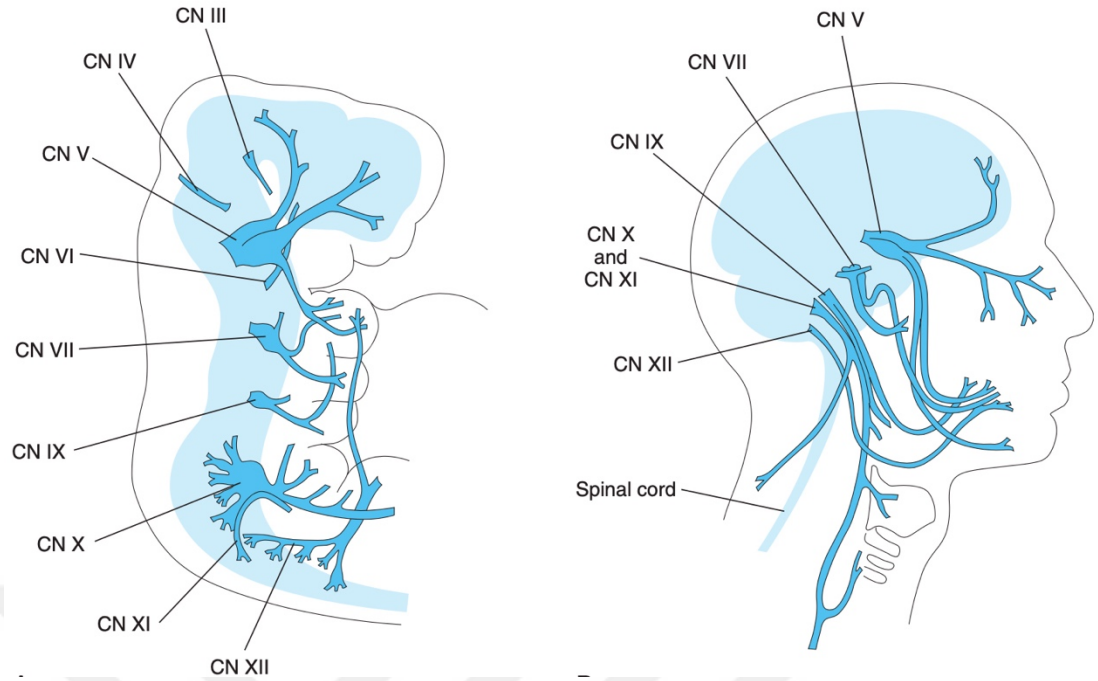
Omurilikten çıkan motor sinir lifleri **dördüncü haftanın sonunda** görülmeye başlar. Sinir lifleri gelişmekte olan omuriliğin bazal plakalarındaki hücrelerden çıkar ve ventrolateral yüzeyi boyunca sürekli bir dizi kökçük olarak ortaya çıkar [43]. Gelişmekte olan belirli bir kas grubuna yönelik lifler bir demet halinde düzenlenerek bir ventral sinir kökü oluştururlar. Dorsal sinir kökünün sinir lifleri, omuriliğin dorsolateral tarafına göç eden ve burada spinal ganglion hücrelerine farklılaşan nöral krest hücrelerinden oluşur.

Spinal gangliondaki nöronların santral uzantıları, gri maddenin dorsal boynuzunun tepesinin karşısında omuriliğe doğru büyüyen tek bir demet oluşturur. Spinal ganglion hücrelerinin distal prosesleri ventral sinir köküne doğru büyür ve sonunda bir spinal sinir oluşturmak üzere onunla birleşir. Oluştuktan hemen sonra, bir spinal sinir dorsal ve ventral primer ramuslara ayrılır. Daha küçük olan dorsal primer ramus, dorsal aksiyal kas sistemini, omurları, posterior intervertebral eklemleri ve sırt derisinin bir kısmını innerve eder. Her bir spinal sinirin ana bölümü olan ventral primer ramus, uzuvların ve vücut duvarının ventrolateral kısımlarının innervasyonuna katkıda bulunur. Ana sinir pleksusları (servikal, brakiyal ve lumbosakral) ventral primer ramuslar tarafından oluşturulur.

Ekstremite tomurcukları geliştikçe, tomurcuğun karşısındaki omurilik segmentlerinden gelen sinirler uzar ve uzvun içine doğru büyür. Sinir lifleri, somitlerden köken alan miyojenik hücrelerden farklılaşan kaslarına dağıtılır [44]. Gelişmekte olan uzuvların derisi de segmental bir şekilde innerve edilir. Gelişimin erken dönemlerinde, birbirini takip eden ventral primer rami, özellikle uzuvları besleyen (örn. brakiyal pleksus) sinir liflerinin bağlantı halkaları ile birleşir. Bu pleksusların gövdelerinin dorsal bölümü ekstansör kasları ve uzuvların ekstansör yüzeyini besler. Gövdelerin ventral bölümleri fleksör kasları ve fleksör yüzeyi besler.

Kraniyal sinirlerin gelişim sürecine bakıldığında, **beşinci ve altıncı haftalarda** on iki çift kraniyal sinir oluşur. Embriyolojik kökenlerine göre üç grupta sınıflandırılırlar. Bunlardan ilk grup olan somatik efferent kraniyal sinirlere baktığımızda; Troklear (CN IV), abdusent (CN VI), hipoglossal (CN XII) ve okülomotor (CN III) sinirlerin büyük kısmı spinal sinirlerin ventral kökleriyle homologdur. Bu sinirlerin köken hücreleri beyin sapının bazal plakalarından türeyen somatik efferent kolonda yer alır. Aksonları baş miyotomlarından (preotik ve oksipital) köken alan kaslara dağılır.

Hipoglossal sinir (CN XII) diğer somatik efferent kraniyal sinirlerden daha çok bir spinal sinire benzer. CN XII, üç veya dört oksipital sinirin ventral kök liflerinin füzyonu ile gelişir. Spinal sinirlerin dorsal köklerine karşılık gelen duyusal kökler yoktur. Somatik motor lifler, omuriliğin ventral boynuzundakilere benzeyen motor hücrelerden oluşan **hipoglossal çekirdekten** kaynaklanır. Bu lifler medullanın ventrolateral duvarını birkaç grup halinde terk eder, bunlar CN XII'nin ortak gövdesini oluşturmak üzere birleşen hipoglossal sinir kökleridir. Bunlar rostral olarak büyür ve sonunda oksipital miyotomlardan türediği düşünülen dil kaslarını innerve eder. Boynun gelişmesiyle birlikte, hipoglossal sinir giderek daha yüksek bir seviyede uzanmaya başlar. **Abdusent sinir (CN VI)** metensefalonun bazal plakalarındaki sinir hücrelerinden doğar. Ventral yüzeyinden, gözün lateral rektus kasının kaynaklandığı düşünülen üç preotik miyotomun posterioruna geçer. **Troklear sinir (CN IV)** orta beynin arka kısmındaki somatik efferent kolondaki sinir hücrelerinden doğar. Bir motor sinir olmasına rağmen, beyin sapından dorsal olarak çıkar ve gözün superior oblik kasını beslemek için ventral olarak geçer. **Okülomotor sinir (CN III),** superior, inferior ve medial rektus ve inferior oblik kaslar dahil olmak üzere gözün çoğu kasını besler. Bunlar ilk preotik miyotomlardan türemiştir.



Şekil 8- Kranyal Sinirlerin Kökenleri

Özel duyusal sinirler, koku alma siniri (CN I) koku alma organından kaynaklanır. Koku alma reseptörü nöronları, primordial burun kesesinin epitel tabakasındaki hücrelerden farklılaşır. Bipolar koku alma nöronlarının merkezi süreçleri demetler halinde toplanarak etrafında etmoid kemiğin kribriform plakasının geliştiği yaklaşık 20 olfaktör sinir oluşturur. Bu miyelinsiz sinir lifleri olfaktör ampülde sonlanır. Optik sinir (CN II), primordial retinadaki nöral tomurcuklardan beyne doğru büyüyen bir milyondan fazla sinir lifinden oluşur. Retina ön beynin duvarından geliştiği için, optik sinir beynin bir lif yolunu temsil eder [45].

Vestibülokoklear sinir (CN VIII) iki demet halinde iki tür duyusal liften oluşur; bu lifler vestibüler ve koklear sinirler olarak bilinir. Vestibular sinir semisirküler kanallardan kaynaklanır ve koklear sinir spiral organın (Corti'nin) geliştiği koklear kanaldan ilerler. Vestibüler sinirin bipolar nöronlarının hücre gövdeleri vestibüler ganglionda bulunur. Bu hücrelerin merkezi süreçleri dördüncü ventrikülün tabanındaki vestibüler çekirdeklerde sonlanır. Koklear sinirin bipolar nöronlarının hücre gövdeleri spiral ganglionda bulunur.

Sempatik Sinir Sistemi, beşinci hafta boyunca, torasik bölgedeki nöral krest hücreleri omuriliğin her iki tarafı boyunca göç eder ve burada aortun dorsolateralinde eşleştirilmiş hücresel kitleler (gangliyonlar) oluştururlar. Segmental olarak düzenlenmiş bu sempatik gangliyonların tümü, uzunlamasına sinir lifleri ile iki taraflı bir zincir halinde bağlanır. Gangliyonlu kordonlar (sempatik gövdeler) omurganın her iki yanında yer alır. Bazı nöral krest hücreleri aortun ventraline göç eder ve çölyak ve mezenterik ganglionlar gibi preaortik ganglionlarda nöronlar oluşturur. Diğer nöral krest hücreleri kalp, akciğerler ve gastrointestinal sistem bölgesine göç eder ve burada bu organların yakınında veya içinde bulunan sempatik organ pleksuslarında terminal ganglionlar oluştururlar. Sempatik gövdeler oluştuktan sonra, omuriliğin torakolomber segmentlerinin intermediolateral hücre kolonunda (lateral boynuz)

bulunan sempatik nöronların aksonları, bir spinal sinirin ventral kökü ve beyaz bir ramus communicans (iletişim dalı) yoluyla bir paravertebral gangliona geçer. Burada nöronlarla sinaps yapabilir veya diğer seviyelerde sinaps yapmak için sempatik gövdede yükselebilir veya alçalabilirler. Diğer presinaptik lifler sinaps yapmadan paravertebral ganglionlardan geçerek iç organlara giden splanknik sinirleri oluşturur [46].

Presinaptik parasempatik lifler beyin sapı çekirdekleri ve omuriliğin sakral bölgesindeki nöronlardan kaynaklanır. Beyin sapından gelen lifler okülomotor (CN III), fasiyal (CN VII), glossofarengeal (CN IX) ve vagus (CN X) sinirleri yoluyla ayrılır. Postsinaptik nöronlar periferik ganglionlarda veya innerve edilen yapının yakınında veya içinde pleksuslarda bulunur (örneğin, göz bebeği, tükürük bezleri).

2.3. Periferik Sinir Yaralanmaları ve Sinir İyileşmesi

Periferik sinir yaralanmaları, tıp alanında çok sık karşılaşılan ve hasta açısından ciddi fonksiyonel kayıplara yol açabilen bir sağlık sorunudur. Geçmişten günümüze kadar sinir yaralanmalarının tedavileri üzerine çalışmalar yapılmıştır ve yapılmaya devam edilmektedir ancak sinir kesilerine yönelik tedavilerin uzun sürmesi ve geçirilen operasyonların kendine ait komplikasyonları halen devam etmektedir. Erken teşhis modern tekniklerle doğru sinir onarımı yapılmış olsa bile asla yaralanma öncesindeki fonksiyonel kapasiteye ulaşılamamaktadır. Bunun birçok intrinsik ve ekstrinsik sebebi bulunmaktadır. Ezilme yaralanmaları, diretkt olarak sinir kesileri gibi çok farklı mekanizmalar ile yaralanmalar oluşabilmektedir.

Sinir yaralanmaları, temel olarak mevcut sinirin katlamanlarının tutulumuna göre birkaç sınıflama sistemine göre derecelenmektedir.

Seddon Sınıflaması	**Sunderland Sınıflaması**	**Hasar Düzeyi**
Nöropraksi	Grade 1	Lokal myelin hasarı,kompresyon
Aksonotmezis	Grade 2	Aksonal hasar, endonörum, perinörum ve epinörum intakt
Aksonotmezis	Grade 3	Akson ve endonörum hasarlı, perinörum ve epinörum intakt
Aksonotmezis	Grade 4	Akson, endonörum ve perinörum hasarlı, epinörum intakt
Nörotmezis	Grade 5	Tüm sinir trunkusu hasarlı

Tablo 4- Sinir Yaralanmaların Derecelendirilmesi



Şekil 9- Sinir Yaralanmaların Derecelendirilmesinin Şematik Görüntüsü[47]

Nöropraksi, genellikle kompresyon ya da gerilmeye bağlı olarak lokal myelin ve aksonal iletide bozulma ile karakterize olup distal sinir dejenerasyonu görülmemektedir [48]. Aksonotmezis, aksonal bütünlükte bozulma mevcut iken değişken düzeyde sinir kılıfı katmanlarında hasaar görülmektedir. Nörotmezis ise, tüm sinirin ciddi hasarı olarak tanımlanmaktadır.

Sinir hasarı sonrasında; sırasıyla motor, propriosepsiyon, dokunma, ısı ve ağrı duyuları şeklinde fonksiyonel kayıp oluşurken, iyileşme sırası da tersine doğru gerçekleşmektedir [49]. Sunderland sınıflamasına göre grade 1 ve endonörum intakt olan grade 2 yaralanmalarında tama yakın iyileşme beklenirken, grade 3-4-5 yaralanmalarında ise değişken düzeylerde fonksiyonel kayıplar gelişmektedir.

Sinir yaralanması geliştikten sonra bir dizi şeklinde sinir dejenerasyonu sekansı tetiklenmektedir.

1) Hücre gövdesi şişer ve kromatolozis gerçekleşir. (Hücre gövdesi eozinofilik olur)

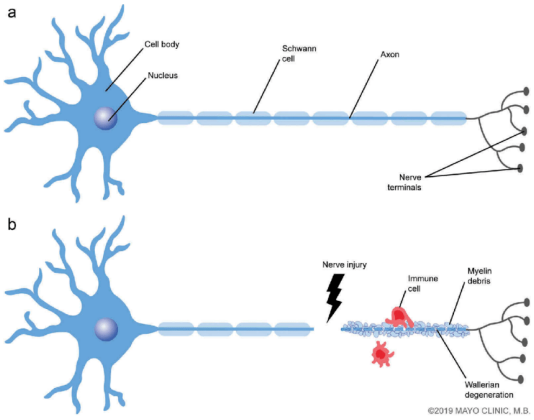
2) Hücre çekirdeğiperifere dağılır.

3) Proksimal aksonal bölge, hasar böglesinde dejenerasyona uğramaya başlar.

4) Hasar zonundan başlayarak, bir önceki ranvier boğumuna kadar proksimal akson bölgesi dejenere olmaya devam eder.

5) Hasar bölgesinin distalinde kalan akson bölgesinde ise, Wallerian dejenerasyonu denilen bir süreç başlar.

Genellikle yaralanma sonrası 48-96.saatte başlayan bu süreçte, myelin kılıf yıkılmaya ve aksonlar dezorganize olmaya başlar. Schwann hücreleri çoğalır ve myelinle ile birlikte akson artıkları temizlenir [2].



Şekil 10- Periferik sinir hasarını takiben Wallerian dejenerasyonunun şematik çizimi. (a) Schwann hücreleri tarafından oluşturulan miyelin kılıf ile çevrili aksonu ile tipik bir motor nöronun anatomisi. (b) [50]

Wallerian dejenerasyonu sonrasında, Schwann hücrelerinin bazal laminaları sağlam kalmakta olup, longitudinal olarak Büngner bandları adı verilen hücre dizilimi oluştururlar. Bu hücre dizini, proksimalden distale doğru rejenere olacak aksonlar için destekleyici klavuz tüp formasyonu oluştururken bir yandan da büyüme faktörleri salgılayarak rejenerasyona yön vermektedir. Büyüme konisi adı verilen rejenere olan aksonların ucunda bulunan bölgede özel hareketli bir yapı bulunur. Bu yapı 'lamellipodia'' adı verilen bir hücre matriksinden oluşmaktadır [51]. Bu yapılar, elektriksel olarak negatif yüklü olup bazal membranların pozitif yüklü bölgelerine bağlanarak hareket ederler.Bu yapıların içerisinde aksonal uzamayı sağlayacak aktinler bulunur.

Büyüme konisi denilen bu bölgede birkaç farklı sınıfta moleküller salgılanır.

1) Nörotrofik faktörler
2) Sinir destekleyici faktörler
3) Ekstraselüler matrix oluşturucu faktörler
4) Metabolik faktörler

Bu faktörler arasında, nörotrofik faktörler denerve olmuş duyusal ya da motor nörolardan sekrete edilmekte olup bunlar arasında en ünlü olanı Nöron Büyüme Fakförüdür.(NBF) Bu faktörler, schwann hücreleri boyunca bulunarak maturasyon ve

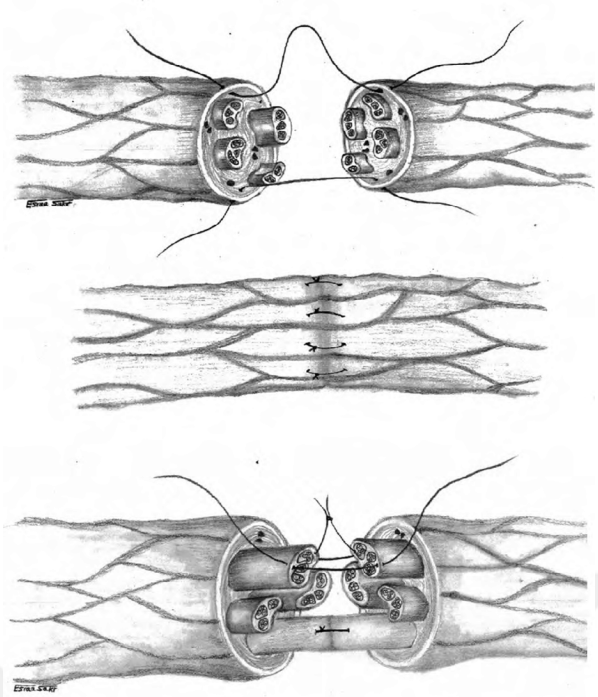
uzamaya yardımcı olmaktadır. Bunun dışında Siliyer Nörotrofik Faktör (SNF), ve Motor sinir büyüme faktörü de bulunmaktadır.

Nörotrofik faktörlerin tersine, sinir destekleyici faktörler, glikoprotein yapıda olup aksonal büyümeyi kontrol ederler. Laminin, entaktin ile birlikte Schwann hücre bazal membranında bulunan bir glikoprotein olup, akson defekti boyunca rejenerasyonu hızlandırmaktadır.

Sinir yaralanması ve ciddi denervasyon sonrasında, sinirin uyardığı distal yapılarda çeşitli değişimler meydana gelmektedir. Özellikle proksimal major sinir yaralanmalarında (Brakiyal pleksus gibi), kaslarda ciddi atrofi gelişmeye başlamaktadır. İlk ay yaklaşık başlangıç kütlesinin %30'unu kaybaden kaslar, yaklaşık 4-6 ay içerisinde %70-80 kütlesini kaybetmektedir. Bu durumda, kas ve sinir kavşak bölgesindeki motor son plak sayısı artmaya başlar ve kas fasikülasyonları meydana gelmektedir. Periferik sinir yaralanmaları sonucunda eğer yeterli onarım sağlanamaz ve 12 ay içinde sinir motor son plağa ulaşamazsa kas re-inervasyonu kalıcı olarak kaybedilmektedir.

Periferik sinir yaralanmalarının sonuçları birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Yaralanmanın mekanizması ve tipi, lokasyonu, cerrahi zamanlama, cerrahi teknik, hastanın komorbiditesi ve sinir fasiküllerinin uygun hizalanmasına bağlı olarak fonksiyonel iyileşme de değişmektedir. Çok iyi bir diseksiyon ve hassas bir mikrocerrahi yapılsa bile özellikle motor fonksiyonlarda kayıplar tam olarak düzeltilemeyebilir.

Sinir onarım zamanlaması yaralanma mekanizması ve mevcut doku yatağının durumuna göre değişmekle birlikte en kısa sürede onarımı gerçekleştirilmesi fonksiyonel kazanım açısından en uygun yöntemdir. Ancak ateşli silah yaralanması gibi kirli yaralanmalarda veya çevre doku yatağının iyi olmadığı durumlarda onarım süresi uzatılabilmektedir [52]. Periferik sinir yaralanmaları sonucu oluşan sinir hasarlarında en iyi yöntem primer sinir onarımı yani nörorafidir. Bunun için; temiz bir yaralanma, iyi kanlanma ve ezilme yaralanmaması olmaması ve yeterli doku desteği bulunması gerekmektedir. Nörorafi sırasında en önemli nokta, gerilimsiz bir sinir koaptasyonu yapılmasıdır [53]. Çeşitli nörorafi teknikleri bulunsa da gelişen modern mikrocerrahi teknikler sayesinde fasikül onarımları da yapılabilmektedir ve klasik epinöral onarıma göre daha üstün bir yöntemdir. Onarım sırasında özellikle rejenere olan aksonların doğrultuları uygun şekilde sütüre edildiğinden emin olunmalıdır.



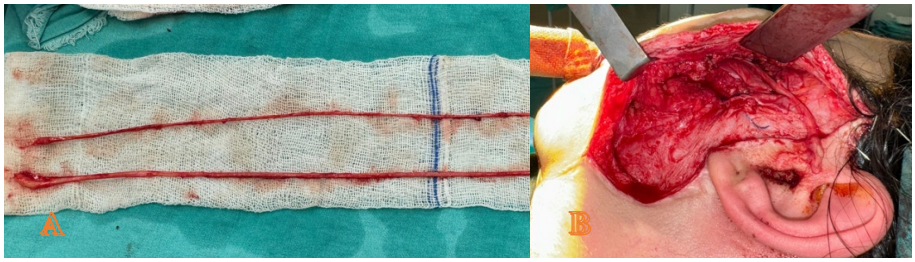
Şekil 11- Epinöral nörorafinin şematik görüntüsü [54]

Doğru aksonal hizalama ve fasiküler eşleşme için birçok teknik tanımlanmıştır. Topografik olarak kesik sinirin proksimal ve distal güdüğündeki görülebiliyorsa vazo nervozumların hizalanması yapılabilir. Bir sinir stimülatörü aracılığıyla duyusal ve motor fasikülleri ayırmak da mümkün olabilir. Ancak motor lifler için, wallerian dejenerasyonu sinir yaralanması sonrası birkaç gün içinde başlayacağından bu süreden sonra motor liflerin uyarılması mümkün olmayacaktır. Çok sayıda sütür materyali bulunmakla birlikte en çok tecih edilen sütürler, daha az reaksiyon vermesi sebebiyle monofilament naylon sütürlerdir [55].

Mümkün ise en iyi onarım yöntemi sinir uçlarının primer epinöral onarımıdır. Ancak; aralarında primer onarımı engelleyebilecek kadar gap bulunan hastalarda altın standart onarım metodu **otolog sinir grefti** ile onarımdır. 3cm'e kadar olan defektlerde ven grefti veya sinir grefti kullanılabilirken, 3 cm üzerindeki büyük defektlerde en iyi yöntem otolog sinir grefti ile onarımdır [56].

Donör Sinirler	**Avantajlar**	**Dezavantajlar**
Sural Sinir	Uzun Donör	Pozisyonlaması zor
MACB	Uzun ve geniş kalibreli	Kol medialinde skar
LACB	Kısa defektlerde iyi	Görünür önkol skarı
SBRN	Radyal sinir zaten hasarlıysa avantajlı	Donör alanda hipersensitivite

Tablo 5: Sinir greftlemesinde kullanılabilen donör sinirler. **MACB:** Medial antebrakiyal kütanöz sinir, **LACB:** Lateral antebrakiyal kütanöz sinir, SBRN: Süperfisyal radyal sinir



Şekil 12- Sinir grefti ile onarım için alınan donör sural sinir greftleri (A), Sural sinir greftinin periferik fasyal sinir onarımı için kullanıması (B)

Ancak otolog sinir grefti ile onarımın da kendilerine göre dezavantajları bulunmaktadır. Limitli sinir grefti donör alanı bulunmakla birlikte özellikle geniş ve uzun sinir defekti bulunan yaralanma onarımlarında birden fazla kablo sinir grefti gerektirmekte ve bu da fazla donör alan kullanımına sebep olabilmektedir. Ayrıca donör olarak kullanılacak sinirin mevcut dermatomal bölgesinde hipoestezi görülecek olması da diğer bir dezavantajıdır. Bununla birlikte hem onarım hattında hem de sinir grefti alınan bölgede sinir uçlarında nöroma gelişim riskinin bulunması, donör olarak alınacak sinir grefti bölgesinde extra bir cerrahi skar hattının oluşması da diğer önemli dezavantajlarındandır [57]. Bu gibi sebeplerden dolayı, otolog sinir grefti ile onarıma alternatif olabilecek yöntem çalışmaları devam etmektedir. Sinir rejenerasyonu hızlandırmak amacıyla üretilen ve sinir greftlerine alternatif olabilecek bu sinir yönlendirici kılavuzlara sinir konduitleri denilmektedir.[58] Doğal ya da sentetik üretilen sinir konduiti çalışmaları devam etmekle birlikte halen otolog sinir grefti kadar başarı sağlayabilen bir sinir konduiti üretilememiştir.[58,59] İdeal bir sinir onarımı sonrası duyu sinirlerinde proksimal sinir ucundan distal sinir ucuna doğru günlük 1 mm uzama olması beklenirken, motor sinirlerde bu uzama miktarı daha düşüktür.

İyileşmenin değerlendirilmesinde birçok metod bulunmaktadır. Elektrofizyolojik değerlendirme ile birlikte Tıbbi Araştırma Konseyinin hem motor hem de duyusal geri dönüşün değerlendirilmesi için skalası kullanılmaktadır.

Motor İyileşme
M0: Kasılma yok
M1: Hissedilebilir proksimal kas kasılması
M2: Hissedilebilir proksimal ve distal kas kasılması
M3: Yerçekimine karşı güçlü kasılma
M4: Güçlü dirençli egzersizlere karşı kasılma
M5: Tüm kaslarda tam güç

Duyusal İyileşme
S0: İyileşme yok
S1: Derin ağrıda iyileşme
S2: Yüzeyel hassas ağrı duyusunda iyileşme
S2: Yüzeyel ağrı ve bazı dokunma duyusunda iyileşme
S2+: S2'ye ek olarak daha iyi cevap hissedilmesi
S3: İki nokta ayırımında iyileşme
S4: Tüm duyularda tam iyileşme

Tablo 6: Tıbbi Araştırma Konseyinin motor ve duyusal iyileşme skalası

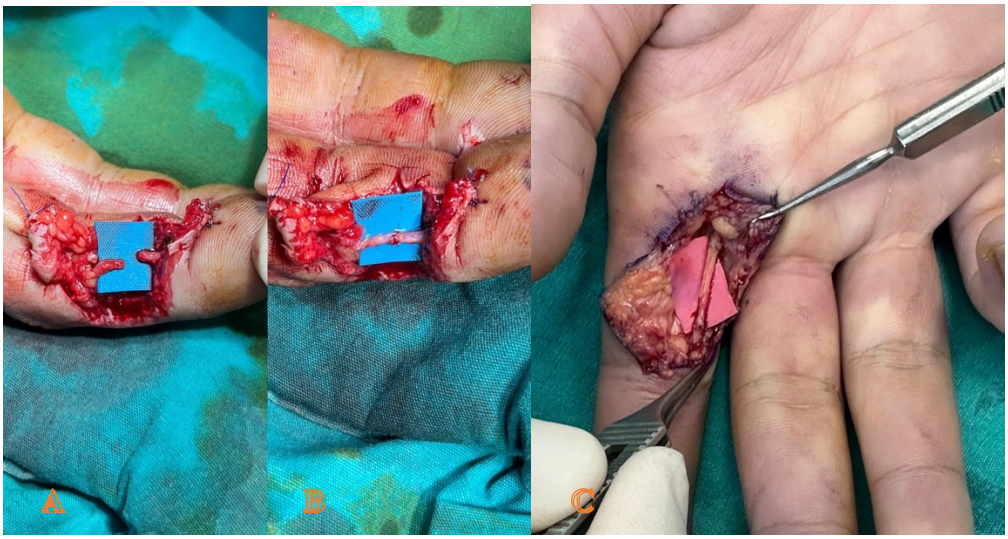
Duyusal iyileşmenin objektif ölçümü ise, hareketli ve statik iki nokta ayrımının kullanıldığı yoğunluk testini ve Frey veya Semmes-Weinstein filamentlerinin kullanıldığı eşik testini içerir [60]. Kavrama ve yakalama gücünün ölçümü, iyileşmenin erken aşamaları arasında ayrım yapılamaması ve hem medyan hem de ulnar sinirin yakalama ve kavrama işlevine katkıda bulunması nedeniyle sınırlı kullanıma sahiptir.

Elektrofizyolojik inceleme hem onarım öncesi hem de onarım sonrasında sinir iyileşmesi ile bilgiler verilmektedir. Burada en önemli parametre motor ünite potansiyeli (MUP) olup, motor son plakta gelişen aksiyon potansiyelini temsil etmektedir [61]. Kısmi sinir hasarlarında, istenilen hareketi gelişmek için motor son plakta ateşleme sayısı artmakta olup MUP sayısı artmaktadır. İyileşme döneminde, uyarılan motor son plakta, MUP'ların süresi uzamakta olup, daha büyük amplitüdlü ve aralıklı polifazik özellik gösterebilmektedir.

Yaralanma Derecesi		İyileşme Oranı	İyileşme	Elektrodiagnostik Çalışmalar					
				Akut Sinir Yaralanmaları			Kronik Sinir Yaralanmaları		
				Fib/PSW	MUP'lar	Sinir Cerrahisi	Fib/PSW	MUP'lar	Sinir Cerrahisi
0	Dinamik İskemi	Hemen (dekompresyon ile)	Tam	-	Normal	+/-	-	Normal	+/-
1	Nörapraksi	Hızlı (<12 hafta)	Tam	-	Normal	+/-	-	Normal	+/-
II	Aksonotmezis	Yavaş (ayda 1)	Tam	Mevcut	+ (ayda <3)	+/-	-	++	-
III		Yavaş (ayda 1)	Kısmi	Mevcut	(ayda >4)	+/-	-	+ +	-
IV	Devamlılık içinde Nörotmesis	Yok	Yok	Mevcut	-	+	-	-	-
V	Nörotmezis	Yok	Yok	Mevcut	-	+	-	-	-

Tablo 7: Sinir yaralanmalarında elektrodiagnostik bulgular. **MUP:**Motor ünite potansiyeli, **Fib:** Fibrilasyon

Sinir onarımı sonrasında, primer epinöral onarım veya sinir grefti ile onarım fark etmeksizin erken dönemde atel uygulaması ile hareket kısıtlaması önerilir. İzole sinir yaralanmalarında 2-3 haftalık atel ile immobilizasyon sonrasında fizik tedavi ile rehabilitasyona başlanmalıdır. Daha erken sürede mobilizasyon sütürlerin güvenilirliği bozarak kopmaya sebep olabilirken, daha uzun immobilizasyon ise fibrozis gelişimini tetikleyerek aksonal ilerlemeyi bozabilmektedir.



Şekil 13- Sol el 2.parmakta dijital sinir kesisinin görüntüsü (A), Sol el 2.parmaktaki dijital sinir kesisinin primer epinöral onarım sonrası görüntüsü (B), Başka bir hastada sağ el 2.parmaktaki dijital sinir kesisinin MACB sinir grefti ile onarımı sonrasındaki görüntüsü (C)

2.4. Sinir Kondüitleri

Periferik sinir defektlerinde, onarım olarak halen altın standart sinir grefti ile onarımdır. Ancak kısıtlı sinir grefti donör alanı bulunması, sinir grefti alınan bölgede skar bırakma, duyu kaybı ve nöroma oluşumu riskinden dolayı alternatif yöntemler üzerine çalışılmaktadır

Sinir konduitleri, primer onarıma izin vermeyen ve uzun mesafe defekt izlenen sinir yaralanmalarında, aksonal rejenerasyon için korumalı bir ortam oluşturan ve yanlış doğrultulda sinirin ilerlemesini engellemek için üretilen, biyolojik ya da sentetik malzemelerden üretilmiş tüp benzeri yapılardır [62]. Bu sinir yönlendirici tüp(konduitler) sayesinde, aksonlar, büyüme tomurcuğundan distal güdüğe doğru orjinal yolunda yönlenmesi sağlanmaktadır. Ayrıca, çevre dokunun bu yola girişini önleyerek koruyucu bir rol oynarken, bazı konduitler içerisine eklenen nörotrofik faktörler sayesinde de aksonal rejenarasyonu hızlandırabilme potansiyelini inceleyen çalışmalar da popülerlik kazanmış durumdadır [7,63,64].

Son yıllarda sinir konduit üretim çalışmaları hızlanmış ve çok sayıda prototip üretilmiş olsa da, özellikle 3 cm ve üzeri defektlerde sinir grefti uygulamasıyla karşılaştırıldığında benzer ya da daha iyi sinir iyileşmesi sağlayan bir konduit üretimi başarılamamıştır. Üretilecek iyi bir sinir konduiti için aşağıdaki fiziksel özelliklerin sağlanabilmesi gerekmektedir [65].

1) Yeterli esnekliği olabilmelidir.
2) Besin ve oksijen açısından geçirgen olmalıdır.
3) Biyo-uyumlu olup, metabolik artık bırakmadan uzaklaştırılabilmelidir.



Şekil 14- Sinir konduitlerin biyolojik etkileri

Kullanılan materyal ve üretim sürecine bağlı olarak kondüitler biyolojik ve sentetik sinir kondüitleri olarak ikiye ayrılırlar. Biyolojik kondüitler olarak; arterler, venler veya kaslar özellikle kısa sinir defektlerinde kullanılmıştır ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir ancak donör alan morbiditesi ve kısa segment defektlerde fayda göstermektedir.

Biyolojik Konduit Örnekleri	**Literatür ve Referans**
Otojenik Epinörum	Chiu vd. (1982).
İnsan amniyotik membran	Davis vd. (1987).
Arter	Dornseifer vd. (2011).
Ven	Rinker ve Liau (2011).

Tablo 8: Çeşitli biyolojik konduit örnekleri ve referansları

Sentetik sinir kondüitleri; biyobozunabilen ve biyobozunamayan maddeler olmak üzere iki grupta incelenmektedir. Biyobozunmayan materyal olarak, silika jel kanal ilk kullanılan sentetik kondüitlerdir. Daha sonraları plastik ve polytetrafluoroethylene yapılı materyaller kullanılmıştır. Ancak biyo-bozunmayan sinir konduitler otolog sinir grefti alınımını ortadan kaldırsa da çevre dokularda inflamasyona sebep olmakta ve rejenere olan sinir aksonlarını baskılamakta olduğu görüldü.Kendiliğinden yok olmadığından dolayı ikinci bir operasyon gerektirmekte ve ağrı ve daha fazla sinir hasarına sebep olabilmektedir. Bu sebeple biyobozunabilir materyallerin kullanımı popüler hale gelmeye başlandı. Bu amaçla kolajen, kitin, poliglikolik asit (PGA), polilaprolakton(PCL), polilaktik asit(PLA) , polilaktid-ko-glikolid (PLGA), hidrojeller kullanılmıştır [66–69]. Biyo-yıkılabilir materyaller daha esnek özellikte olup vücutta inflamasyona sebep olmamaktadır. Yıkılamayan materyallerle kıyaslandığında, ikinci bir operasyonla alınmaları gerekmemektedir. Gelişen teknolojik yöntemlerle birlikte biyo-yıkılabilir materyallerin kombinasyonları da üretilmeye başlanmıştır. 3 boyutlu yazıcı teknolojisinin gelişmesi ve biyoteknoloji ile ilaç uygulamalarının gelişmesi ile

birlikte çeşitli büyüme faktörleri ve ilaçlar kontrollü salınım yapılarak geliştirilmeye başlanmıştır.

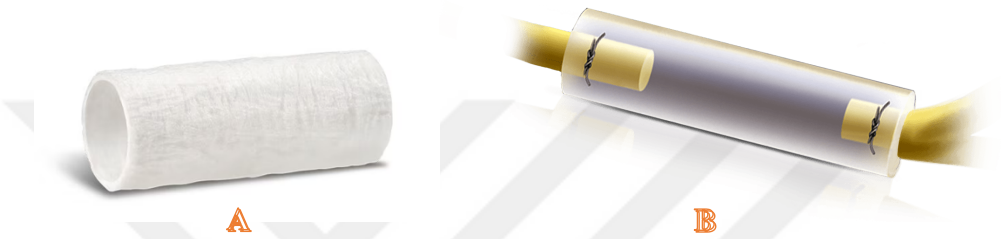
Biyokimyasal Bileşen	**Konduit Materyal**	**Referans**
NGF	Slikon	Xu vd. (2003)
VEGF	Slikon	Hobson vd.(2000).
Schwann hücresi	PLGA	Liu vd. (2007).
IGF-1	Aselüler ECM	Fansa vd. (2002).
CNTF	Heparin/aljinat hidrojel	Zhang vd. (2004).
Laminin	PGA	Matsumoto vd. (2000).

Tablo 9: Çeşitli kullanılmış olan büyüme faktörleri ve hücreleri ve referansları [7,70–74]

Son yıllarda , gelişen teknolojiyle beraber 3 boyutlu yazıcı ve biyoyıkılabilir materyallerle üretilen tek kanallı veya 2-7 arasında değişen çok kanallı kondüitler üretilmiştir. Yapılan çalışmalarda özellikle uzun segment sinir defektlerinde çok kanallı sinir konduitlerinin sinir iyileşmesini daha iyi sağladığı gözlenmiştir.

Özellikle son yıllarda üretilen ve ön plana çıkan sinir kondüitleri PLGA ve hidrojeller üzerine olmuştur. PLGA sentetik biyobozunabilir bir materyaldir. En önemli avantajlarından bir tanesi sinir iyileşmesine olumlu katkı yapan birçok sinyal molekülü ile birlikte ilişkilendirilebildiği gibi hidrojel ya da diğer moleküllerle köprüleme yapılabilir olmasıdır [75]. Aynı zamanda jel yapısı ile çok kanallı olarak da istenilen boyutlarda elde edilebilmektedir. Bir diğer popüler konduit materyali de hyalurinik asit gibi hidrojellerdir. Bu amaçla özellikle hyalurunik asidin granüler formda hidrojelleri üretilmesi sayesinde 3 boyutlu bir iskele yapısı oluşturulabilmekte ve istenilen büyüme faktörleri yüklenebilmektedir. Hyalurinik asit, ekstraselüler matriksin doğal bir bileşinidir ve bu yüzden yapılan sinir kondüitlerinin ekstraselüler ortama uyum sağlaması ve doğal yıkım sürecine uğraması, madde ve sinyal iletişimini sağlaması popülaritesinin artmasını sağlamıştır. Ancak her iki molekülün basılabilmesi için 3 boyutlu yazıcı teknolojisi ve planlama, tasarım açısından yetkin biri gerektirmesi, maliyetinin diğer sentetik moleküllere göre daha fazla olması en önemli dezavantajlarındandır.

Son zamanlarda popülaritesi artmakta olan diğer bir konu da deselülerize edilmiş matriksler ile üretilen biyomateryallerin organ transplantasyonları, dental uygulamalar, tendon ve kemik greftlemeleri, meme protezi gibi çeşitli alanlarda kullanılmaya başlanmışıdır [8,76]. Bu amaçla özellikle, insan veya hayvan gibi dokuların deselülarizasyonu ile üretilmiş sinir konduitleri de üretilmiştir ancak halen sinir grefti ile karşılaştırabilecek iyileşme sağlayan bir konduiti mevcut olmamakla birlikte bu konduitlerin maliyetleri de çok yüksektir.



Şekil 15- Ticari sinir konduiti Neuragen görüntüsü (A), Sinir konduitinin proksimal ve distal sinir uçlarınına uygulanışının şematik görüntüsü (B)

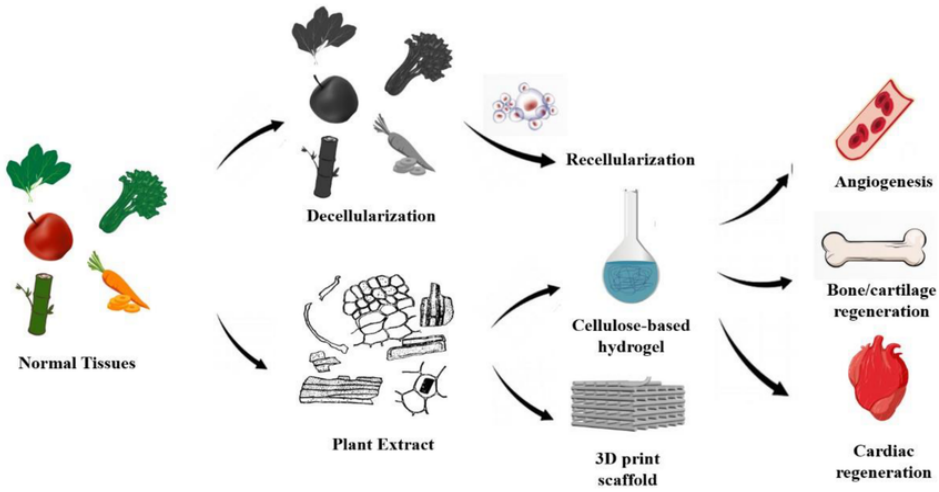
TİCARİ İSİM	ŞİRKET	MATERYAL
Neuragen/Neurawrap	Integra	Tip 1 kolajen
Neurolac	Polyganics	PDLLA/CL
Neurotube	Synovis	PGA
Neuromatrix/Neuroflex NeuroMend wrap	Collagen matrix Inc.	Tip 1 kolajen
Salubridge/Salutunnel	Salumedica	Polivinyl Alkol Hidrojel
Surgisi/Axoguard	AxoGenlnc	Domuz ince bağırsak mukozası
Avance	AxoGenlnc	Deselülerize İnsan Siniri
QiGel,Re-Axon	Medovent	Chitosan
RevolNerve	Orthomed	Domuz derisi tip 1-3 kolajen

Tablo 10: Patenti alınmış FDA onayı bulunan sinir konduitleri ve üretildiği materyaller

2.5. Deselülarize Biyomateryaller ve Tıbbi Uygulamaları

Son yıllarda gelişen biyomateryal ve nanoteknoloji sayesinde, rejenerasyon amacı ile sağlık alanında gelişmeler artmaktadır. Çeşitli insan, hayvan, bitki veya embriyo gibi dokularının hücrelerinden arındırma tekniklerinin deselülerize edilerek çeşitli organ ve doku fonksiyonlarının rejenere edilmesini sağlayacak deselülarize matriksler

geliştirilmeye ve kullanılmaya başlanmıştır [8]. Bu tarz hücresizleştirme işlemlerinin amacı, vücutta oluşabilecek immün reaksiyonları önleyerek DNA gibi genetik materyalleri ve hücrelerde bulunan materyalleri uzaklaştırırken biyomekanik ve biyokimyasal özelliklerininin de korumasını sağlamaktır. İlk hücresizleştirilmiş biyomateryaller 1948 yılında rapor edilmiş ve perfüzyon yöntemiyle hücresizleştirilmiş tüm organ ilk kez 2008 yılında tanıtılmıştır [77]. Özellikle doku ve organ transplantasyonlarında, bu şekilde hücreden arındırılmış biyomateriyellerin doku rejeksiyonu ve limitli donör şansının azaltılabileceği düşünülerek popülerize olmaktadır. Gelişen 3 boyutlu yazıcı teknolojisi sayesinde, üretilen deselülarize matriks yapılarının tasarımı da popülerize olmaktadır. Bu şekilde üretilen materyaller özellikle ortopedi ve plastik cerrahi alanlarında tendon, kemik, kas gibi dokularda, meme rekonstrükisyonunda, yara iyileşmesi için yeni yara yeri örtülerinin geliştirilmesinde, genel cerrahide herni operasyonlarında, doku nakilleri gibi durumlarda ve artan birçok medikal alanda kullanılmaya başlanmıştır. Hücresizleştirilmiş hayvan dokuları maliyetli, erişimi zor ve yeterli miktarda doku elde etmek zordur. Ayrıca yaş, organizma veya doku patolojisi sonuçlarda tutarsızlığa yol açmaktadır. Bu yüzden son yıllarda, insan ve hayvan dokuları dışında bitkilerden elde edilen deselülarize materyallerin kullanımı popülerize hale gelmeye başlamıştır. Çeşitli bitki yaprak ya da köklerinden deselülerize edilerek elde edilmiş çeşitli biomateryaller; kemik, cilt, damar ya da diş gibi doku fonksiyonlarının sağlanması ve iyileştirilmesi amacıyla kullanılmıştır ve kullanımı daha popüler hale gelmektedir [9]. Bu şekilde elde edilmiş biyomateryal ya da matriksler üzerinde yara örtüleri, damar endotelizasyonunun taklidi, kemik iyileşmesinde osteogenezi artırmak için kullanmak gibi çok çeşitli alanlarda kullanılmışlardır. Ancak bitki saplarının deselülarize edilerek elde edilen herhangi bir sinir konduiti üretilme çalışılması yapılmamıştır.



Şekil 16- Bitkilerin Deselülarizasyonunun Kullanım Etkinliği [78]

Deselülarizasyon aşaması için çeşitli metodlar mevcuttur. Kimyasal (hipo/hipertonik çözeltiler, deterjanlar veya çözücüler ile etkileşim), fiziksel (dondurma/çözme, mekanik çalkalama) veya enzimatik (nükleazlar) yaklaşımlar bunlardan bazılarını oluşturmaktadır [9]. Bitkiler, hayvan veya insan dokularına kıyasla çevre şartlarına karşı daha sağlamdırlar ve bu yüzden ilk önerilen kimyasal deselülarizasyon teknikleri altın standart teknik olarak bilinmektedirler. Çalışmamızda kullanığımız kimyasal deselülarizasyon tekniklerinin dezavantajı ise mevcut kimyasalların kalıntısı kalabileceğinden işlem sonrası çok sayıda yıkama sürecinin yapılması gerekmektedir. Eğer yeterli düzeyde yıkama yapılmaz ise içeride kalan kimyasal maddelerin toksik özellikleri olabileceği unutulmamalıdır. Kimyasal deselülarizasyon işleminde ilk olarak sıvı çözücü özelliği gösteren enzimatik uygulama ile hücre ve çekirdek membranları çözülür ve proteinler denatüre edilir. Daha sonra geride kalan debrisleri yıkmak ve renksizleştirmek için sürfaktan uygulaması yapılır. Oluşan iskele yapıları bol yıkama sonrası kimyasal bileşen uzaklaştırılır. Bu süreçte sitotoksisite analizlerinin iyi yapılmış olması gerektiği de unutulmamalıdır.



Şekil 17- Bitkilerin Deselülarizasyonun Metodları

Çalışmamız ile birlikte, üretilmiş ve satılmakta olan ancak sinir greftlerine göre sinir rejenerasyonunu artırmada halen yeterli düzeye ulaşamamış sinir kondüitlerine kıyasla daha ucuz maliyetli olabilecek ve popülerize hale gelmiş hücresizleştirilmiş bitki biyomateryallerini sinir rejenarasyonunu artırarak sinir greftlerine alternatif olabilecek ilk sinir konduiti üretimi olmasını hedefledik.

2.6. Alstroemeria Çiçeği (Peru Zambağı) Özellikleri

Alstroemeria, Alstroemeriaceae familyasına bağlı çiçekli bir bitki cinsidir. Halk arasında Peru zambakları veya İnka zambakları olarak bilinen Alstroemeria, canlı tonlardan pastel tonlara kadar geniş bir renk yelpazesinde güzel çiçeklere, çizgili ve benekli yapraklara sahip, her türlü bahçe peyzajına zarafet ve derinlik katan çok yıllık bitkilerdir. En önemli özelliği kırmızı, yeşil, mor, turuncu, pembe ve beyaz gibi çok sayıda renkli çiçeklerinin bulunmasıdır.

Güney Amerikada (Peru, Şili) gibi yüksek serin bölgelerden köken alan bu çiçekler uzun vazo ömürleri ile bilinmektedirler. Güney Amerika'daki egzotik kökenlerine rağmen, alstroemerialar daha soğuk iklimlere iyi adapte olmuşlardır ve sert

sıcaklıklarla bilinen bölgelerde yazın bile hala güzel çiçeklerini üretebilirler. Bu tarz dayanıklı olması ve çeşitli renklere sahip olmasıyla özellikle saksı çiçeği olarak kullanılması ile ünlü hale gelmiştir.

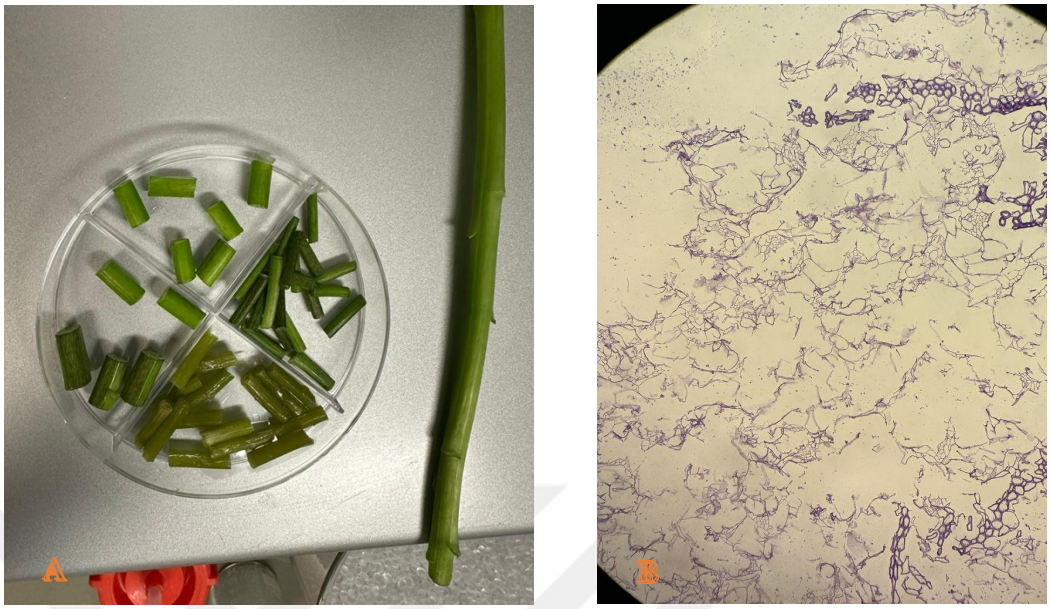
Alstroemeria, toprak altı rizomlarından kaynaklanan çiçekli ve vejetatif olmak üzere iki tür sürgün üreten otsu ve jeofitik bitkilerdir [79]. Çiçeklenme için gerekli şartlar yerine getirildikten sonra yeraltı rizomlarından sürekli olarak yeni çiçekli gövdeler üretilir. Alstroemeria çiçeklenmesinin kontrolü, birincil soğuk sıcaklık gereksinimi ve ikincil uzun fotoperiyot gereksinimi gerektiren bir süreçtir. Çeşitlerin çiçeklenmeyi teşvik etmek için soğuk sıcaklıklara yönelik benzersiz gereksinimleri vardır. Bu sıcaklıklar 10 ila 17°C (50-63°F) arasında değişebilir; bu sıcaklığa maruz kalmak için gereken süre de bitkinin genetiğine bağlı olarak değişecektir.[80] Çiçeklenme başladıktan sonra, toprak sıcaklığı uzun süre 18-21°C'nin (65-70°F) üzerine çıkana kadar bitkiler süresiz olarak çiçekli sürgünler üretmeye devam eder.



Şekil 18- Sarı renkli Alstroemeria Çiçeğinin doğal görüntüsü

Deselülearize materyallerin popülarize olmasıyla birlikte yapılan bir çalışmada, Alstromeria çiçeği sapları deselülarize edilmiş ve desalülerize edilen bu sapların yapısındaki kanallı yapı sayesinde kemik iyileşmesini taklit etmesi amacıyla

kullanılmıştır ve mevcut mikrokapilleri yardımıyla santral bölgelere besin diffüzyonu sağladığı gösterilmiştir [81].



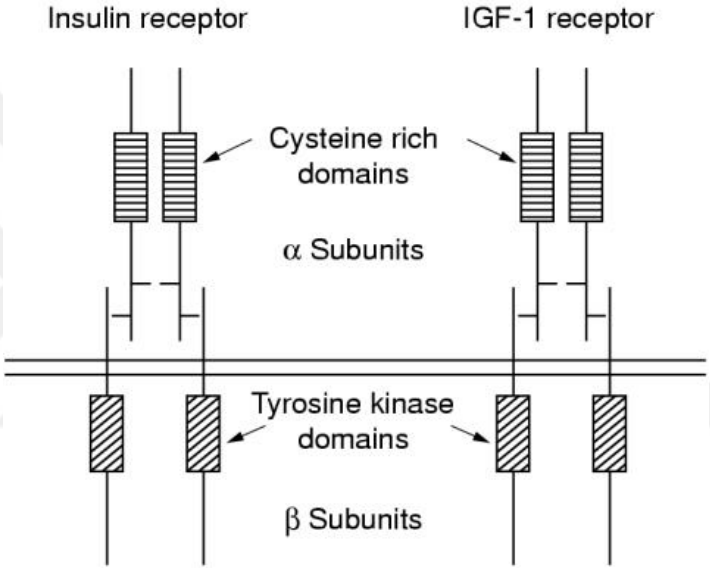
Şekil 19- Çalışmamızda kullandığımız Alstromeria çiçeğinin sapı ve kesilmiş hallerinin görüntüsü (A), Işık mikrokopu altında Alstroemeria çiçeği sapının H/E boya ile kanallı yapısının gösterilmesi (B)

Çalışmamızda da yukarıda belirttiğim çalışmadan esinlenilerek mevcut doğal çok kanallı yapısının olması sebebiyle, sinir iyileşmesinin rejenerasyonunu hızlandırabileceği ve konduit görevi görebileceği düşüncesiyle Alstroemeria çiçeği sapı kullandık. Kanallarının açık olduğunu mikroskop altında kanıtladıktan sonra deselülarize ederek ürettiğimiz sinir konduiti ile bu alanda ilk defa deselülarize edilmiş bitki sapı ile üretilmiş sinir konduiti çalışması olma özelliğini de göstermiş olduk.

2.7. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 Uzun Arjinin-3 (IGF-1 LR3)

İnsülin benzeri büyüme faktörü -1 (IGF-I) molekülü veya diğer ismiyle somatomedin bir büyüme faktörüdür ve insüline benzer anabolik etkileri bulunmaktadır [82]. 1957 yılında ilk defa Salmon ve Daughaday tarafından sıçan kıkırdağında sülfatlama faktörü olarak tanımlanarak keşfedilmiştir. Daha sonra Rinderknecht and Humbel 1976 yılında insan serumunda proinsüline benzer yapıları sebebiyle insülin benzeri büyüme faktörü olarak adlandırdığı IGF-1 molekülünü tespit etmiştir. IGF-1, 7649 Da moleküler ağırlığa sahip 70 amino asitten oluşan küçük bir peptittir. İnsüline benzer şekilde, IGF-1, disülfit bağlarıyla bağlı bir A ve B zincirine

sahiptir. İnsülin reseptörlerine, bu yapısal benzerliğinden dolayı insülinden daha az afinite ile olsa da afinite göstermektedir. İnsanlarda, bu molekül plazmada %80 oranında IGF Bağlayıcı Protein-3 (IGFBP-3) bağlanarak taşınmaktadır. Etkilerini Tip 1 IGF reseptörleri üzerinden göstermektedir. Bu reseptörler embriyogenez sırasında tüm hücrelerde üretilmektedir ve IGF-1 molekülü bağlandığında hücre içi kısmı aynı insülin gini tirozin kinaz özelliği göstererek fosforilzasyonu sağlar. Çoğunlukla karaciğerde salgılanan bu molekül, diğer dokular üzerinde anabolik etkilerini göstermek amacıyla taşınmaktadır [82]. IGF-1 molekülünün sentezlenmesinde azlık veya reseptörlerinde direnç olması durumunda anabolik etkilerin azalması sebebiyle Laron sendromu adı verilen bir cücelik durumu ortaya çıkmaktadır.

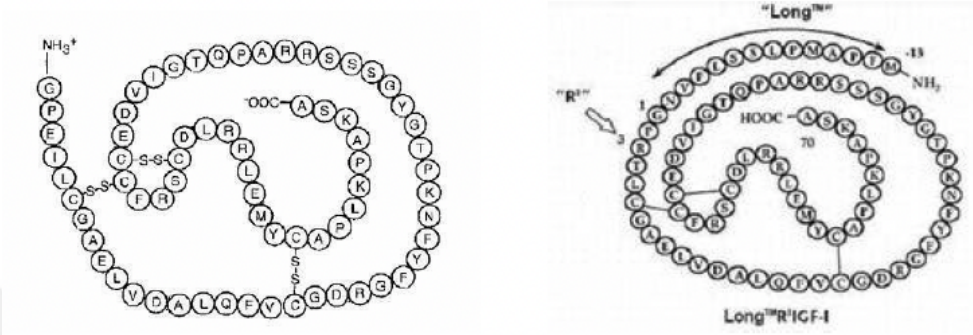


Şekil 20- İnsülin ve IGF-1 reseptörlerinin yapısı[83]

IGF-1, mevcut anabolik etkileri sebebiyle diyabet, Amyotrofik lateral skleroz, ciddi miyotonik kas hastalıklarında denenmiştir. IGF-I anabolik etkileri sayesinde kemik ve kıkırdak büyümesinde, iskelet kaslarının büyümesinde, sinir hücrelerinin yaşamını sürdürmesinde rol almaktadır ve bunu da protein sentezini tetikleyerek veya apopitozu önleyerek gerçekleştirmektedir. Daha önceden yapılmış deneysel çalışmalarda IGF-I molekülünün sinir iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiş olup elde edilmiş sinir kondüitlere yüklenmiş ve bir pompa aracılığı ile sistemik salgılanarak otolog sinir greftleri ile kıyaslamaları yapılmıştır ve sinir rejenerasyonunu artırdığı gösterilmiş olsa da sinir greftlerine üstünlüğü gösterilememiştir.

Bu amaçla kendi çalışmamızda sinir iyileşmesini hızlandırma potansiyeli olan IGF-I molekülününün aminoasit dizisindeki 3.pozisyondaki glutamik asit yerine arjinin

molekülü yer alan sentetik formu olan IGF-I LR3 molekülü kullanılmıştır [84]. IGF-I LR3 normal IGF-I'e kıyasla dolaşımdaki IGF-I bağlayıcı proteinlere daha az bağlanmaktadır ve bu sayede hedef hücrelerde daha potent etki göstermektedir ve yarılanma ömrü daha uzundur. (20-30 saat). IGF-1 LR3 uygulamasının arkasından, IGF-1 seviyeleri çok hızlı yükselir ve güçlü reseptör etkinliği ile daha hızlı ve uzun süreli etki gösterir.



Şekil 21- IGF-I LR3 ve IGF-1 insülin aminoasit sıralamaları[85]

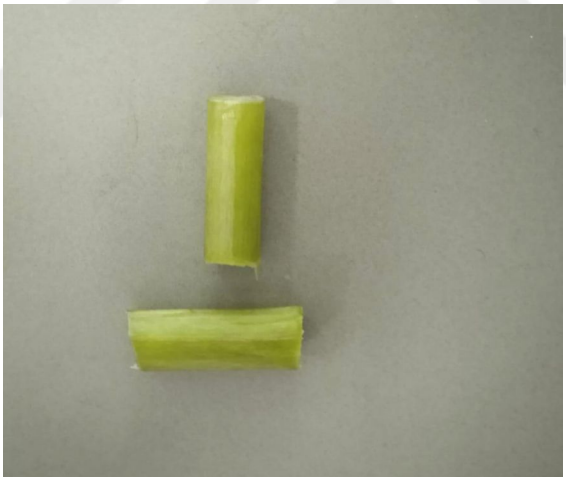
Daha önceden etkinliği gösterilmiş olan IGF-1 in anabolik etkinliğinden daha potent ve uzun ömürlü olduğu bilinen IGF-1 LR3'ü, bu özelliklerinden dolayı ürettiğimiz deselülarize sinir konduit çalışmamızda sinir rejenerasyonunu artırmada potent anabolik özellikleri ile sinir greftine alternatif bir kapasite sağlayabileceği düşüncesiyle kullandık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın gerçekleştirilmesinde 30 adet dişi cinsiyette 200-300 gram ağırlığında Sprague Dawley cinsi sıçan kullanıldı. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınan 2023/35 no'lu izin kararı sonrasında deneylere başlandı. Deney süreci, Alstromeria çiçek saplarının kesilip deselülerize edilmesiyle başlanıldı ve konduitlerin karakterizasyon, hücre kültürü ve sitotoksite çalışmaları, ilaç yüklenmesi, ilaç salınım deneyleri tamamlandıktan sonra hayvan deneyleri aşamasına geçildi.

3.1. Bitki Saplarının Deselülerizasyonu

Peru Zambakları (Alstroemeria) İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Orman Fakültesinde karakterize edildikten sonra bitkinin sap kısmı 1.2 cm'lik uzunluklarda steril bistür ile kesildi ve ardından 5 gün %10 sodyum dodesil sülfat (SDS) solüsyonunda solüsyonunda bekletildi.



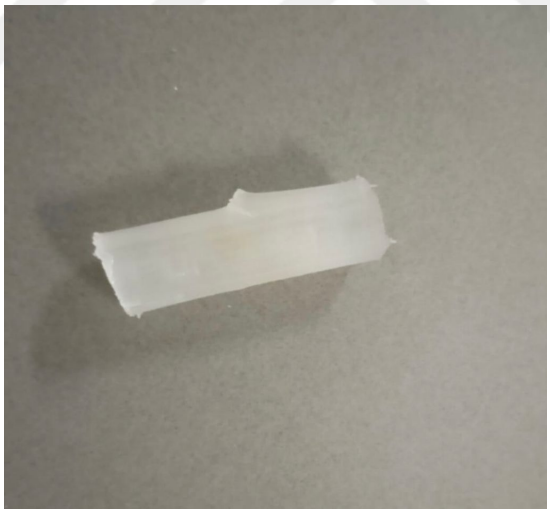
Şekil 22- Bitki saplarının deselülerizasyon öncesi görüntüsü

Ardından bitki gövdeleri solüsyondan çıkartıldı ve distile suda 1 gün bekletildi. İnkübasyon süresinin ardından bitki gövdeleri %1 non-iyonik sürfaktanlı %10 hidroklorid içeren distile suda rengi beyazlayana kadar bekletildi ve bu sürede her 24 saatte bir solüsyon yenisi ile değiştirildi. Sürenin sonunda bitki örnekleri çözücü ve solüsyonların uzaklaştırılması için çalkalamalı su banyosunda distile su ile yıkandı.



Şekil 23- Bitki saplarının SDS solüsyonunda bekletilmesi

Ardından hücresizleştirmenin netleştirilmesi için total DNA quantifikasyonu ile örnekler test edilmesi sonrasında liyofilize edilerek saklandı. Kullanım öncesi örnekler UV ve %2 penisilin streptomisin içeren solüsyonda 2 saat bekletilerek steril edildi ve ardından PBS ile yıkanarak antibiyotik uzaklaştırıldı.



Şekil 24- Deselülerize edilmiş bitki sapının görüntüsü

Sonrasında örnekler bir gece besi yeri ile doyurularak üzerlerine L929 fibroblast hücresi ekilerek ve biyouyumlulukları kontrol edildi [76].

3.2. Bitki Saplarının Karakterizasyonu

Bitki saplarının deselülerizasyon işlemi tamamlandıktan sonra morfolojik ve mekanik olarak dayanıklılık testleri yapılarak karakterizasyonu yapıldı.

3.2.1. Morfolojik Analiz

Alan Emisyon Tabancalı Taramalı Elektron Mikroskobu (FEGSEM) SLA cihazında oluşturulan prototipler, altın-paladyum malzemesi ile argon gazı altında 40 saniye kaplandı. Kaplama işleminin ardından FEGSEM cihazında yüksek ve düşük vakum dedektörleri ile prototiplerin 10 µm, 50 µm ve 100 µm alandaki ölçüleri görüntülendi. Elektron mikroskopu (FEGSEM) ile skala barı ile fotoğraflar alınacak, 3B basılabilirlik açısından çözünürlük, şekil doğruluğu vb. özellikler image j programı kullanılarak karakterize edildi.

3.2.2. Gözeneklilik Analizi

Literatürde porozitenin tespiti için kullanılan temel yöntemler arasında X-ışını ile tahribatsız muayene, Arşimet prensibi ile yoğunluk ölçümü ve mikroskobik incelemeler vardır. Prensipte, bir numunedeki porların hacmi, onları doldurmak için gerekli sıvının ağırlığından hesaplanır.[86] Oluşturulan sinir konduitlerinin gözenekliliklerinin ve gözenek boyutlarının analizi için optik profilometre cihazı kullanılacaktır.

3.2.3. Mekanik Analiz

Basma Testi Prototip hücre iskelelerinin basınç dayanımı, 2 kN yük hücresi ile donatılmış bir mekanik test cihazı kullanılarak 0.25 mm/dk'lık bir çapraz kafa hızında ölçüldü. Numune boyutları 20 mm x 20 mm x1 mm şeklinde ayarlandı. Her deney koşulu için beş numune test edildi ve veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak sunuldu. Bu çalışmada kullanılan çekme testi için numunelerin geometrisi, Amerikan Test Malzemeleri Standardının (ASTM, D638-01) "Prototipin Çekme Özellikleri için Standart Yöntem"e göre oluşturulmuş olup Young modülü, gerilim ve gerinim gibi parametreler evrensel bir malzeme test makinesinden elde edildi. Çekme mukavemeti ve elastiklik modülü kullanılarak hesaplandı.

3.3. Niozom Sentezi ve İlaç Yüklenilmesi

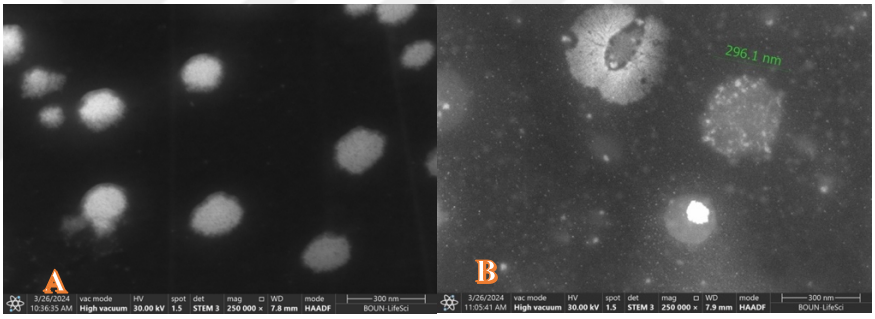
3.3.1. Niozom Sentezi

Niozomlar ultra sonikasyon ile ince film tabakası oluşturma metodu ile hazırlandı

[87]. 20mM Tween61, kolesterol ve DSPE-PEG(2000) (1:1:0.1) oranlarında, kloroform ve methanol (2:1 mL) çözgeninde yuvarlak altlı balonun içinde karıştırıltı. Daha sonra çözücü rotary evaperatör yardımıyla ince film tabakası oluşturulacak şekilde uçuruldu. Elde edilen ince film solventin tam anlamıyla uçması için vakumlu desikatörde bir gece bekletilerek sonraki gün değişik oranlarda PBS içerisinde çözdürülmüş ilacı içeren solüsyon ince film tabakasının üstüne dökülüp vortekslendi. Oluşan solüsyon içerisinde makro ve mikro veziküller bulunmaktadır. Bu vezikülleri nano düzeye düşürmek için solüsyon 1 dk 130W ve 20 kHz de sonikasyona maruz bırakıldı. En son oluşan niozomlar, enkapsüle edilmeyen konjugat ve/veya polimerlerin uzaklaştırılması için PBS'e karşı diyaliz edildi.

3.3.2. Enkapsülasyon Verimi (EV)

Niozom içeriğinin dışarı çıkması için enkapsüle niozomlar kloroform yardımı ile patlatılarak örnekler 96 kuyucuklara eklenip thermo plate okuyucu ile absorbans tarama ile okundu ve elde edilen veriler önceden hazırlanan eğri denklemi ile hesaplandı.



Şekil 25- İlaç içermeyen niozomların taramalı geçirimli elektron mikroskobunda (STEM) görüntüsü (A), IGF-1 LR3 ilaç içeren niozomların taramalı geçirimli elektron mikroskobunda(STEM) görüntüsü (B)

3.4. Niozom Karakterizasyonu ve İlaç Salınım Çalışmaları

3.4.1. Karakterizasyon analizleri

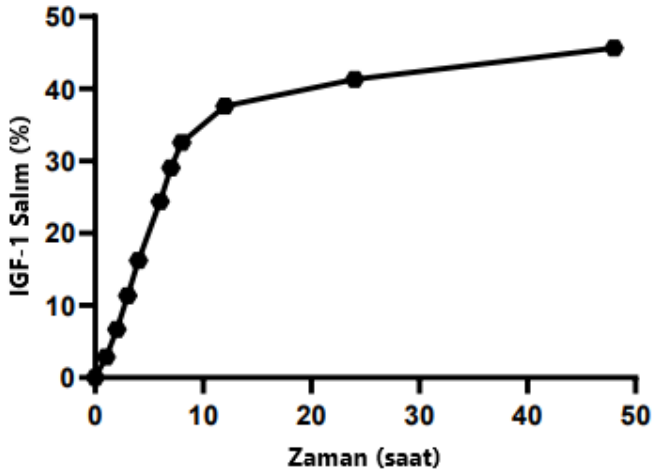
Her sentez farklı zaman dilimlerinde 3 defa tekrarlanacak olup benzer karakterizasyon sonuçları vermesi beklendi. Sentezlenen enkapsüle niozomların boyutları Dinamik Işık Saçılımı (DLS) cihazı, Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), Transmisyon Elektron Mikroskopu (TEM) ve Atomik Kuvvet Mikroskopu (AFM) kullanılarak hesaplandı. Stabilite testleri yine DLS cihazında 20 gün boyunca iki farklı sıcaklıkta (+4 ve +25 0C) boyut bağımlı olarak gerçekleştirildi. Isıl özelliklerinin bozunma davranışlarının incelenmesi için öncelikle örnekler liyoflize

edildi ve daha sonra DSC ve TGA cihazları ile 5'er mg kullanılarak analizler yapıldı. DSC cihazı ile camsı geçiş sıcaklığı ve erime sıcaklığı ölçülerek TGA cihazında ise ısıl bozunma sıcaklıkları tespit edildi.

3.4.2. İlaç Salınım Çalışmaları

İlaç salınımı çalışması, koşulları enkapsülasyon veriminin belirlenmesi sonrasında hesaplanacak olup dikkate alındı. İlaç salımı, kan dolaşımını (pH 7.4) taklit eden koşullar altında, Nihai ürünlerin varlığında ve 37°C'de incelendi. 9 mL'lik fosfat-tampon (pH7.4, 0.1M) örneği diyaliz torbalarına eklendi. Daha sonra, tüm solüsyonlar bir çalkalamalı su banyosunda 37°C'ye ısıtılacak ve 1 mL nihai ürünlerimiz diyaliz membran torbasına eklendi. (Toplam hacim 10 mL). Sıvılar karıştırılacak ve 37°C'de tutuldu. Salınan ilaç miktarını belirlemek için her bir çözeltiden 1 mL numuneler alındı ve absorbans okumaları yapıldı. Ölçümlerden sonra numuneler çözeltilere geri eklendi. En sonda sonuçlar kalibrasyon eğrisi çizilerek Lambert Beer eşitliği ile konsantrasyon hesabı yapıldı, yüklenen ve salınan ilaç miktarları belirlendi.[88] Deney her örnek için 3 defa tekrarlandı. IGF-1 sıcaklığa karşı hassas bir protein olduğundan, diyaliz işlemi, +4 °C'de saf suya karşı gerçekleştirilmiştir. Niozomlardan ortama salınan IGF-1 miktarı UV-Vis. Spektrofotometre kullanılarak 270 nm dalgaboyunda absorbans ölçümü yapılarak 48 saat boyunca takip edilmiştir.

.



Grafik 1- İlaç salınım çalışmasında IGF-1 LR3 salınım grafiği

Süre	IGF-1 Kümülatif Salım Miktarı (%)
1. saat	2,843829
2. saat	6,681286
3. saat	11,34105
4. saat	16,24066
6. saat	24,39526
7. saat	29,05503
8. saat	32,54985
12. saat	37,62078
24. saat	41,32118
48. saat	45,62804

Tablo 11: IGF-1 LR3'ün saatlere göre salım değerleri

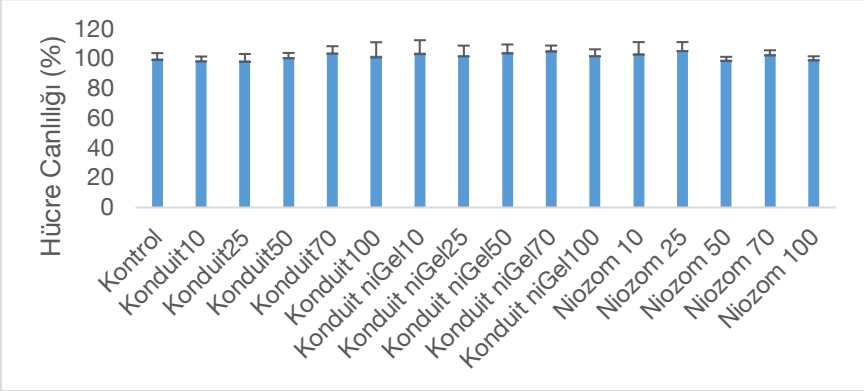
Yapılan ölçümler sonucunda, IGF-1'in ortama kademeli olarak salındığı belirlenmiştir. Ortama salınan IGF-1 miktarı 48. saat sonunda %45,62'ye ulaşmıştır.

3.5. İn- Vitro Biyouyumluluk Çalışmaları

3.5.1. Hücre Kültürü Çalışmaları

Beyin epitel (U87), hücre hattı, L-Glutamine (Lonza, İsviçre), 10% (v/v) Fötal Boveyn Serum FBS (Lonza, İsviçre) ve 10000 U/mL Penisilin ve 10000 U/mL Streptomycin (Lonza, Switzerland) içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) besi yerinde 75 cm2'lik flakslarda standart hücre kültürü şartlarında (5% CO2, 95% nem ve 37°C) Haftada iki kere pasajlanarak yetiştirildi.

Beyin epitel (U87), hücrelerinin kültürü %10 Fetal dana serum albumin (FBS) içeren ve DMEM (0,5 Penisilin/ 0,5 Streptosit)'le kültürü yapıldı ve süreklice hücrelerin flask tabanını kaplaması invert mikroskopla müşahede edildi. Flaskın tabanını örtmeyen hücreler 10X tripsin EDTA ile pasajlanır, hücreler flasktan alındı ve 15'lik falkona geçirildi. 5 dakika 1000 RPM'de santrifüj edildi, süpernatant atıldı, pellet 1 mL'e tamamlanır ve ardından hücre sayımı yapıldı. Hücre sayısına bağlı olarak her T25'lik flaskta 400.000 olacak şekilde 3 mL önceden flaska eklenmiş %10 FBS'li DMEM içine homojen bir şekilde paylaştırıldı. 24 saatte bir hücrelerin proliferasyonu gözlemlenecek ve hücreler %70 prolifere olduğunda pasaj zamanı gelmiş demektir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında ilaç salınımlı ve ilaç salınımsız sinir kondüitlerinin sitotoksik olmadığı görüldü.



Grafik 2- Hücre Kültürü sırasında kontrol, ilaç salınımlı ve ilaç salınım sinir kondütilerinin hücre canlılığın testinin verileri

3.5.2. ISO 10993-5 Hücre Viabilitesi (MTT)

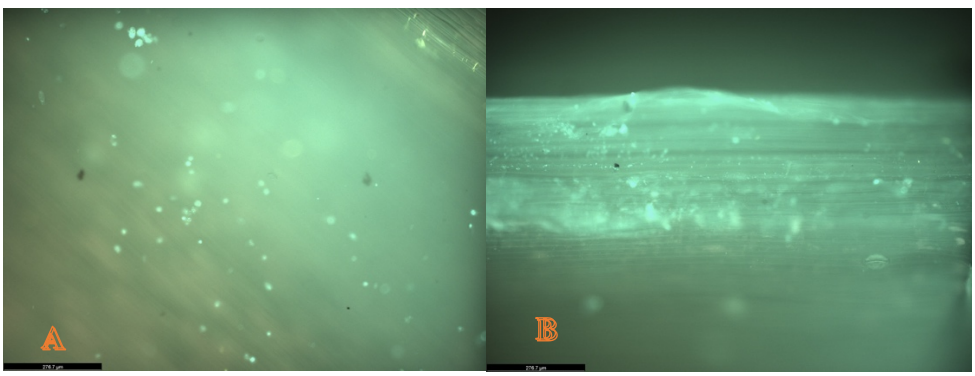
İmplantların ve ilaç yüklü implanların tüm in vitro biyouyumluluk testleri ISO 10993-5 standartlarına göre analiz edilecek olup, MTT yöntemi daha önce Demir vd. önerdiği method ile yapıldı [89]. MTT suda çözünür halde bulunan tetrazolium tuzudur, canlı hücrelerin mitokondrilerinde süksinat dehidrogenaz enzimi ile suda çözünmeyen mor renkli formazan'a dönüştürülürler. Hücre membranı formazan için geçirgen olmadığından canlı hücrelerin içerisinde birikirler. 8000 hücre (L929) 96 kuyucuklara ekildi ve normal inkübatör şartlarında 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası hücrelerin üstündeki besi yeri alınıp yerine değişik konsantrasyonda (%50, %75 ve %100) olan uygulama besi yeri eklendi. Deney süresi sonunda (24h) uygulama besi yeri alınacak ve yerine 110 µL/well MTT solüsyonu içeren (10%, 5.0 mg/mL PBS) besi yeri içinde eklendi ve 4 saat inkübe edilip daha sonra oluşan formazan kristallerinin çözünmesi için 100 µL SDS (1.0 g SDS 10 mL PBS 0.01 M HCl) eklendi ve 24 saat inkübatörde bekletilip UV-Vis absorbsiyon 570 nm ve 630 nm referansda okunur sonuçlar kontrol grubu ile kıyaslanarak hesaplandı.



Şekil 26- ISO 10993-5 Hücre Viabilitesi (MTT) ölçümleri için besi yeri hazırlanması

3.5.3. Hücre Fiksasyonu, Aktin İşaretleme ve DAPI Boyama (Floresan Boyama)

Beyin epitel hücreleri (U87), monolayer olarak üreyen hücre hatları olup yüzeye aktif olarak tutunarak çoğalmaktadırlar. Bu hücrelerin hazırlanmış olan implantlara tutunup tutunmadığının ve üreme yeteneklerinin devam edip etmediğinin gözlemlenmesi için hücrelerin çekirdeklerini boyayan DAPI boyası kullanıldı. 20×10^3 L929 hücreleri 6'lı kuyucuklara yerleştirilen iskelelerin üzerlerine ekilip implant besi yeri altında kalacak şekilde DMEM eklendi ve 24s, 48s ve 72s inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücrelerin üzerindeki besi yerleri alınarak her bir kuyucuk, 3 kez PBS ile yıkanıp hücre çekirdeklerinin boyanması için DAPI çözeltisi ile 15 dk. inkübatörde bekletildi. Son olarak, hücreler tekrar PBS ile 3 kez yıkanıp görüntüler Floresan mikroskop 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) filtre kullanımıyla görüntülenip sonuçlar image j programı kullanılarak kontrol grupları ile karşılaştırma yapılarak değerlendirildi.



Şekil 27- IGF-1 LR3 salınımı yapan sinir kondüitlerinin DAPI boyama altında hücrelerin görüntüsü (A), IGF-1 LR3 ilaç salınımı yapan sinir kondüitlerinin transvers kesitte DAPI boyama altındaki görüntüsü (B)

3.6. Deney Grupları

Toplamda 30 hayvan, her biri 5'er rastgele seçilmiş hayvandan oluşan 6 gruba ayrıldı.

Deney ve Kontrol Grupları	Grup Başına Hayvan Adedi	Tekrar Sayısı	Kullanılan Toplam Hayvan sayısı
Grup 1	5	1	5
Grup 2	5	1	5
Grup 3	5	1	5
Grup 4	5	1	5
Grup 5	5	1	5
Grup 6	5	1	5

Tablo 12: Deney gruplarının ve tekrar sayılarının tablosal gösterimi

Grup 1: Eksplore edilip sinir hasarı oluşturulmamış sıçan grubu (Kontrol grubu)

Grup 2: Siyatik sinir defekti oluşturulup onarım yapılmamış sıçan grubu (Sham grubu)

Grup 3 : Siyatik sinir defekti oluşturulup otolog sinir grefti ile onarım yapılacak grup

Grup 4: Siyatik sinir defekti oluşturulup standart sinir konduiti ile onarım yapılacak grup

Grup 5: Siyatik sinir defekti oluşturulup ilaç salınımı yapmayan deselülerize sinir konduiti ile onarılan grup

Grup 6: Siyatik sinir defekti oluşturulup IGF-1 LR3 kontrollü ilaç salınımı yapan deselülerize sinir konduiti ile onarılan grup

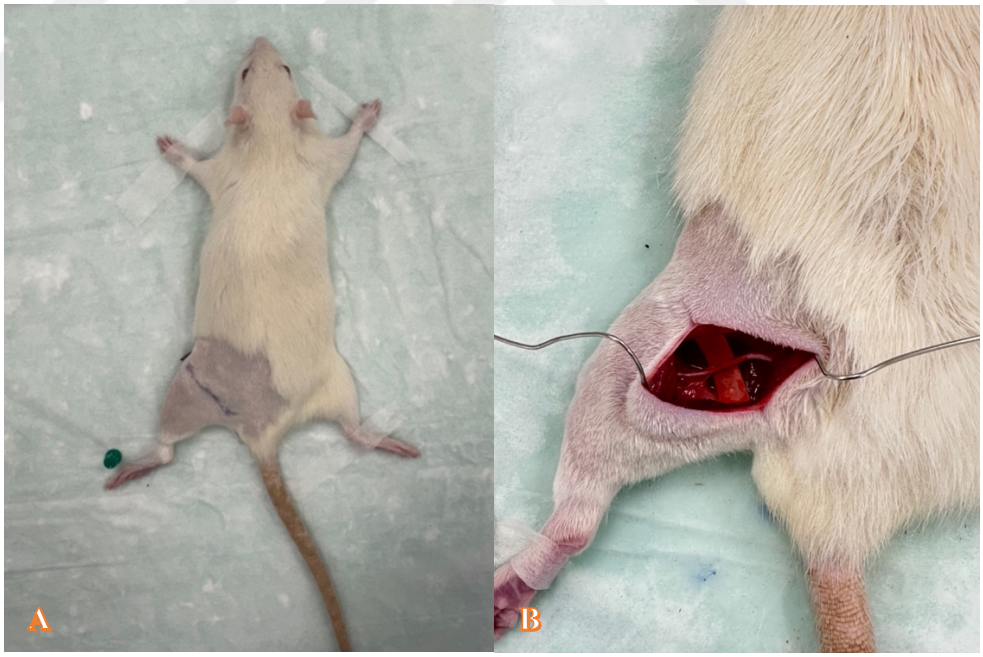
3.7. Cerrahi Yöntem

Tüm hayvanlara genel anestezi sağlamak amacıyla 40 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar %10) ve 10 mg/kg Ksilazin karıştırılarak intraperitoneal olarak enjekte edildi. Enjeksiyonu takiben sıçan, yüz üstü yatırılarak sırt orta hattan başlanılarak sol arka extremitenin tamamı traş edildi. (Şekil 28).



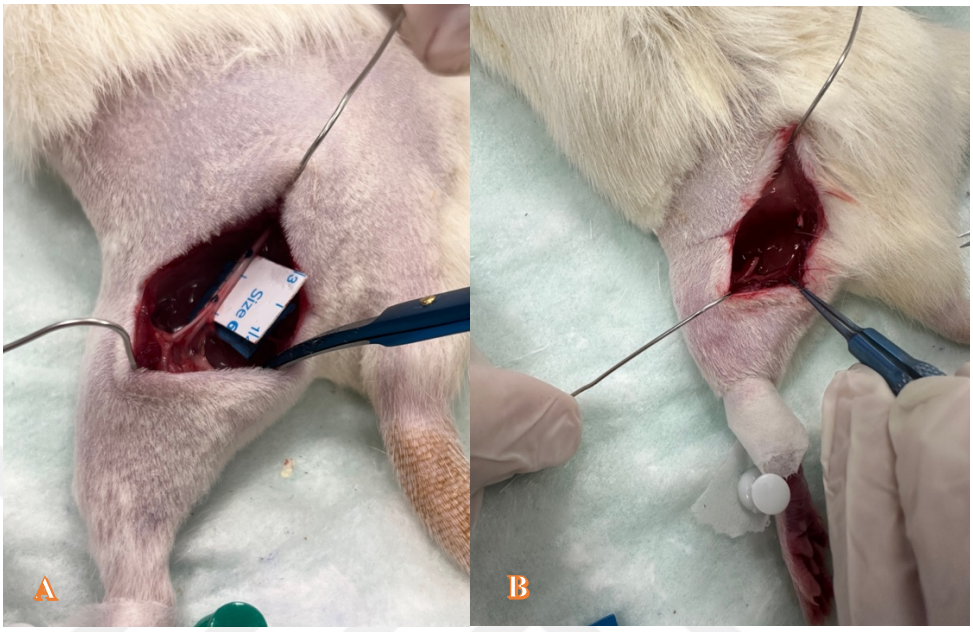
Şekil 28- Tıraş sonrası cerrahi hazırlık(A), İllüstrasyon ile cerrahi hazırlık (B)

Tıraş edilen bölge hipokloröz asit çözeltisi (Crystalin sprey) ile dezenfekte edildi. Tıraşı takiben kuyruk her sıçanın sol siyatik siniri seçilmiştir. Bu amaçla her sıçanın sol üst uyluk posteriorundan 3 cm uzunluğunda cilt insizyonu yapıldı. Gluteus maksimus kası split edilerek siyatik sinire ulaşıldı.



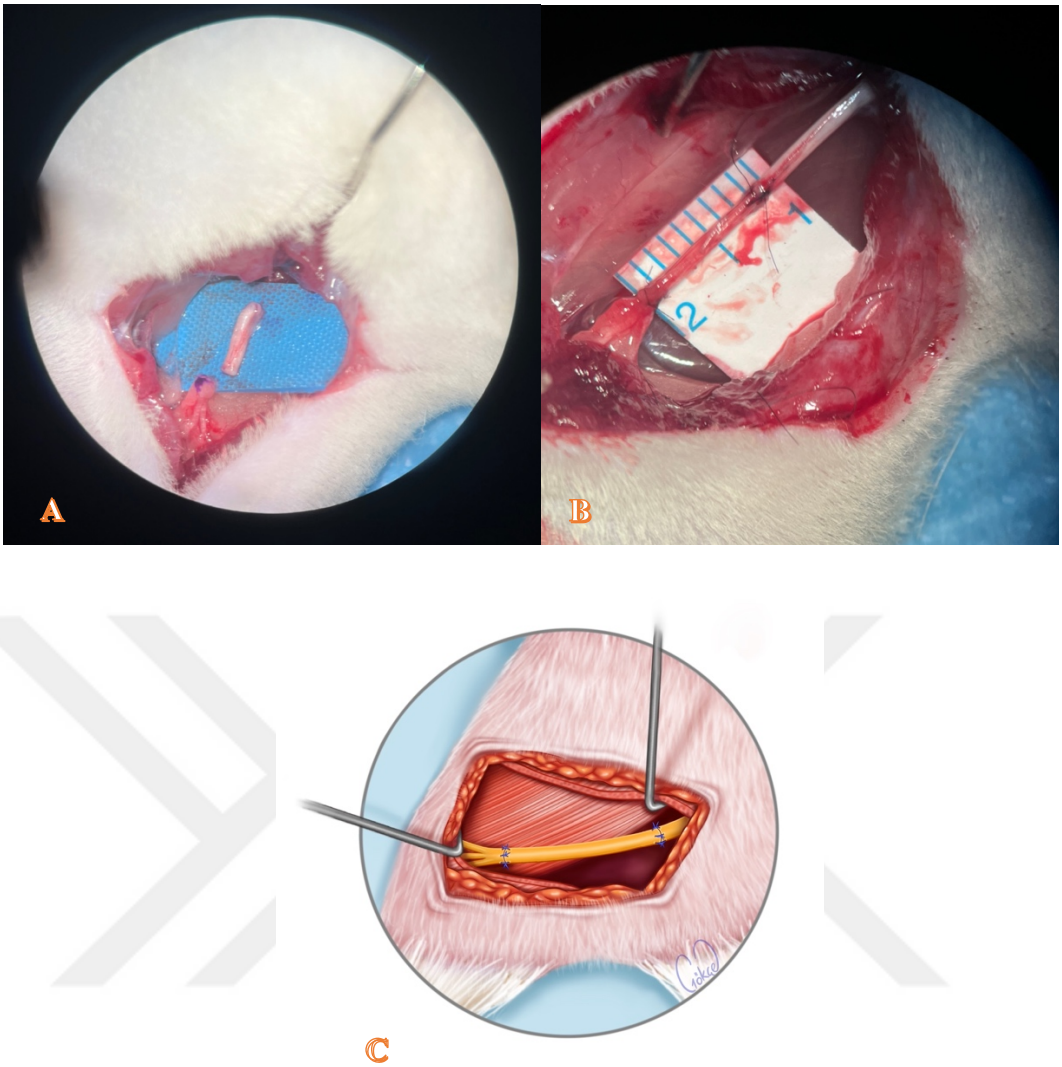
Şekil 29- Sol arka ekstremite insizyonun çizimi (A), Gluteus maksimus kası split edikdikten sonra siyatik sinirin görüntüsü (B)

1.grup sıçanlarda siyatik sinir eksplore edilecek ve sinir üzerinde herhangi bir defekt oluşturulmadan kas ve cildi 4.0 polyglactin sütür ile sütüre edilerek kapatılacaktır. Diğer tüm grup sıçanlarda siyatik sinir üzerinde kesi yapılarak 1 cm defekt oluşturulacaktır.



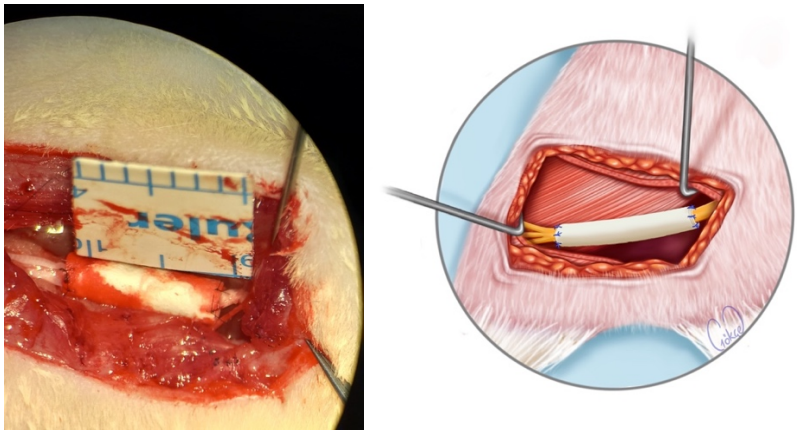
Şekil 30- Siyatik sinir üzerinde oluşturalacak 1 cm defektin ölçülmesi(A), Sinir üzerinde oluşan defektin görüntüsü (B)

Bu aşamadan sonra 2. grup sıçanlarda oluşan defekte yönelik herhangi bir onarım yapılmadan sham grubu olacak şekilde cilt 4-0 polyglactin ile sütüre edildi. 3. grup sıçanlarda çıkarılan sinir parçası ters çevirilerek otogreft olarak defekt alanına proksimal ve distal uçlarına 9-0 etilon sütür epinöral olarak entegre edildi, kas ve cildi 4.0 polyglactin sütür ile sütüre edildi.



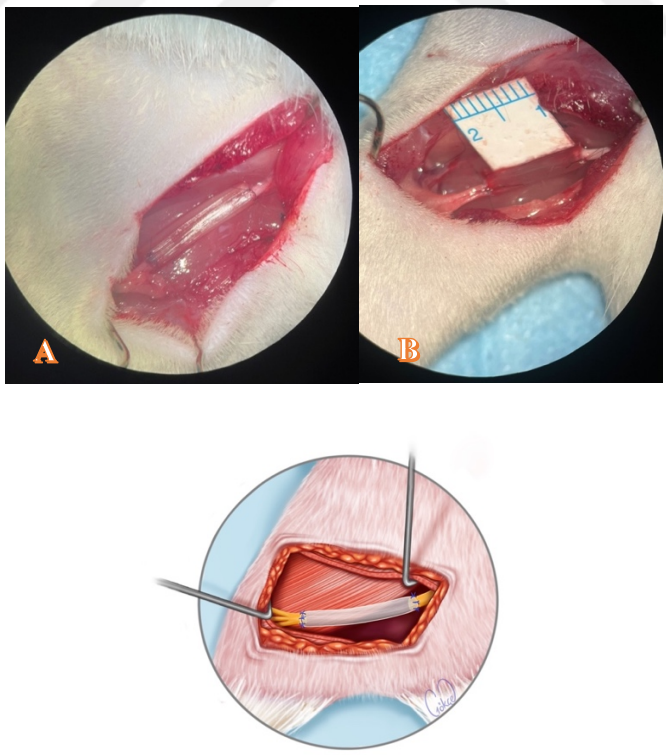
Şekil 31- Üçüncü grubun sinir greftinin adapte edilmeden önceki görüntüsü(A), Sinir greftinin defekte sütüre edildikten sonraki görüntüsü (B) Sinir greftinin şematik görüntüsü (C)

4. grup sıçanlarda oluşturulmuş sinir defektine ticari standart kullanılan bir sinir kondüiti ikişer mm'lik sinir uçları kondüit içerisine girecek şekilde proksimal ve distal uçlarına 9.0 etilon sütür ile sütüre edilerek entegre edildi.



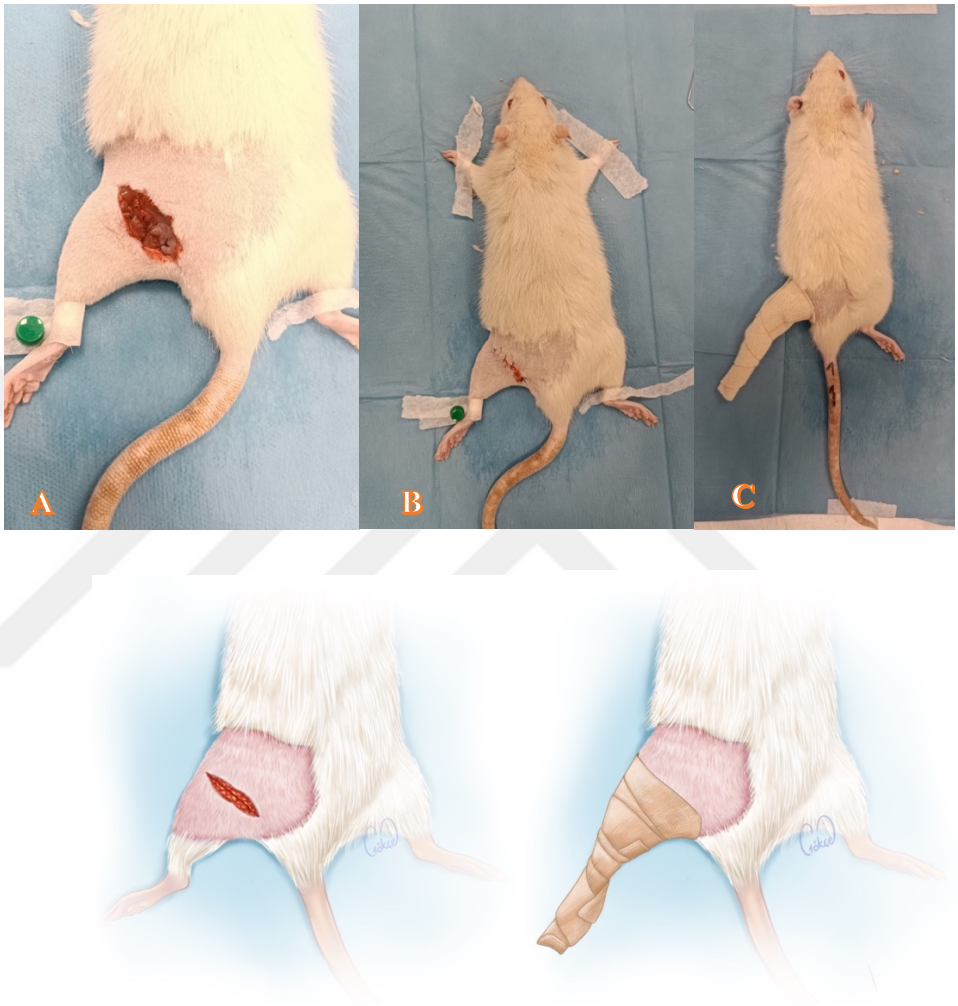
Şekil 32- Dördüncü grupta ticari sinir kondüitinin mikroskop altında sütüre edilmesi

5. Grup sıçanlara ürettiğimiz deselülerize alstroemeria çiçeği sapından ilaç salınımı yapmayan sinir konduiti proksimal ve distal uçlarında 2 mm sinir ucu kondüit içerisinde olacak şekilde 9.0 etilon sütür ile sütüre edilecektir ve cildi 4.0 polyglactin sütür ile kapatılacaktır. 6. grup sıçanlarda oluşturulmuş sinir defektine ürettiğimiz deselülerize alstroemeria çiçeği sapından 0.25 µm/saat olacak şekilde kontrollü IGF-1 LR3 ilaç salınımı yapan sinir kondüiti proksimal ve distal uçlarında 2 mm sinir ucu kondüit içerisinde olacak şekilde 9.0 etilon sütür ile sütüre edildi.



Şekil 33- Beşinci grup ilaç salınımsız sinir kondüitin görüntüsü (A), Altıncı grup IGF-1 LR3 ilaç salınımı yapan sinir kondüitinin mikroskop altında görüntüsü(B)

Kondüitler yerleştirildikten sonra tüm hayvanların gluteus maksimus üzerinde yapılan kas kesileri ve cilt sırasıyla 4-0 polyglactin sütür ile kapatıldıktan sonra 2 hafta boyunca sol alt ekstremiteye atelleme yapıldı. Uygulanan splint tüm hayvanlarda 14.günde çıkartıldı. 4-8 ve 12.haftalarda yürüme analizi yapıldı.

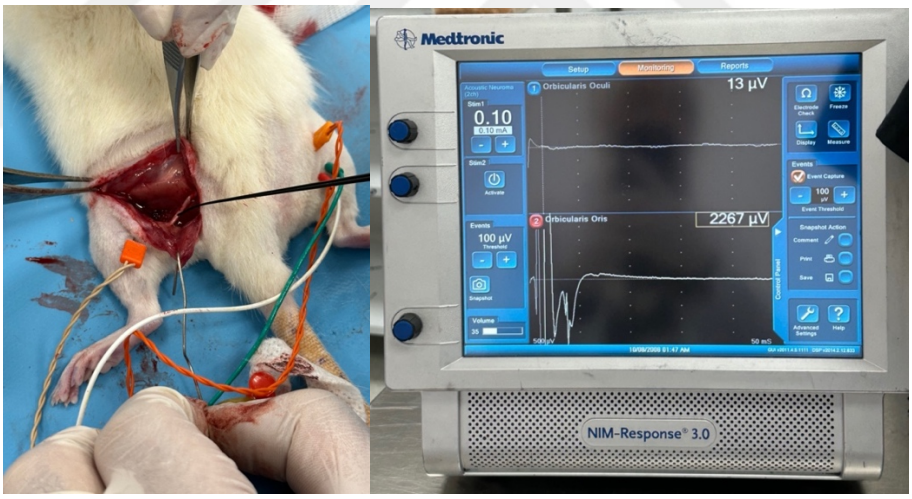


Şekil 34- Gluteus maksimus kasın sütüre edilmesi (A), Cildin kapatılmış hali(B) Sol arka ekstremitenin atellenmiş görüntüsü (C)



Şekil 35- Yürüme analizi için ayakların boyanması (A), Yürüme analizi sırasında sıçanın düzenekte görüntüsü (B) Yürüme analizi sırasında kağıt görüntüsü(C)

12. haftada, yürüme analizi sonrasında tüm hayvanların eski skar hattından girildi ve öncelikle sinir alanları ekspoze edildi. Sinirlerin proksimal ve distal uçlarından ileti amplitüdünü hesaplamak için sinir uyarı probu ile 0.1 miliamper (mA) standart akım verilerek gastrokunemius kasından alınan ileti amplitüdü değerleri ölçüldü.



Şekil 36- Elektrofizyolojik inceleme için elektrodların yerleştirilmesi (A), 0.1 miliamper(mA) verilmesi sonrasında alınan uyarının görüntüsü(B)

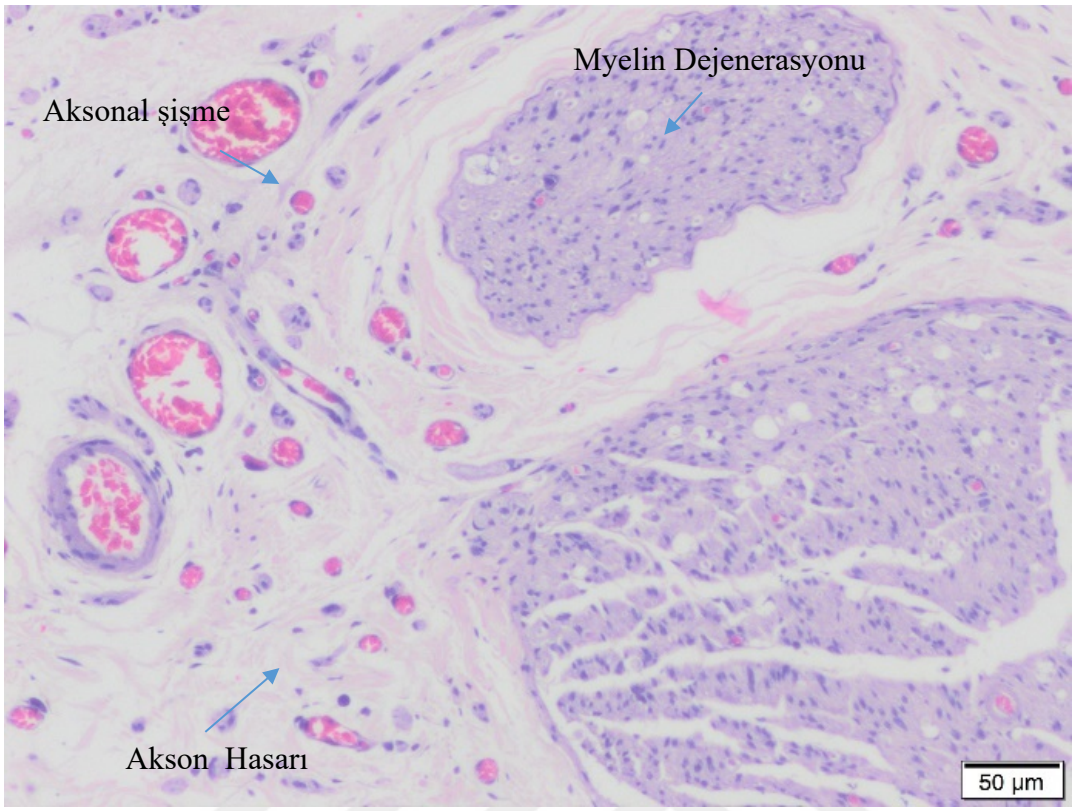
Tüm gruplardan proksimalden 5 mm ve distalden de 5 mm olacak şekilde sinir örnekleri alınarak %10 formollü patoloji kaplarına örnekler alındı. Aynı zamanda tüm haycanların sol ve sağ gastrokunemiusları çıkartılarak hassas terazi ile ağırlıkları ölçüldü ve kas ağırlık indeksleri hesaplandı. Alınan kas örneği de %10'luk formol solüsyonu içerisinde histopatolojik inceleme için alındı. Tüm hayvanlara intrakardiyak 5 cmm kan alımı ile ötenazi yapılarak deney süreci tamamlandı.



Şekil 38- Alınan sinir örneğinin görüntüsü (A), Alınan kas örneklerinin görüntüsü (B), Kasın hassas terazide ağırlık ölçümü görüntüsü(C)

HE

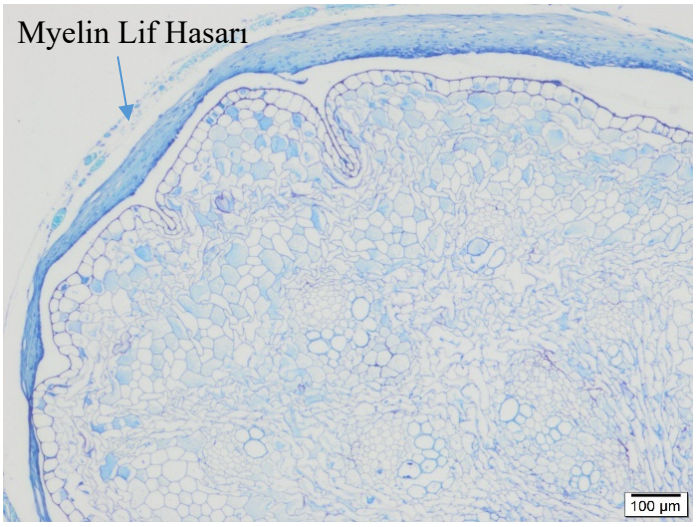
Işık mikroskobu için %4 Paraformaldehyde 24 saat fiksasyon yapıldı. Daha sonra, histolojik olarak işlendi ve parafine gömüldü. Bu bloklardan 4 mm'lik kesitler alındı. Alınan kesitler hematoksilen ve eozin (H&E) ile boyanarak mikroskopta incelendi. (Shi X ve ark 2013, Guven M ve ark 2016, Bostan H ve ark 2018, Bainmahfouz RFA ve ark 2021).H&E boyamasında miyelinli sinir lifleri boyutları benzer, miyelin yoğun, yuvarlak ve tek tip görüldü. Sıralı lameller yapı, aksonal büzülme veya şişme, endonöral kapiller izlendi. Miyelinli sinirin miyelin kılıfında lifler ince, gevşek, düzensizdi ve vakuolar benzeri bozukluklar saptandı. Siyatik sinirindeki bazı sinir lifleri demiyelinli görünüyordu. Liflerde ayrılma ve aksonal atrofi belirtileri izlendi. Endonöral kapiller duvar kalın ve düzensiz görüldü. Miyelin sinir liflerinde şişme, bozulma ve azalma bulundu. Aksonal dejenerasyon ve miyelin kaybı olan şişkin sinir lifi ve büzüşmüş ve koyu renkli aksonlar gözlendi



Şekil 39- Hasarlı sinirlerde akson hasarı, aksonal şişme ve myelin dejenerasyonunun görüntüsü

Toluidin Mavisi (TM)

Kesitler toluidin mavisi (TM) ile boyandı ve olympus tipi ışık mikroskobu incelendi, bir dijital kamera ile fotoğraflandı. Akson ve myelinli hasarının varlığı gözlendi (Çengelli Ünel Ç ve ark 2021, Hwang S ve ark 2023).



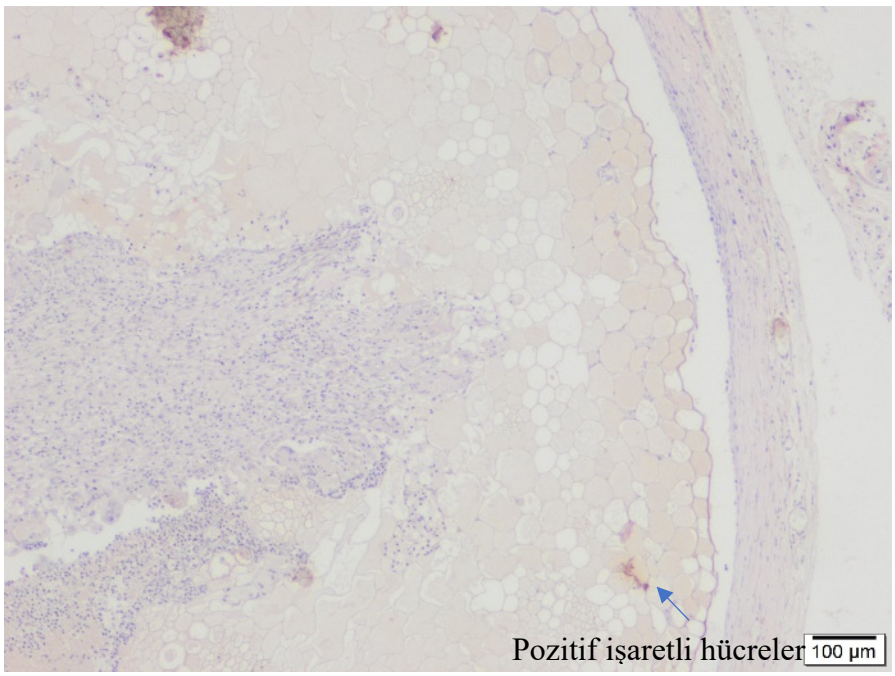
Şekil 40- TM boyama ile siyatik sinirin detayları

İndirekt İmmünuhistokimyasal Boyama (İHK)

İndirek immünohistokimya ile formalin fikse örneklerde deparafinizasyon ve antijen kurtarma sonrası kesitler TBST (Twin Tampon Çözeltisi Tampon, ph 7.4) içinde 15 dakika bekletildikten sonra TBST ile yıkandı. Nonspesifik bağlanmayı önlemek için 30 dakika ve %1 hidrojene peroksit (Lab Vision, Thermo Sci entific, Fremont, ABD) ile uygulandı. Bloklama aşamasını takiben kesitler primer antikor **NRF-2**, **S100, MBP** (Boster Bio PA2140-2) 1:100 oranında seyreltildi ve doku kesitlerine konuldu. Primer antikor ile gece boyunca +4 C'de inkübe edildi. Örnekler daha sonra biyotinlenmiş sekonder antikor (Lab Vision, Thermo Scientific) ile 20 dakika süreyle oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra 20 dakika streptavidin peroksidaz enzimi ile reaksiyona sokuldu (Lab Vision, Termo Scientific). Kesitler, TBST ile yıkandı. Son olarak, diaminobenzidin (DAB) içeren kromojen substrat ile inkübasyon yoluyla renk reaksiyonu geliştirildi. Oda sıcaklığında yaklaşık 5-10 dakika. Mayer hematoksilin ile zıt boyama yapıldı. İmmünreaktivite alınan görüntülerde h-skor ile değerlendirildi (Zhang G ark 2022).

Major Bazik Protein (MBP)

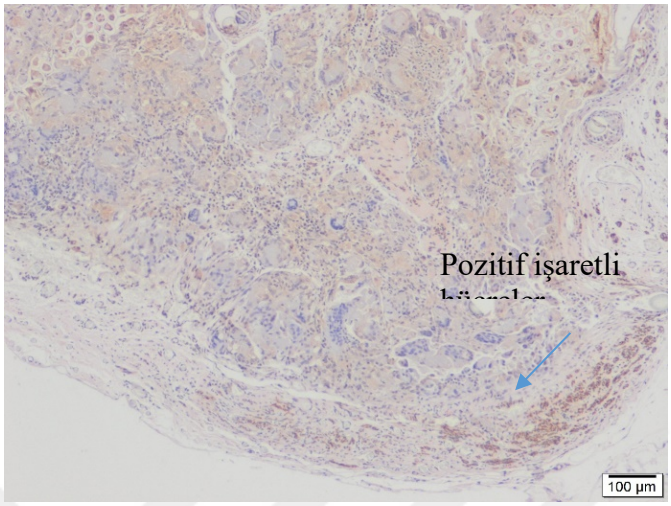
Miyelin bazik proteini (MBP), sinir sistemindeki sinirlerin miyelinleşme sürecinde önemli olduğuna inanılan bir proteindir. Miyelin kılıfı, sinir sistemine özgü, aksonel dürtü iletim hızını büyük ölçüde artırmak için bir yalıtkan görevi gören çok katmanlı bir zardır. MBP, miyelin zarındaki lipitlerle etkileşime girerek miyelinin doğru yapısını korur. Hasar sonrası uygulamalarda değişen düzeyde MBP işaretlemesi izlendi.



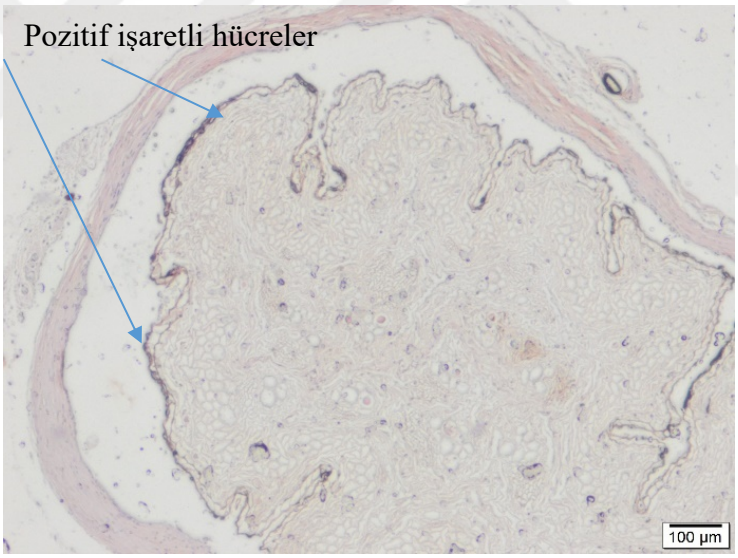
Şekil 41- MBP İHK boyama ile siyatik sinirin detayları

NRF-2 ve S100

NRF ekspresyonu ile işaretlenmiş olgun aksonların ve S100 belirteci ile Schwann hücrelerinin belirlenmesi sağlandı. Hasar sonrası uygulamalarda değişen düzeyde NRF işaretlemesi izlendi.



Şekil 42- NRF İHK boyama ile siyatik sinirin detayları



Şekil 43- S100 İHK boyama ile siyatik sinirin detayları

4. BULGULAR

4.2. Yürüme Analizi Sonuçları

Gruplar	4.hafta	8.hafta	12.hafta
Poz-1	-8,8	-8	-8
Poz-2	-9,787272	-8.135	-4,77
Poz-3	-9,0783144	-19,97	-7,268
Poz-4	-14,170391	-13,77	-11,11
Poz-5	-2,8059525	-6,3217	-3.294
Neg-1	-74,892614	-81,5	-88,38
Neg-2	-73,017529	-82,05	-86,59
Neg-3	-63,715597	-62,94	-64,99
Neg-4	-68,183334	-65,106	-69,83
Neg-5	-70,556185	-75,91	-85,19
S.gref-1	-62,062239	-65,3	-72,88
S.gref-2	-42,313612	-66,23	-77,64
S.gref-3	-39,05014	-57,94	-63,71
S.gref-4	-49,008572	-58,37	-49,37
S.gref-5	-58,090438	-66,91	-75,65
İlaçlı kon-1	-55,016667	-58,49	-57,27
İlaçlı kon-2	-59,05079	-61,41	-65,79
İlaçlı kon-3	-53,571666	-57,03	-63,25
İlaçlı kon-4	-36,551623	-58,36	-67,28
İlaçlı kon-5	-49,729218	-64,43	-79,63
İlaçsız kon-1	-41,482105	-59,21	-72,44
İlaçsız kon-2	-38,178623	-66,9	-65,53
İlaçsız kon-3	-56,281702	-58,73	-59,25
İlaçsız kon-4	-65,912271	-70,41	-79,51
İlaçsız kon-5	-53,124463	-71,18	-55,78
Neuragen-1	-83,207726	-77,87	-83,93
Neuragen-2	-79,714582	-76,36	-75,31
Neuragen-3	-75,683613	-75,57	-82,73
Neuragen-4	-68,821282	-78,34	-76,08
Neuragen-5	-72,201854	-65,77	-80,68

Tablo 13: Yürüme analizi tüm gruplardaki hesaplamalar sonucu değerleri

4.hafta Sonuçları

Descriptives - 4.hafta Değerleri

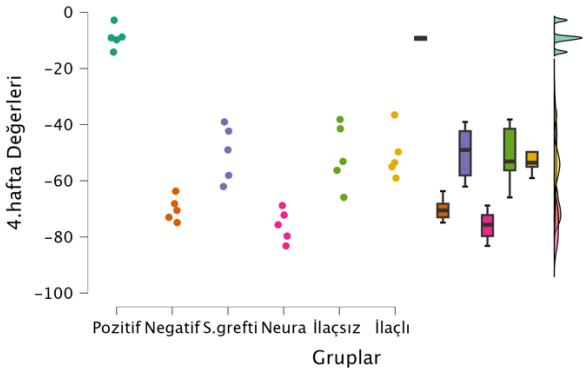
Gruplar	N	Mean	SD	SE	Coefficient of variation
Negatif	5	-70.073	4.362	1.951	-0.062
Neuragen	5	-75.926	5.740	2.567	-0.076
Pozitif	5	-8.928	4.054	1.813	-0.454
S.grefti	5	-50.105	9.885	4.421	-0.197
İlaçlı kondüit	5	-50.784	8.627	3.858	-0.170
İlaçsız kondüit	5	-50.996	11.289	5.049	-0.221

Tablo 14: Yürüme analizi 4.haftada grupların dağılım verileri

Post Hoc Comparisons - Gruplar

		Mean Difference	SE	t	p_{tukey}
Pozitif	Negatif	61.145	4.953	12.345	< .001
	S.grefti	41.177	4.953	8.313	< .001
	Neuragen	66.997	4.953	13.526	< .001
	İlaçsız kondüit	42.067	4.953	8.493	< .001
	İlaçlı kondüit	41.856	4.953	8.450	< .001
Negatif	S.grefti	-19.968	4.953	-4.031	0.006
	Neuragen	5.853	4.953	1.182	0.841
	İlaçsız kondüit	-19.077	4.953	-3.852	0.009
	İlaçlı kondüit	-19.289	4.953	-3.894	0.008
S.grefti	Neuragen	25.821	4.953	5.213	< .001
	İlaçsız kondüit	0.891	4.953	0.180	1.000
	İlaçlı kondüit	0.679	4.953	0.137	1.000
Neuragen	İlaçsız kondüit	-24.930	4.953	-5.033	< .001
	İlaçlı kondüit	-25.142	4.953	-5.076	< .001
İlaçsız kondüit	İlaçlı kondüit	-0.212	4.953	-0.043	1.000

Tablo 15: Yürüme analizi 4.haftada grupların Post-Hoc Tukey karşılaştırması



Grafik 3: Yürüme analizi 4.haftada grupların grafik dağılımı

4. hafta yürüme analizi ve sonuçları istatiski olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler Neuragen grubu ve bunu takiben negatif kontrol grubunda elde edildi. En iyi değerler ise ortalama olarak pozitif kontrol grubu ve bunu takiben ilaçlı kondüit grubu ve ilaçsız kondüit grubu olarak tespit edildi. Gruplar arasında sinir fonksiyonel iyileşme olarak bakıldığında pozitif kontrol grubu tüm gruplara göre anlamlı olarak ($p<0.001$) yüksek olduğu görüldü. Sinir grefti grubunun, hem negatif kontrol grubu hem de Neuragen grubuna göre anlamlı olarak ($p<0.001$) daha iyi yürüme analizi sonucu olduğu görüldü. Sinir grefti grubu ile hem ilaçlı hem de ilaçsız deselülarize bitki sapından ürettiğimiz kondüt grubunda ise anlamlı bir fark olmadığı görüldü. ($p=1.0$). Hem ilaçlı hem de ilaç salınımsız kondüit grubunun, Neuragen ve negatif kontrol grubuna göre anlamlı olarak ($p<0.001$) daha iyi yürüme analizi sonucu olduğu görüldü. Ancak ilaç salınımlı kondüit grubu ile ilaç salınımsız kondüit grubu arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi. ($p=1.0$).

8.hafta Sonuçları

Descriptives - 8.hafta Değerleri

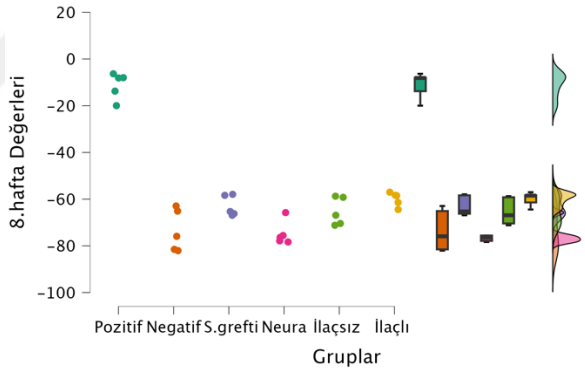
Gruplar	N	Mean	SD	SE	Coefficient of variation
Negatif	5	-73.501	9.012	4.030	-0.123
Neuragen	5	-74.782	5.160	2.308	-0.069
Pozitif	5	-11.239	5.633	2.519	-0.501
S.grefti	5	-62.950	4.417	1.975	-0.070
İlaçlı kondüit	5	-59.944	2.974	1.330	-0.050
İlaçsız kondüit	5	-65.286	5.990	2.679	-0.092

Tablo 16: Yürüme analizi 8.haftada grupların dağılım verileri

Post Hoc Comparisons - Gruplar

		Mean Difference	SE	t	p_{tukey}
Pozitif	Negatif	62.262	3.686	16.891	< .001
	S.grefti	51.711	3.686	14.028	< .001
	Neuragen	63.543	3.686	17.238	< .001
	İlaçsız kondüit	54.047	3.686	14.662	< .001
	İlaçlı kondüit	48.705	3.686	13.213	< .001
Negatif	S.grefti	-10.551	3.686	-2.862	0.081
	Neuragen	1.281	3.686	0.347	0.999
	İlaçsız kondüit	-8.215	3.686	-2.229	0.262
	İlaçlı kondüit	-13.557	3.686	-3.678	0.013
S.grefti	Neuragen	11.832	3.686	3.210	0.039
	İlaçsız kondüit	2.336	3.686	0.634	0.987
	İlaçlı kondüit	-3.006	3.686	-0.815	0.962
Neuragen	İlaçsız kondüit	-9.496	3.686	-2.576	0.142
	İlaçlı kondüit	-14.838	3.686	-4.025	0.006
İlaçsız kondüit	İlaçlı kondüit	-5.342	3.686	-1.449	0.698

Tablo 17: Yürüme analizi 8.haftada grupların Post-Hoc Tukey karşılaştırması



Grafik 4: Yürüme analizi 8.haftada grupların grafik dağılımı

8. hafta yürüme analizi ve sonuçları istatiski olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler yine Neuragen grubu ve bunu takiben negatif kontrol grubunda elde edildi. Ancak Neuragen grubunun ortalama değeri -75'ten -74'e iyileşme gösterirken, negatif kontrol grubunda yürüme analizinde iyileşme yerine gerileme olduğu görüldü. En iyi değerler ise ortalama olarak pozitif kontrol grubu ve bunu takiben sırasıyla ilaçlı kondüit grubu, sinir grefti grubu ve ilaçsız kondüit grubu olarak tespit edildi. Gruplar arasında sinir fonksiyonel iyileşme olarak bakıldığında pozitif kontrol grubu tüm gruplara göre anlamlı olarak ($p<0.001$) yüksek olduğu görüldü. Sinir grefti grubunun, hem negatif kontrol grubu hem de Neuragen grubuna göre anlamlı olarak ($p<0.001$) daha iyi yürüme analizi sonucu olduğu görüldü. Sinir grefti grubu ile hem ilaçlı hem de ilaçsız deselülarize bitki sapından ürettiğimiz kondüt grubunda ise anlamlı bir fark

olmadığı görüldü. (p>0.05). İlaç salınımlı kondüit grubunun, Neuragen ve negatif kontrol grubuna göre anlamlı olarak (p<0.001) daha iyi yürüme analizi sonucu olduğu görüldü. Ancak, ilaç salınımsız kondüit grubu ile Neuragen grubu arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi (p=0.142).

12.hafta Sonuçları

Descriptives - 12.hafta Değerleri

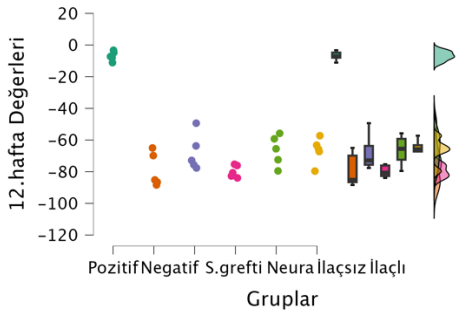
Gruplar	N	Mean	SD	SE	Coefficient of variation
Negatif	5	-78.996	10.774	4.818	-0.136
Neuragen	5	-79.746	3.886	1.738	-0.049
Pozitif	5	-6.888	3.025	1.353	-0.439
S.grefti	5	-67.850	11.626	5.199	-0.171
İlaçlı kondüit	5	-66.644	8.203	3.669	-0.123
İlaçsız kondüit	5	-66.502	9.656	4.318	-0.145

Tablo 18: Yürüme analizi 12.haftada grupların dağılım verileri

Post Hoc Comparisons - Gruplar

		Mean Difference	SE	t	p_{tukey}
Pozitif	Negatif	72.108	5.391	13.374	< .001
	S.grefti	60.962	5.391	11.307	< .001
	Neuragen	72.858	5.391	13.514	< .001
	İlaçsız kondüit	59.614	5.391	11.057	< .001
	İlaçlı kondüit	59.756	5.391	11.083	< .001
Negatif	S.grefti	-11.146	5.391	-2.067	0.337
	Neuragen	0.750	5.391	0.139	1.000
	İlaçsız kondüit	-12.494	5.391	-2.317	0.226
	İlaçlı kondüit	-12.352	5.391	-2.291	0.236
S.grefti	Neuragen	11.896	5.391	2.206	0.271
	İlaçsız kondüit	-1.348	5.391	-0.250	1.000
	İlaçlı kondüit	-1.206	5.391	-0.224	1.000
Neuragen	İlaçsız kondüit	-13.244	5.391	-2.456	0.177
	İlaçlı kondüit	-13.102	5.391	-2.430	0.186
İlaçsız kondüit	İlaçlı kondüit	0.142	5.391	0.026	1.000

Tablo 19: Yürüme analizi 12.haftada grupların Post-Hoc Tukey karşılaştırması



Grafik 5: Yürüme analizi 12.haftada grupların grafik dağılımı

12. hafta yürüme analizi ve sonuçları istatiski olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler yine Neuragen grubu ve bunu takiben negatif kontrol grubunda elde edildi. En iyi değerler ise ortalama olarak pozitif kontrol grubu ve bunu takiben sırasıyla ilaçlı kondüit grubu, ilaçsız kondüit grubu ve sinir grefti grubu olarak tespit edildi. İlaçsız kondüit grubunun 8.haftaya göre ortalama değerlerde sinir grefti grubuna göre daha yüksek değerlerde olduğu görüldü. Gruplar arasında sinir fonksiyonel iyileşme olarak bakıldığında pozitif kontrol grubu tüm gruplara göre anlamlı olarak ($p<0.001$) yüksek olduğu görüldü. Ancak, geriye kalan tüm grupların karşılaştırmasına bakıldığında yürüme analizi sonuçlarında hiçbir grup arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. ($p>0.05$)

4.3. Kas Ağırlık Analizi Sonuçları

Gruplar	KAS ağırlık oranları
Poz-1	1
Poz-2	0,9285
Poz-3	1
Poz-4	1
Poz-5	1
Neg-1	0,1111
Neg-2	0,16
Neg-3	0,09
Neg-4	0,18
Neg-5	0,45
S.gref-1	0,57
S.gref-2	0,66
S.gref-3	0,57
S.gref-4	0,57
S.gref-5	0,53
İlaçlı kon-1	0,33
İlaçlı kon-2	0,63
İlaçlı kon-3	0,85
İlaçlı kon-4	0,61

İlaçlı kon-5	0,61
İlaçsız kon-1	0,42
İlaçsız kon-2	0,78
İlaçsız kon-3	0,78
İlaçsız kon-4	0,66
İlaçsız kon-5	0,64
Neuragen-1	0,8
Neuragen-2	0,54
Neuragen-3	0,3
Neuragen-4	0,53
Neuragen-5	0,5

Tablo 20: Kas ağırlık oranlarının tüm gruplardaki hesaplamalar sonucu değerleri

Descriptives - Kas ağırlık oranları

Gruplar	N	Mean	SD	SE	Coefficient of variation
Negatif	5	0.198	0.145	0.065	0.733
Neuragen	5	0.534	0.178	0.080	0.333
Pozitif	5	0.986	0.032	0.014	0.032
S.gref	5	0.580	0.048	0.021	0.083
İlaçlı	5	0.606	0.185	0.083	0.305
İlaçsız	5	0.656	0.147	0.066	0.224

Tablo 21: Kas ağırlık oranlarının gruplardaki dağılım verileri

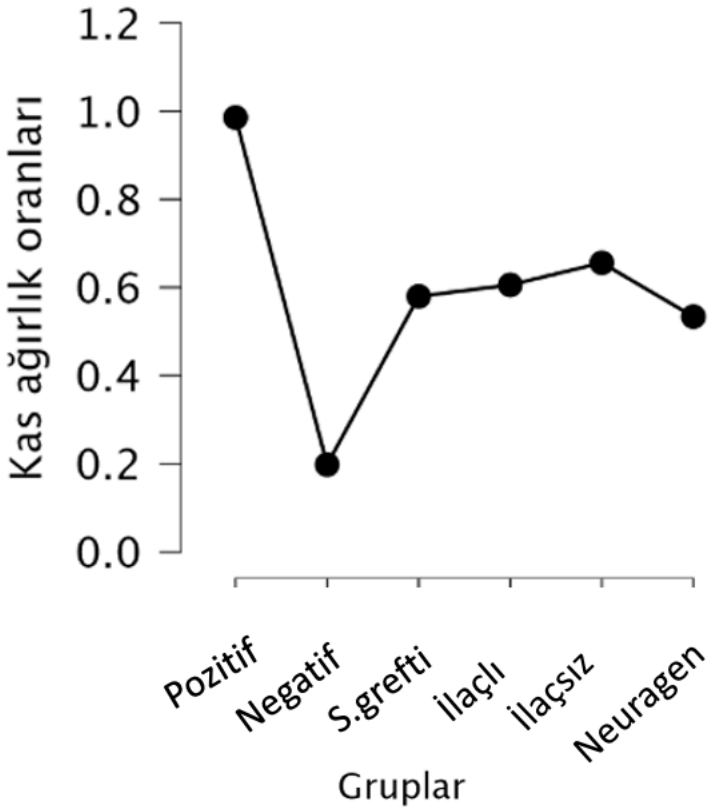
Post Hoc Comparisons - Gruplar

		Mean Difference	SE	t	p_{tukey}
Pozitif	Negatif	0.787	0.086	9.118	< .001
	S.gref	0.406	0.086	4.697	0.001
	İlaçlı	0.380	0.086	4.396	0.002
	İlaçsız	0.330	0.086	3.818	0.010
	Neuragen	0.452	0.086	5.230	< .001
Negatif	S.gref	-0.382	0.086	-4.421	0.002
	İlaçlı	-0.408	0.086	-4.722	0.001
	İlaçsız	-0.458	0.086	-5.301	< .001
	Neuragen	-0.336	0.086	-3.888	0.008
S.gref	İlaçlı	-0.026	0.086	-0.301	1.000
	İlaçsız	-0.076	0.086	-0.880	0.948
	Neuragen	0.046	0.086	0.533	0.994
İlaçlı	İlaçsız	-0.050	0.086	-0.579	0.992
	Neuragen	0.072	0.086	0.834	0.958

Post Hoc Comparisons - Gruplar

		Mean Difference	SE	t	p_{tukey}
İlaçsız	Neuragen	0.122	0.086	1.413	0.719

Tablo 22: Kas ağırlık oranlarının Post-Hoc Tukey karşılaştırması



Grafik 6: Kas ağırlık oranlarının grafik dağılımı

12. hafta sonunda sağlam taraf ile sinir defekti oluşturulmuş taraftaki gastrokunemius kas ağırlık oranları ve sonuçları istatiski olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler negatif kontrol grubunda tespit edilirken, en yüksek değerler pozitif kontrol grubunda ve bunu takiben sırasıyla ilaçsız kondüit grubu, ilaçlı kondüit grubu, sinir grefti grubu ve Neuragen grubu olarak tespit edilmiştir. Pozitif kontrol grubu, tüm gruplara göre anlamlı olarak kas ağırlık oranı olarak yüksek olduğu görülürken, negatif kontrol grubunun ise tüm gruplara göre anlamlı olarak düşük olduğu tespit edildi. ($p<0.05$). Bunun dışında ortalama değerler olarak ilaçsız ve ilaçlı kondüit grubu diğer gruplara göre yüksek bulunsa da bu yükseklik anlamlı olarak tespit edilemedi. ($p>0.05$)

4.4. Elektrofizyolojik Analiz Sonuçları

Gruplar	İletim Amplutüd
Poz-1	2500
Poz-2	2800
Poz-3	180
Poz-4	282
Poz-5	186
Neg-1	0
Neg-2	99
Neg-3	0
Neg-4	0
Neg-5	0
S.gref-1	285
S.gref-2	105
S.gref-3	44
S.gref-4	44
S.gref-5	103
İlaçlı kon-1	614
İlaçlı kon-2	253
İlaçlı kon-3	280
İlaçlı kon-4	222
İlaçlı kon-5	285
İlaçsız kon-1	115
İlaçsız kon-2	169
İlaçsız kon-3	238
İlaçsız kon-4	80
İlaçsız kon-5	174
Neuragen-1	15
Neuragen-2	35
Neuragen-3	196
Neuragen-4	31
Neuragen-5	100

Tablo 23: Elektrofizyolojik iletim amplitüdlerinin tüm gruplardaki hesaplamalar sonucu değerleri

Descriptives - İleti Amplitüdleri

Gruplar	N	Mean	SD	SE	Coefficient of variation
Negatif	5	19.800	44.274	19.800	2.236
Neuragen	5	75.400	74.835	33.467	0.993
Pozitif	5	1189.600	1337.982	598.364	1.125
S.gref	5	116.200	99.019	44.283	0.852
İlaçlı	5	330.800	160.289	71.684	0.485
İlaçsız	5	155.200	60.562	27.084	0.390

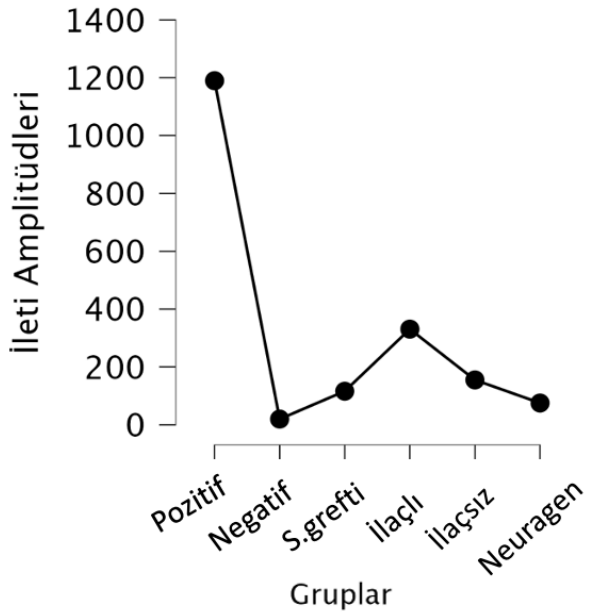
Tablo 24: Elektrofizyolojik iletim amplitüdlerinin gruplardaki dağılım verileri

Post Hoc Comparisons - Gruplar

		Mean Difference	SE	t	p_{tukey}
Pozitif	Negatif	1169.800	349.945	3.343	0.029
	S.gref	1073.400	349.945	3.067	0.053
	İlaçlı	858.800	349.945	2.454	0.178
	İlaçsız	1034.400	349.945	2.956	0.067
	Neuragen	1114.200	349.945	3.184	0.041
Negatif	S.gref	-96.400	349.945	-0.275	1.000
	İlaçlı	-311.000	349.945	-0.889	0.946
	İlaçsız	-135.400	349.945	-0.387	0.999
	Neuragen	-55.600	349.945	-0.159	1.000
S.gref	İlaçlı	-214.600	349.945	-0.613	0.989
	İlaçsız	-39.000	349.945	-0.111	1.000
	Neuragen	40.800	349.945	0.117	1.000
İlaçlı	İlaçsız	175.600	349.945	0.502	0.996
	Neuragen	255.400	349.945	0.730	0.976
İlaçsız	Neuragen	79.800	349.945	0.228	1.000

Tablo 25: Elektrofizyolojik iletim amplitüdlerinin Post-Hoc Tukey karşılaştırması

Descriptives plots

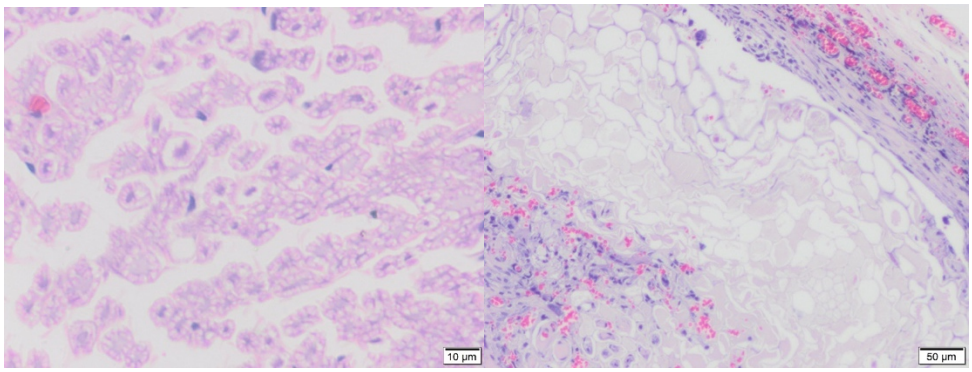


Grafik 7: Elektrofizyolojik iletim amplitüdlerinin grafik dağılımı

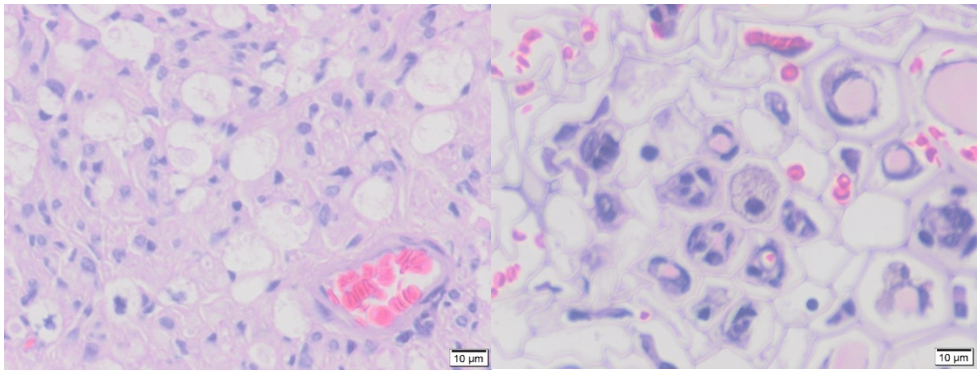
12. hafta sonunda elektrofizyolojik iletim amplitüdlerinin ve sonuçları istatiski olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler negatif kontrol grubunda tespit edilirken, en yüksek değerler pozitif kontrol grubunda ve bunu takiben sırasıyla ilaçlı kondüit grubu, ilaçsız kondüit grubu, sinir grefti grubu ve Neuragen grubu olarak tespit edilmiştir. Pozitif kontrol grubu, ilaçlı kondüit, ilaçsız kondüit ve sinir grefti grupları ile arasında anlamlı bir fark izlenmezken diğer gruplara göre anlamlı olarak elektrofizyolojik iletim amplitüdlerinin yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$). Bunun dışında ortalama değerler olarak ilaçlı ve ilaçsız kondüit grubu diğer gruplara göre yüksek bulunsa da bu yükseklik anlamlı olarak tespit edilemedi. ($p>0.05$) ve gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmedi.

4.5. Histokimyasal Sonuçlar

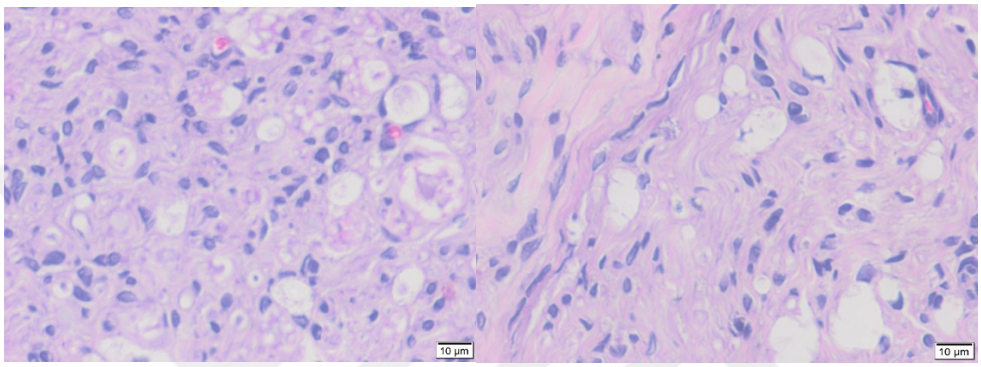
4.5.1. Akson Sayısı - Hematoksilen Eozin Boyamalar



Pozitif Grup **Negatif Grup**



Sinir Grefti Grubu **İlaçlı Konduit Grubu**



İlaçsız Konduit Grubu **Neuragen Grubu**

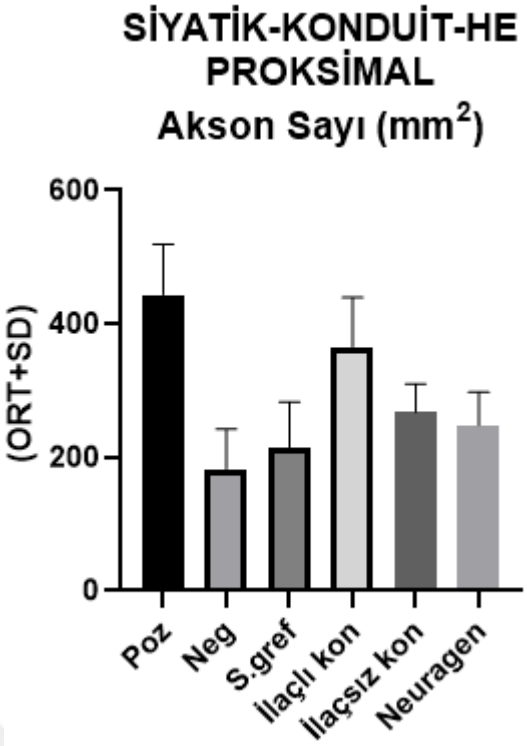
a) **Proksimal Akson Sayısı**

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
1	326,38	130,55	130,55	261,10	261,10	195,83
2	456,93	163,19	163,19	326,38	326,38	293,74
3	424,29	228,46	228,46	391,65	228,46	195,83
4	522,20	130,55	293,74	391,65	228,46	261,10
5	489,56	261,10	261,10	456,93	293,74	293,74

Tablo 26: Proksimal kesitte akson sayılarının miktarları

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
Number of values	5	5	5	5	5	5
Minimum	326,4	130,6	130,6	261,1	228,5	195,8
Maximum	522,2	261,1	293,7	456,9	326,4	293,7
Range	195,8	130,6	163,2	195,8	97,91	97,91
Mean	443,9	182,8	215,4	365,5	267,6	248,0
Std. Deviation	75,14	59,29	67,68	74,42	42,55	49,50
Std. Error of Mean	33,60	26,51	30,27	33,28	19,03	22,14

Tablo 27: Proksimal kesitte akson sayılarının gruplar arasında dağılımı



Grafik 8: Proksimal kesitte akson sayılarının grafiksel dağılımı

Post Hoc Comparisons - Gruplar

Tukey's MCT	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Poz vs. Neg	261,1	138,6 to 383,6	Yes	****	<0,0001
Poz vs. S.gref	228,5	106,0 to 351,0	Yes	****	<0,0001
Poz vs. İlaçlı kon	78,33	-44,16 to 200,8	No	ns	0,3834
Poz vs. İlaçsız kon	176,2	53,75 to 298,7	Yes	**	0,0021
Poz vs. Neuragen	195,8	73,34 to 318,3	Yes	***	0,0006
Neg vs. S.gref	-32,64	-155,1 to 89,85	No	ns	0,9601
Neg vs. İlaçlı kon	-182,8	-305,3 to -60,28	Yes	**	0,0014
Neg vs. İlaçsız kon	-84,86	-207,3 to 37,63	No	ns	0,3005
Neg vs. Neuragen	-65,28	-187,8 to 57,21	No	ns	0,5770
S.gref vs. İlaçlı kon	-150,1	-272,6 to -27,64	Yes	*	0,0102
S.gref vs. İlaçsız kon	-52,22	-174,7 to 70,27	No	ns	0,7724
S.gref vs. Neuragen	-32,64	-155,1 to 89,85	No	ns	0,9601
İlaçlı kon vs. İlaçsız kon	97,91	-24,58 to 220,4	No	ns	0,1724
İlaçlı kon vs. Neuragen	117,5	-4,994 to 240,0	No	ns	0,0654
İlaçsız kon vs. Neuragen	19,58	-102,9 to 142,1	No	ns	0,9959

Tablo 28: Proksimal kesitte akson sayılarının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması

Proksimal kesitte akson sayıları istatistiki olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler negatif kontrol grubu ve Neuragen grubunda elde edilirken; en yüksek değerler sırasıyla pozitif kontrol grubu, ilaçlı konduit ve ilaçsız konduit gruplarında elde edildi. Pozitif kontrol grubunda proksimal aksonal bölgedeki akson sayısı negatif kontrol grubu, sinir grefti, Neuragen ve ilaçsız konduit grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0.05$). Ancak pozitif kontrol grubu ile ilaç salınımlı konduit grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p=0.3834$). Ayrıca ilaç salınımlı konduit grubunda akson sayıları sinir grefti grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p=0.0102$) Ancak sinir grefti grubu ile ilaç salınımsız konduit grubu ve Neuragen ticari konduiti grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p>0.05$)

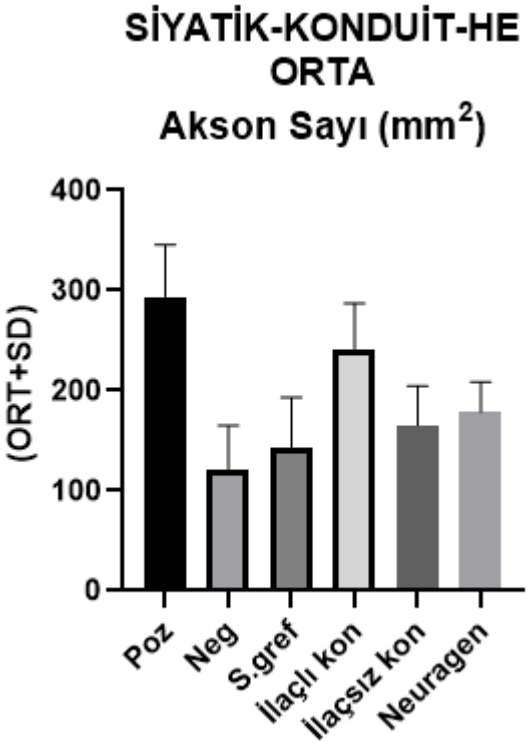
b) <u>Orta Bölge Akson Sayısı</u>

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
1	257,5833	87,03333	67,03333	184,0667	160,55	144,0667
2	304,6167	118,7917	128,7917	217,5833	195,825	217,5833
3	232,8583	142,3083	152,3083	261,1	100,55	182,3083
4	368,1333	77,03333	195,825	241,1	174,0667	152,3083
5	306,375	184,0667	174,0667	304,6167	195,825	195,825

Tablo 29: Orta kesitte akson sayılarının miktarları

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
Number of values	5	5	5	5	5	5
Minimum	232,9	77,03	67,03	184,1	100,6	144,1
Maximum	368,1	184,1	195,8	304,6	195,8	217,6
Range	135,3	107,0	128,8	120,6	95,28	73,52
Mean	293,9	121,8	143,6	241,7	165,4	178,4
Std. Deviation	52,02	43,36	49,53	45,38	39,23	30,47
Std. Error of Mean	23,27	19,39	22,15	20,30	17,54	13,63

Tablo 30: Orta kesitte akson sayılarının gruplar arasında dağılımı



Grafik 9: Orta kesitte akson sayılarının grafiksel dağılımı

Tukey's MCT	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Poz vs. Neg	172,1	86,21 to 257,9	Yes	****	<0,0001
Poz vs. S.gref	150,3	64,45 to 236,2	Yes	***	0,0002
Poz vs. İlaçlı kon	52,22	-33,64 to 138,1	No	ns	0,4372
Poz vs. İlaçsız kon	128,5	42,69 to 214,4	Yes	**	0,0013
Poz vs. Neuragen	115,5	29,64 to 201,4	Yes	**	0,0042
Neg vs. S.gref	-21,76	-107,6 to 64,10	No	ns	0,9677
Neg vs. İlaçlı kon	-119,8	-205,7 to -33,99	Yes	**	0,0029
Neg vs. İlaçsız kon	-43,52	-129,4 to 42,34	No	ns	0,6266
Neg vs. Neuragen	-56,57	-142,4 to 29,29	No	ns	0,3519
S.gref vs. İlaçlı kon	-98,09	-183,9 to -12,23	Yes	*	0,0187
S.gref vs. İlaçsız kon	-21,76	-107,6 to 64,10	No	ns	0,9677
S.gref vs. Neuragen	-34,81	-120,7 to 51,05	No	ns	0,8062
İlaçlı kon vs. İlaçsız kon	76,33	-9,529 to 162,2	No	ns	0,1018
İlaçlı kon vs. Neuragen	63,28	-22,58 to 149,1	No	ns	0,2411
İlaçsız kon vs. Neuragen	-13,05	-98,91 to 72,80	No	ns	0,9968

Tablo 31: Orta kesitte akson sayılarının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması

Orta kesitte akson sayıları istatistiki olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler negatif kontrol grubu ve sinir grefti grubu ve ilaçsız konduit elde edilirken; en yüksek değerler sırasıyla pozitif kontrol grubu, ilaçlı konduit ve Neuragen gruplarında elde edildi. Pozitif kontrol grubunda orta aksonal bölgedeki akson sayısı negatif kontrol grubu,

sinir grefti, Neuragen ve ilaçsız konduit grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0.05$). Ancak pozitif kontrol grubu ile ilaç salınımlı konduit grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p=0.4372$). Ayrıca ilaçlı konduit grubunda akson sayıları sinir grefti grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p=0.0187$) Ancak sinir grefti grubu ile ilaç salınımsız konduit grubu ile Neuragen ticari konduiti grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p>0.05$)

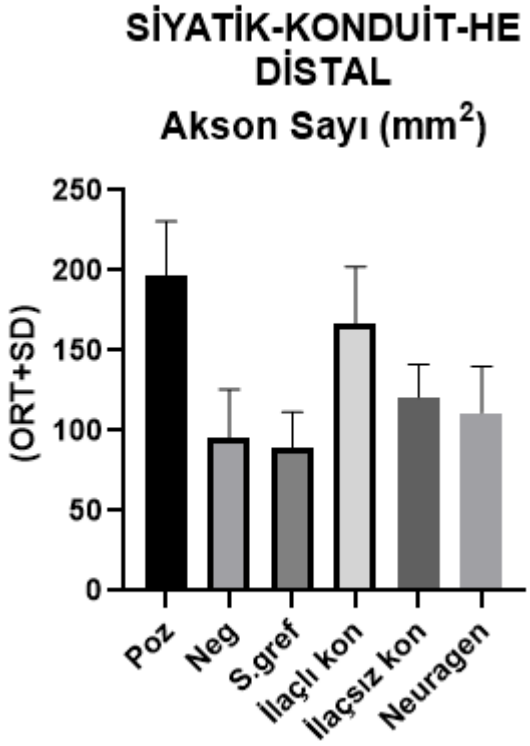
c) Distal Bölge Akson Sayısı

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
1	203,0778	72,52778	92,52778	145,0556	105,0556	130,55
2	217,5833	116,0444	116,0444	203,0778	130,55	145,55
3	188,5722	101,5389	101,5389	174,0667	151,5389	87,03333
4	232,0889	130,55	58,02222	194,0667	101,5389	116,0444
5	145,0556	58,02222	78,02222	116,0444	116,0444	77,03333

Tablo 32: Distal kesitte akson sayılarının miktarları

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
Number of values	5	5	5	5	5	5
Minimum	145,1	58,02	58,02	116,0	101,5	77,03
Maximum	232,1	130,6	116,0	203,1	151,5	145,6
Range	87,03	72,53	58,02	87,03	50,00	68,52
Mean	197,3	95,74	89,23	166,5	120,9	111,2
Std. Deviation	33,39	30,08	22,25	35,92	20,50	28,85
Std. Error of Mean	14,93	13,45	9,952	16,06	9,169	12,90

Tablo 33: Distal kesitte akson sayılarının gruplar arasında dağılımı



Grafik 10: Distal kesitte akson sayılarının grafiksel dağılımı

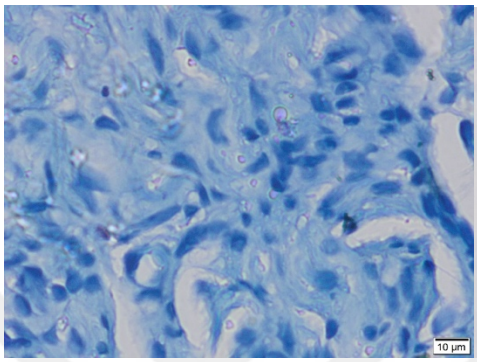
Tukey's MCT	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Poz vs. Neg	101,5	44,76 to 158,3	Yes	***	0,0001
Poz vs. S.gref	108,0	51,27 to 164,8	Yes	****	<0,0001
Poz vs. İlaçlı kon	30,81	-25,96 to 87,59	No	ns	0,5583
Poz vs. İlaçsız kon	76,33	19,55 to 133,1	Yes	**	0,0042
Poz vs. Neuragen	86,03	29,26 to 142,8	Yes	**	0,0012
Neg vs. S.gref	6,506	-50,27 to 63,28	No	ns	0,9992
Neg vs. İlaçlı kon	-70,73	-127,5 to -13,95	Yes	**	0,0088
Neg vs. İlaçsız kon	-25,21	-81,99 to 31,57	No	ns	0,7422
Neg vs. Neuragen	-15,51	-72,28 to 41,27	No	ns	0,9558
S.gref vs. İlaçlı kon	-77,23	-134,0 to -20,45	Yes	**	0,0038
S.gref vs. İlaçsız kon	-31,71	-88,49 to 25,06	No	ns	0,5283
S.gref vs. Neuragen	-22,01	-78,79 to 34,77	No	ns	0,8332
İlaçlı kon vs. İlaçsız kon	45,52	-11,26 to 102,3	No	ns	0,1702
İlaçlı kon vs. Neuragen	55,22	-1,557 to 112,0	No	ns	0,0599
İlaçsız kon vs. Neuragen	9,703	-47,07 to 66,48	No	ns	0,9944

Tablo 34: Distal kesitte akson sayılarının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması

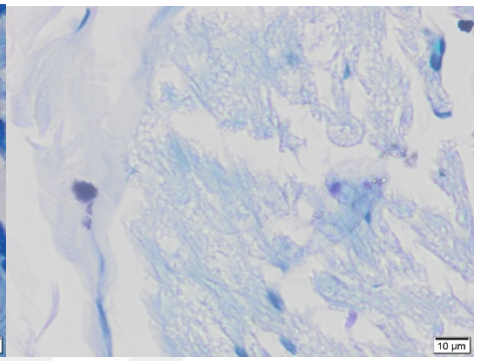
Distal kesitte akson sayıları istatistiki olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler negatif kontrol grubu ve sinir grefti grubu ve Neuragen konduit elde edilirken; en yüksek değerler sırasıyla pozitif kontrol grubu, ilaçlı konduit ve ilaçsız konduit gruplarında elde edildi. Pozitif kontrol grubunda orta aksonal bölgedeki akson sayısı negatif

kontrol grubu, sinir grefti, Neuragen ve ilaçsız konduit grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0.05$). Ancak pozitif kontrol grubu ile ilaç salınımlı konduit grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p=0.5583$). Ayrıca ilaçlı konduit grubunda akson sayıları sinir grefti grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p=0.0038$) Ancak sinir grefti grubu ile ilaç salınımsız konduit grubu ile Neuragen ticari konduiti grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p>0.05$)

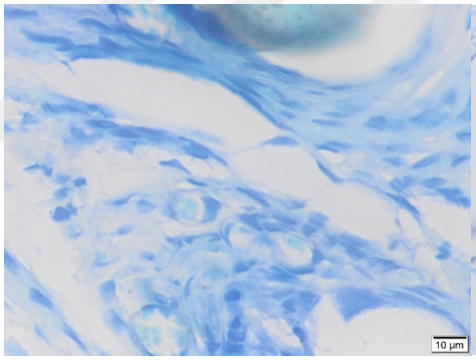
4.5.2. Myelin Kılıf Kalınlığı - Tolidin Mavisi Boyamalar



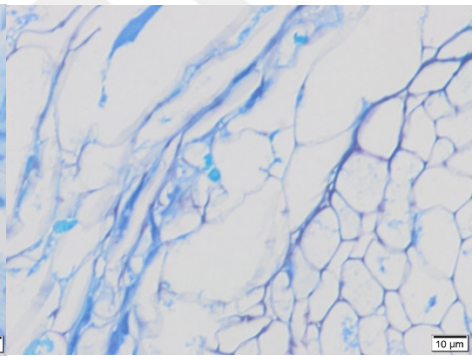
Pozitif Grup



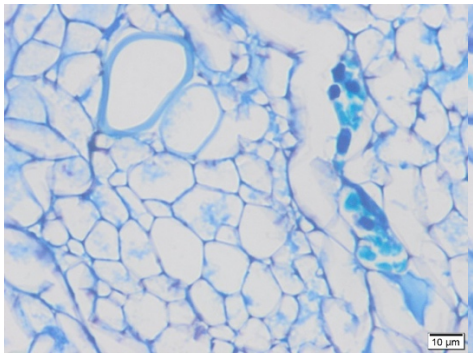
Negatif Grup



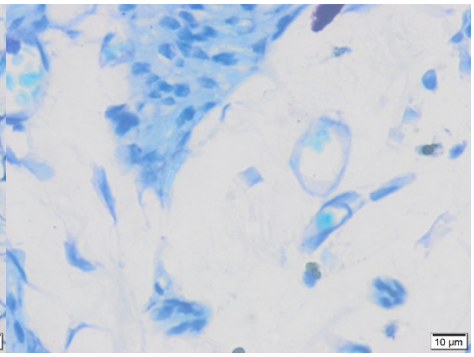
Sinir Grefti Grubu



İlaçlı Konduit Grubu



İlaçsız Konduit Grubu



Neuragen Grubu

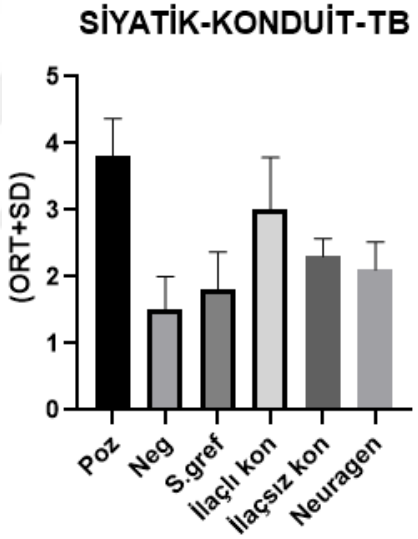
a) <u>Proksimal akson myelin kılıfı kalınlığı</u>

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
1	3	1	1	2	2	2
2	3,5	1,5	1,5	3	2,5	2,5
3	4	2	2	2,5	2	1,5
4	4	1	2,5	3,5	2,5	2
5	4,5	2	2	4	2,5	2,5

Tablo 35: Proksimal bölge Myelin Kılıfı Kalınlığının gruplardaki değerleri

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
Number of values	5	5	5	5	5	5
Minimum	3,000	1,000	1,000	2,000	2,000	1,500
Maximum	4,500	2,000	2,500	4,000	2,500	2,500
Range	1,500	1,000	1,500	2,000	0,5000	1,000
Mean	3,800	1,500	1,800	3,000	2,300	2,100
Std. Deviation	0,5701	0,5000	0,5701	0,7906	0,2739	0,4183
Std. Error of Mean	0,2550	0,2236	0,2550	0,3536	0,1225	0,1871

Tablo 35: Proksimal bölge Myelin Kılıfı Kalınlığının gruplardaki dağılımı



Grafik 11: Proksimal bölge Myelin kılıfı kalınlığının grafiksel dağılımı

Tukey's MCT	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Poz vs. Neg	2,300	1,236 to 3,364	Yes	****	<0,0001
Poz vs. S.gref	2,000	0,9364 to 3,064	Yes	****	<0,0001
Poz vs. İlaçlı kon	0,8000	-0,2636 to 1,864	No	ns	0,2228
Poz vs. İlaçsız kon	1,500	0,4364 to 2,564	Yes	**	0,0026
Poz vs. Neuragen	1,700	0,6364 to 2,764	Yes	***	0,0006
Neg vs. S.gref	-0,3000	-1,364 to 0,7636	No	ns	0,9496
Neg vs. İlaçlı kon	-1,500	-2,564 to -0,4364	Yes	**	0,0026
Neg vs. İlaçsız kon	-0,8000	-1,864 to 0,2636	No	ns	0,2228
Neg vs. Neuragen	-0,6000	-1,664 to 0,4636	No	ns	0,5178

S.gref vs. İlaçlı kon	-1,200	-2,264 to -0,1364	Yes	*	0,0207
S.gref vs. İlaçsız kon	-0,5000	-1,564 to 0,5636	No	ns	0,6954
S.gref vs. Neuragen	-0,3000	-1,364 to 0,7636	No	ns	0,9496
İlaçlı kon vs. İlaçsız kon	0,7000	-0,3636 to 1,764	No	ns	0,3531
İlaçlı kon vs. Neuragen	0,9000	-0,1636 to 1,964	No	ns	0,1317
İlaçsız kon vs. Neuragen	0,2000	-0,8636 to 1,264	No	ns	0,9914

Tablo 37: Proksimal bölge Myelin kılıfı kalınlığının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması

Proksimal bölge Myelin kılıfı kalınlığı istatistiki olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler negatif kontrol grubu ve sinir grefti grubu ve Neuragen konduit elde edilirken; en yüksek değerler sırasıyla pozitif kontrol grubu, ilaçlı konduit ve ilaçsız konduit gruplarında elde edildi. Pozitif kontrol grubunda proksimal bölge Myelin kılıfı kalınlığı negatif kontrol grubu, sinir grefti, Neuragen ve ilaçsız konduit grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0.05$). Ancak pozitif kontrol grubu ile ilaç salınımlı konduit grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p=0.2228$). Ayrıca ilaçlı konduit grubunda Myelin kılıfı kalınlığı sinir grefti grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p=0.0207$). Ancak sinir grefti grubu ile ilaç salınımsız konduit grubu ile Neuragen ticari konduiti grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p>0.05$)

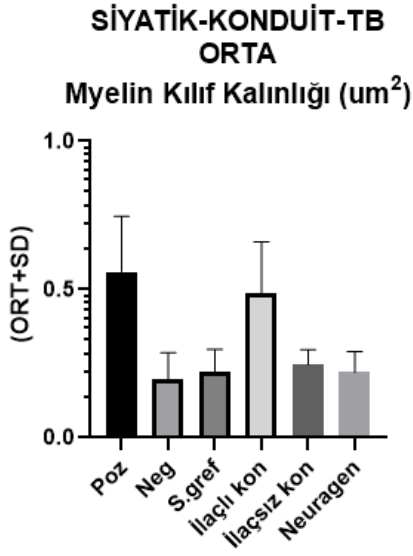
b) <u>Orta aksonal bölgede myelin kılıfı kalınlığı</u>

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
1	0,82	0,13	0,14	0,76	0,26	0,25
2	0,45	0,11	0,16	0,32	0,32	0,23
3	0,36	0,23	0,21	0,39	0,23	0,19
4	0,68	0,19	0,29	0,41	0,18	0,31
5	0,49	0,33	0,31	0,55	0,24	0,12

Tablo 38: Orta aksonal bölgede Myelin Kılıfı Kalınlığının gruplardaki değerleri

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
Number of values	5	5	5	5	5	5
Minimum	0,3600	0,1100	0,1400	0,3200	0,1800	0,1200
Maximum	0,8200	0,3300	0,3100	0,7600	0,3200	0,3100
Range	0,4600	0,2200	0,1700	0,4400	0,1400	0,1900
Mean	0,5600	0,1980	0,2220	0,4860	0,2460	0,2200
Std. Deviation	0,1864	0,08786	0,07596	0,1744	0,05079	0,07071
Std. Error of Mean	0,08337	0,03929	0,03397	0,07801	0,02272	0,03162

Tablo 39: Orta bölge Myelin Kılıfı Kalınlığının gruplardaki dağılımı



Grafik 12: Orta bölge Myelin kılıfı kalınlığının grafiksel dağılımı

Tukey's MCT	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Poz vs. Neg	0,3620	0,1275 to 0,5965	Yes	***	0,0009
Poz vs. S.gref	0,3380	0,1035 to 0,5725	Yes	**	0,0020
Poz vs. İlaçlı kon	0,07400	-0,1605 to 0,3085	No	ns	0,9212
Poz vs. İlaçsız kon	0,3140	0,07954 to 0,5485	Yes	**	0,0044
Poz vs. Neuragen	0,3400	0,1055 to 0,5745	Yes	**	0,0019
Neg vs. S.gref	-0,02400	-0,2585 to 0,2105	No	ns	0,9995
Neg vs. İlaçlı kon	-0,2880	-0,5225 to -0,05354	Yes	*	0,0100
Neg vs. İlaçsız kon	-0,04800	-0,2825 to 0,1865	No	ns	0,9873
Neg vs. Neuragen	-0,02200	-0,2565 to 0,2125	No	ns	0,9997
S.gref vs. İlaçlı kon	-0,2640	-0,4985 to -0,02954	Yes	*	0,0210
S.gref vs. İlaçsız kon	-0,02400	-0,2585 to 0,2105	No	ns	0,9995
S.gref vs. Neuragen	0,002000	-0,2325 to 0,2365	No	ns	>0,9999
İlaçlı kon vs. İlaçsız kon	0,2400	0,005543 to 0,4745	Yes	*	0,0427
İlaçlı kon vs. Neuragen	0,2660	0,03154 to 0,5005	Yes	*	0,0198
İlaçsız kon vs. Neuragen	0,02600	-0,2085 to 0,2605	No	ns	0,9993

Tablo 40: Orta bölge Myelin kılıfı kalınlığının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması

Orta bölge Myelin kılıfı kalınlığı istatistiki olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler negatif kontrol grubu ve sinir grefti grubu ve Neuragen konduit elde edilirken; en yüksek değerler sırasıyla pozitif kontrol grubu, ilaçlı konduit ve ilaçsız konduit gruplarında elde edildi. Pozitif kontrol grubunda orta bölge Myelin kılıfı kalınlığı negatif kontrol grubu, sinir grefti, Neuragen ve ilaçsız konduit grubuna göre anlamlı olarak yüksek

bulundu. ($p<0.05$). Ancak pozitif kontrol grubu ile ilaç salınımlı konduit grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p=0.9212$). Ayrıca ilaçlı konduit grubunda Myelin kılıfı kalınlığı sinir grefti grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p=0.0210$). İlaçlı konduit grubunda orta bölgedeki myelin kılıfı kalınlığı Neuragen ticari konduit grubuna göre de anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p=0.0198$). Ancak sinir grefti grubu ile ilaç salınımsız konduit grubu ile Neuragen ticari konduiti grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p>0.05$)

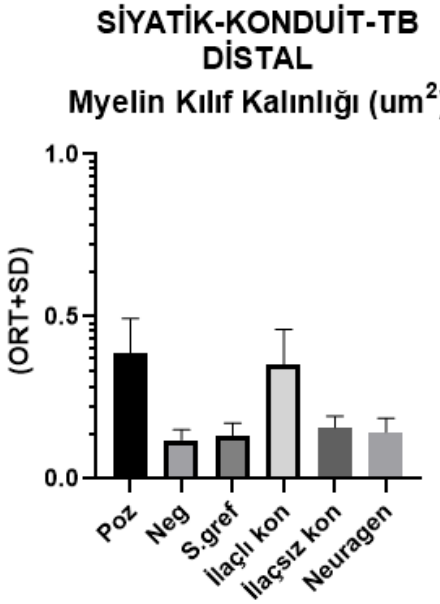
c) <u>Distal aksonal bölgede myelin kılıfı kalınlığı</u>

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
1	0,55	0,08	0,09	0,44	0,16	0,16
2	0,28	0,1	0,1	0,49	0,2	0,18
3	0,43	0,14	0,14	0,24	0,14	0,12
4	0,36	0,12	0,18	0,32	0,11	0,18
5	0,31	0,16	0,16	0,28	0,18	0,08

Tablo 41: Distal aksonal bölgede Myelin Kılıfı Kalınlığının gruplardaki değerleri

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
Number of values	5	5	5	5	5	5
Minimum	0,2800	0,08000	0,09000	0,2400	0,1100	0,08000
Maximum	0,5500	0,1600	0,1800	0,4900	0,2000	0,1800
Range	0,2700	0,08000	0,09000	0,2500	0,09000	0,1000
Mean	0,3860	0,1200	0,1340	0,3540	0,1580	0,1440
Std. Deviation	0,1078	0,03162	0,03847	0,1067	0,03493	0,04336
Std. Error of Mean	0,04823	0,01414	0,01720	0,04771	0,01562	0,01939

Tablo 42: Distal bölge Myelin Kılıfı Kalınlığının gruplardaki dağılımı



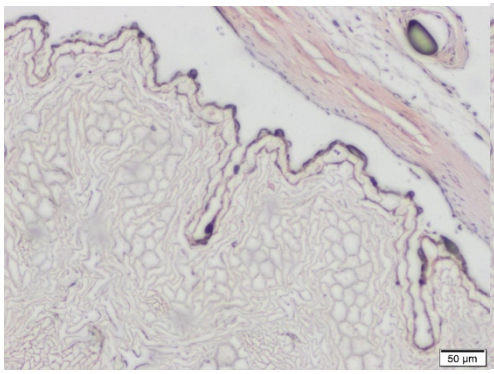
Grafik 13: Distal bölge Myelin kılıfı kalınlığının grafiksel dağılımı

Tukey's MCT	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Poz vs. Neg	0,2660	0,1310 to 0,4010	Yes	****	<0,0001
Poz vs. S.gref	0,2520	0,1170 to 0,3870	Yes	****	<0,0001
Poz vs. İlaçlı kon	0,03200	-0,1030 to 0,1670	No	ns	0,9757
Poz vs. İlaçsız kon	0,2280	0,09301 to 0,3630	Yes	***	0,0003
Poz vs. Neuragen	0,2420	0,1070 to 0,3770	Yes	***	0,0001
Neg vs. S.gref	-0,01400	-0,1490 to 0,1210	No	ns	0,9995
Neg vs. İlaçlı kon	-0,2340	-0,3690 to -0,09901	Yes	***	0,0002
Neg vs. İlaçsız kon	-0,03800	-0,1730 to 0,09699	No	ns	0,9500
Neg vs. Neuragen	-0,02400	-0,1590 to 0,1110	No	ns	0,9933
S.gref vs. İlaçlı kon	-0,2200	-0,3550 to -0,08501	Yes	***	0,0005
S.gref vs. İlaçsız kon	-0,02400	-0,1590 to 0,1110	No	ns	0,9933
S.gref vs. Neuragen	-0,01000	-0,1450 to 0,1250	No	ns	>0,9999
İlaçlı kon vs. İlaçsız kon	0,1960	0,06101 to 0,3310	Yes	**	0,0019
İlaçlı kon vs. Neuragen	0,2100	0,07501 to 0,3450	Yes	***	0,0009
İlaçsız kon vs. Neuragen	0,01400	-0,1210 to 0,1490	No	ns	0,9995

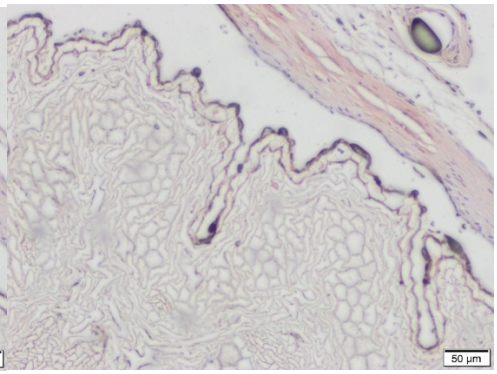
Tablo 43: Distal bölge Myelin kılıfı kalınlığının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması

Distal bölge Myelin kılıfı kalınlığı istatistiki olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler negatif kontrol grubu ve sinir grefti grubu ve Neuragen konduit elde edilirken; en yüksek değerler sırasıyla pozitif kontrol grubu, ilaçlı konduit ve ilaçsız konduit gruplarında elde edildi. Pozitif kontrol grubunda distal bölge Myelin kılıfı kalınlığı negatif kontrol grubu, sinir grefti, Neuragen ve ilaçsız konduit grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0.05$). Ancak pozitif kontrol grubu ile ilaç salınımlı konduit grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p=0.9757$). Ayrıca ilaçlı konduit grubunda Myelin kılıfı kalınlığı sinir grefti grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p=0.0005$).İlaçlı konduit grubunda distal bölgedeki myelin kılıfı kalınlığı Neuragen ticari konduit grubuna göre de anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p=0.0009$).Ancak sinir grefti grubu ile ilaç salınımsız konduit grubu ile Neuragen ticari konduiti grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p>0.05$)

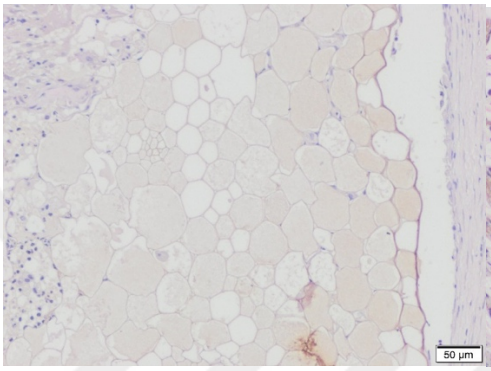
4.5.3. MBP İHK Boyamalar



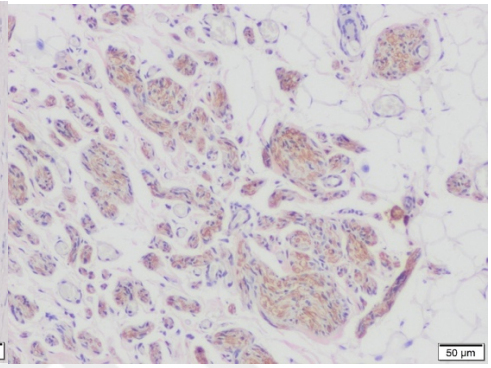
Pozitif Grup



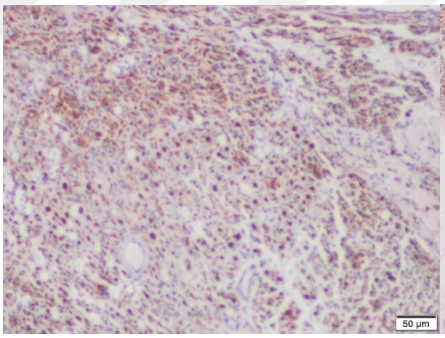
Negatif Grup



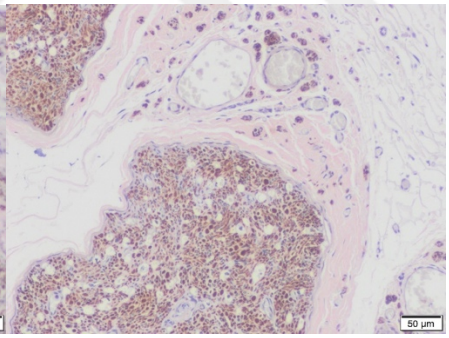
Sinir Grefti Grubu



İlaçlı Konduit Grup



İlaçsız konduit Grubu



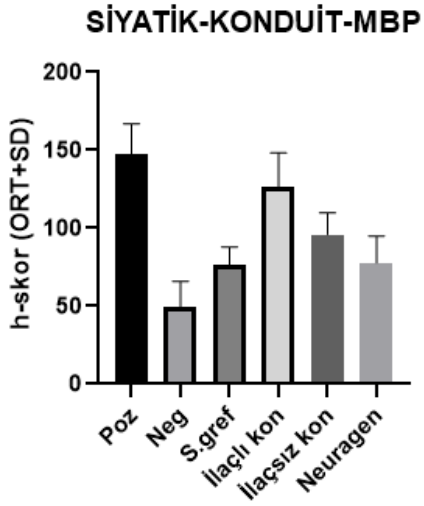
Neuragen Grubu

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
1	140,6	45,58	63,93	117,51	99,59	83,57
2	156,8	58,2	70,98	110,25	101,39	64,24
3	160,5	63,5	69,17	101,5	116,5	104,17
4	111	42,33	84,83	145,5	80,83	67,17
5	161,25	65,64	75,09	157,67	97,18	88,18

Tablo 44: MBP İHK boyamasının gruplardaki değerleri

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
Number of values	5	5	5	5	5	5
Minimum	111,0	22,20	63,93	101,5	79,75	59,09
Maximum	161,3	65,64	94,93	157,7	116,5	104,2
Range	50,25	43,44	31,00	56,17	36,75	45,08
Mean	147,6	49,58	76,49	126,8	95,87	77,74
Std. Deviation	19,42	16,40	11,43	21,47	13,84	17,22
Std. Error of Mean	7,927	6,694	4,666	8,767	5,650	7,032

Tablo 45: MBP İHK boyamasının gruplardaki dağılımı



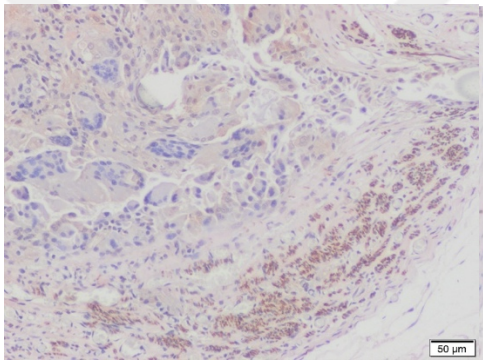
Grafik 14: MBP İHK boyamasının grafiksel dağılımı

Tukey's MCT	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Poz vs. Neg	98,00	68,22 to 127,8	Yes	****	<0,0001
Poz vs. S.gref	71,09	41,30 to 100,9	Yes	****	<0,0001
Poz vs. İlaçlı kon	20,76	-9,025 to 50,54	No	ns	0,3046
Poz vs. İlaçsız kon	51,70	21,92 to 81,48	Yes	***	0,0001
Poz vs. Neuragen	69,84	40,06 to 99,62	Yes	****	<0,0001
Neg vs. S.gref	-26,91	-56,70 to 2,870	No	ns	0,0948
Neg vs. İlaçlı kon	-77,24	-107,0 to -47,46	Yes	****	<0,0001
Neg vs. İlaçsız kon	-46,30	-76,08 to -16,52	Yes	***	0,0007
Neg vs. Neuragen	-28,16	-57,94 to 1,621	No	ns	0,0722
S.gref vs. İlaçlı kon	-50,33	-80,11 to -20,55	Yes	***	0,0002
S.gref vs. İlaçsız kon	-19,39	-49,17 to 10,40	No	ns	0,3769
S.gref vs. Neuragen	-1,248	-31,03 to 28,53	No	ns	>0,9999
İlaçlı kon vs. İlaçsız kon	30,94	1,160 to 60,73	Yes	*	0,0381
İlaçlı kon vs. Neuragen	49,08	19,30 to 78,86	Yes	***	0,0003
İlaçsız kon vs. Neuragen	18,14	-11,65 to 47,92	No	ns	0,4496

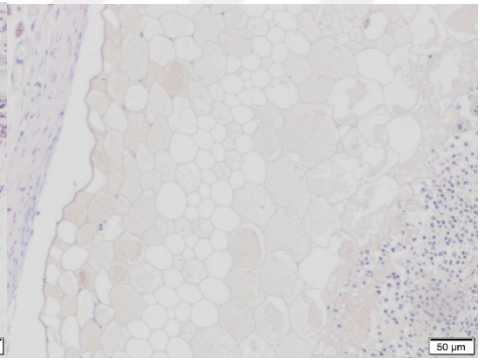
Tablo 46: MBP İHK boyamasının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması

MBP İHK boyaması sonuçları istatistiki olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler negatif kontrol grubu ve sinir grefti grubu ve Neuragen konduit elde edilirken; en yüksek değerler sırasıyla pozitif kontrol grubu, ilaçlı konduit ve ilaçsız konduit gruplarında elde edildi. Pozitif kontrol grubunda MBP boyaması değerleri negatif kontrol grubu, sinir grefti, Neuragen ve ilaçsız konduit grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0.05$). Ancak pozitif kontrol grubu ile ilaç salınımlı konduit grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p=0.3046$). Ayrıca ilaçlı konduit grubunda MBP boyaması değerleri sinir grefti grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p=0.0002$).İlaçlı konduit grubunda MBP boyaması değerleri Neuragen ticari konduit grubuna göre de anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p=0.0003$).Ancak sinir grefti grubu ile ilaç salınımsız konduit grubu ve Neuragen ticari konduiti grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p>0.05$)

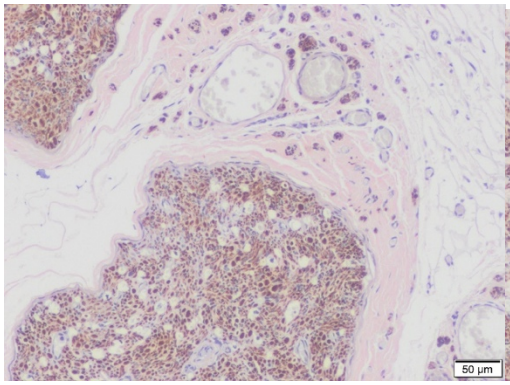
4.5.4. NRF İHK Boyamalar



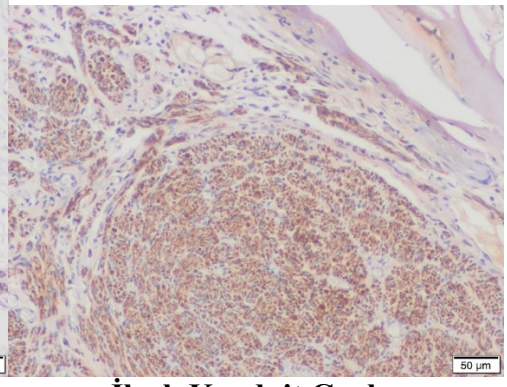
Pozitif Grup



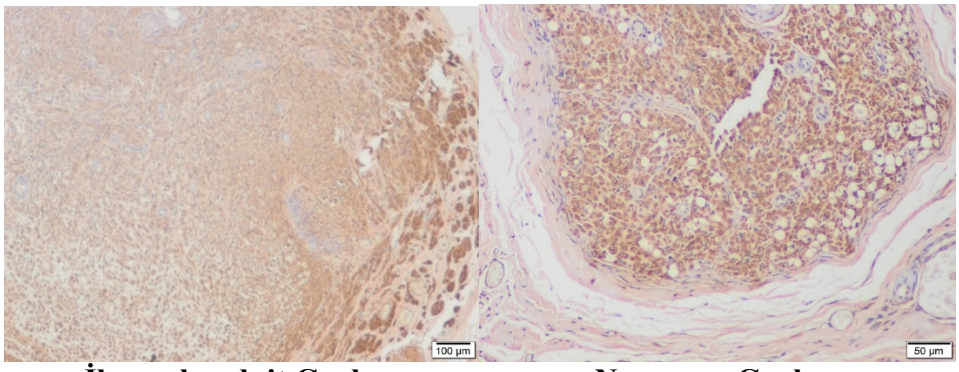
Negatif Grup



Sinir Grefti Grubu



İlaçlı Konduit Grubu



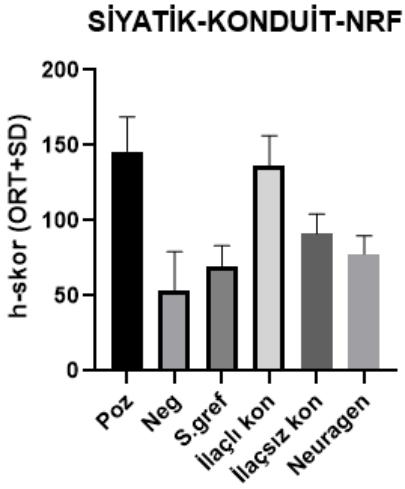
İlaçsız konduit Grubu **Neuragen Grubu**

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
1	137,17	31,83	48,5	164,33	81,17	64,5
2	156,83	47,5	64	135,17	75,67	83,33
3	154	93,17	69,33	124,17	101,67	79,17
4	111	32,33	84,83	145,5	90,83	67,17
5	170,5	63,5	79,17	111,5	106,5	94,17

Tablo 47: NRF İHK boyamasının gruplardaki değerleri

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
Number of values	5	5	5	5	5	5
Minimum	111,0	31,83	48,50	111,5	75,67	64,50
Maximum	170,5	93,17	84,83	164,3	106,5	94,17
Range	59,50	61,34	36,33	52,83	30,83	29,67
Mean	145,9	53,67	69,17	136,1	91,17	77,67
Std. Deviation	22,83	25,63	14,14	20,21	13,09	12,15
Std. Error of Mean	10,21	11,46	6,322	9,038	5,855	5,432

Tablo 48: NRF İHK boyamasının gruplardaki dağılımı



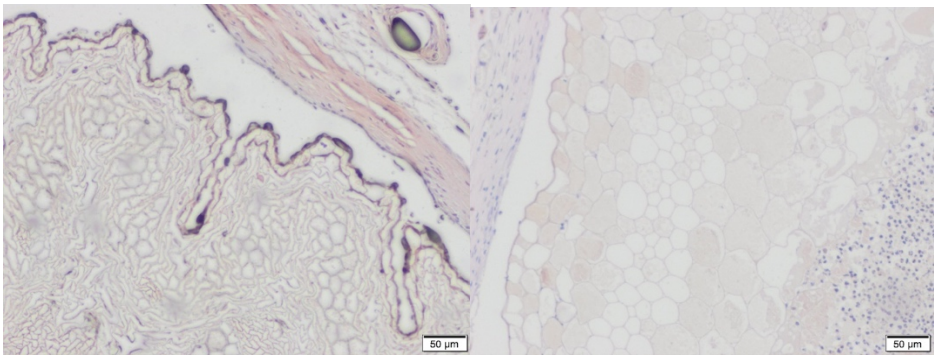
Grafik 15: NRF İHK boyamasının grafiksel dağılımı

Tukey's MCT	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Poz vs. Neg	92,23	55,61 to 128,9	Yes	****	<0,0001
Poz vs. S.gref	76,73	40,11 to 113,4	Yes	****	<0,0001
Poz vs. İlaçlı kon	9,766	-26,86 to 46,39	No	ns	0,9600
Poz vs. İlaçsız kon	54,73	18,10 to 91,36	Yes	**	0,0014
Poz vs. Neuragen	68,23	31,60 to 104,9	Yes	****	<0,0001
Neg vs. S.gref	-15,50	-52,13 to 21,13	No	ns	0,7777
Neg vs. İlaçlı kon	-82,47	-119,1 to -45,84	Yes	****	<0,0001
Neg vs. İlaçsız kon	-37,50	-74,13 to -0,8731	Yes	*	0,0426
Neg vs. Neuragen	-24,00	-60,63 to 12,63	No	ns	0,3576
S.gref vs. İlaçlı kon	-66,97	-103,6 to -30,34	Yes	***	0,0001
S.gref vs. İlaçsız kon	-22,00	-58,63 to 14,63	No	ns	0,4506
S.gref vs. Neuragen	-8,502	-45,13 to 28,13	No	ns	0,9779
İlaçlı kon vs. İlaçsız kon	44,97	8,337 to 81,59	Yes	*	0,0101
İlaçlı kon vs. Neuragen	58,47	21,84 to 95,09	Yes	***	0,0006
İlaçsız kon vs. Neuragen	13,50	-23,13 to 50,13	No	ns	0,8600

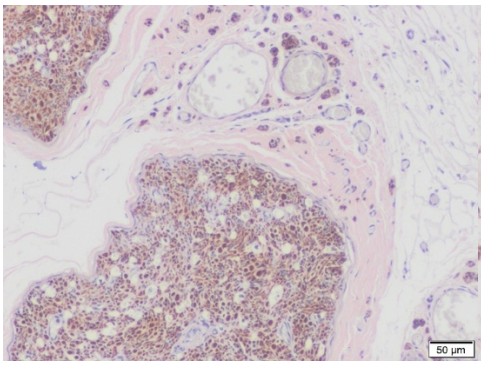
Tablo 49: NRF İHK boyamasının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması

NRF İHK boyaması sonuçları istatistiki olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler negatif kontrol grubu ve sinir grefti grubu ve Neuragen konduit elde edilirken; en yüksek değerler sırasıyla pozitif kontrol grubu, ilaçlı konduit ve ilaçsız konduit gruplarında elde edildi. Pozitif kontrol grubunda NRF boyaması değerleri negatif kontrol grubu, sinir grefti, Neuragen ve ilaçsız konduit grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0.05$). Ancak pozitif kontrol grubu ile ilaç salınımlı konduit grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p=0.9600$). Ayrıca ilaçlı konduit grubunda NRF boyaması değerleri sinir grefti grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p=0.0001$).İlaçlı konduit grubunda NRF boyaması değerleri Neuragen ticari konduit grubuna göre de anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p=0.0006$).Ancak sinir grefti grubu ile ilaç salınımsız konduit grubu ile Neuragen ticari konduiti grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p>0.05$)

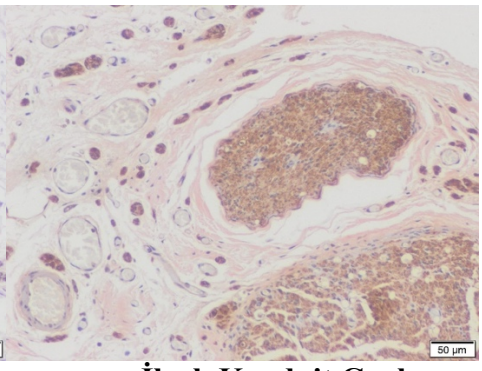
4.5.5. S100 İHK Boyamalar



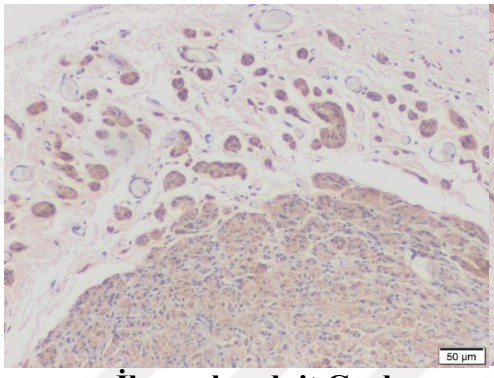
Pozitif Grup **Negatif Grup**



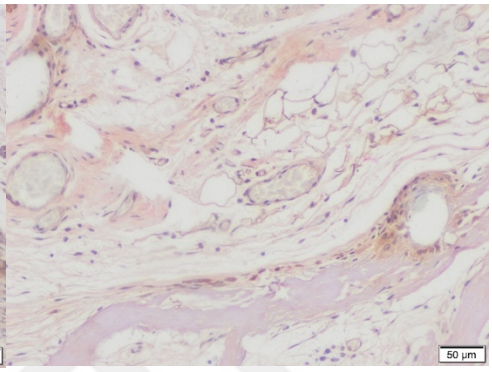
Sinir Grefti Grubu



İlaçlı Konduit Grubu



İlaçsız konduit Grubu



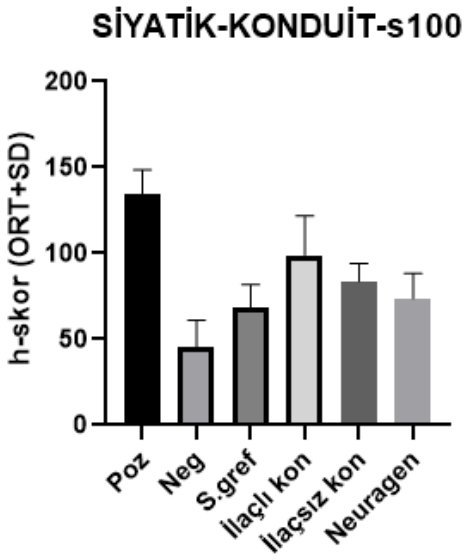
Neuragen Grubu

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
1	114,8	29,24	47,83	62,93	66,57	81,92
2	139,6	32,07	85,03	111,44	88,66	71,01
3	152	67,78	71,01	123,84	87,86	82,2
4	124,37	43,66	63,86	99,85	93,51	83,82
5	139,6	53,24	72,63	96,34	81,11	49,32

Tablo 50: S100 İHK boyamasının gruplardaki değerleri

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
Number of values	5	5	5	5	5	5
Minimum	114,8	29,24	47,83	62,93	66,57	49,32
Maximum	152,0	67,78	85,03	123,8	93,51	83,82
Range	37,20	38,54	37,20	60,91	26,94	34,50
Mean	134,1	45,20	68,07	98,88	83,54	73,65
Std. Deviation	14,56	15,84	13,64	22,81	10,47	14,52
Std. Error of Mean	6,512	7,085	6,101	10,20	4,681	6,496

Tablo 51: S100 İHK boyamasının gruplardaki dağılımı



Grafik 16: S100 İHK boyamasının grafiksel dağılımı

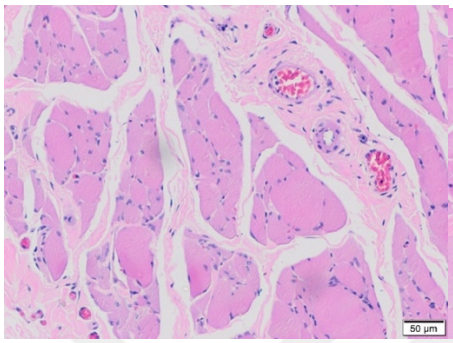
Tukey's MCT	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Poz vs. Neg	88,88	58,06 to 119,7	Yes	****	88,88
Poz vs. S.gref	66,00	35,19 to 96,82	Yes	****	66,00
Poz vs. İlaçlı kon	35,19	4,380 to 66,01	Yes	*	35,19
Poz vs. İlaçsız kon	50,53	19,72 to 81,35	Yes	***	50,53
Poz vs. Neuragen	60,42	29,61 to 91,23	Yes	****	60,42
Neg vs. S.gref	-22,87	-53,69 to 7,940	No	ns	-22,87
Neg vs. İlaçlı kon	-53,68	-84,50 to -22,87	Yes	***	-53,68
Neg vs. İlaçsız kon	-38,34	-69,16 to -7,530	Yes	**	-38,34
Neg vs. Neuragen	-28,46	-59,27 to 2,358	No	ns	-28,46
S.gref vs. İlaçlı kon	-30,81	-61,62 to 0,005682	No	ns	-30,81
S.gref vs. İlaçsız kon	-15,47	-46,28 to 15,34	No	ns	-15,47
S.gref vs. Neuragen	-5,582	-36,40 to 25,23	No	ns	-5,582
İlaçlı kon vs. İlaçsız kon	15,34	-15,48 to 46,15	No	ns	15,34
İlaçlı kon vs. Neuragen	25,23	-5,588 to 56,04	No	ns	25,23
İlaçsız kon vs. Neuragen	9,888	-20,93 to 40,70	No	ns	9,888

Tablo 52: S100 İHK boyamasının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması

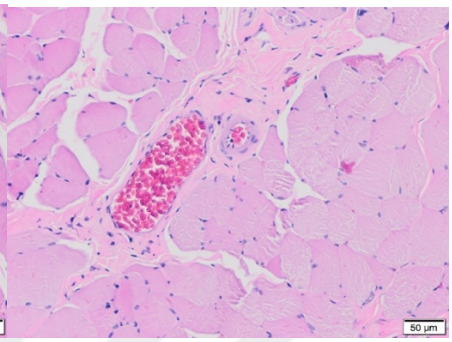
S100 İHK boyaması sonuçları istatistiki olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler negatif kontrol grubu ve sinir grefti grubu ve Neuragen konduit elde edilirken; en yüksek değerler sırasıyla pozitif kontrol grubu, ilaçlı konduit ve ilaçsız konduit gruplarında elde edildi.

Pozitif kontrol grubunda S100 boyaması değerleri negatif kontrol grubu, sinir grefti, Neuragen ve ilaçlı ve ilaçsız konduit grubu da dahil olmak üzere tüm gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0.05$). İlaç salınımlı ve ilaç salınımsız konduit grubunda S100 boyama değerleri negatif kontrol grubuna göre anlamlı yüksek tespit edildi. ($p <0.05$) . Bunun dışındaki tüm gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p >0.05$)

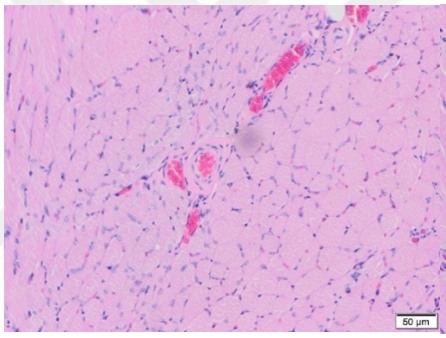
4.5.6. Kas H/E Boyaması



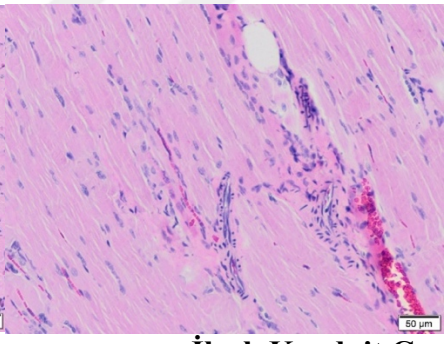
Pozitif Grup



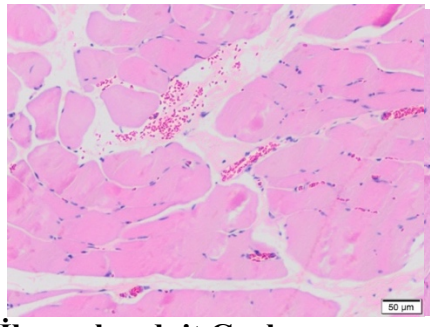
Negatif Grup



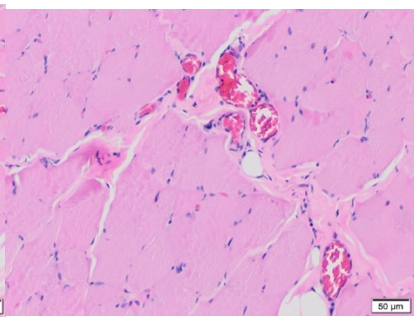
Sinir Grefti Grubu



İlaçlı Konduit Grubu



İlaçsız konduit Grubu



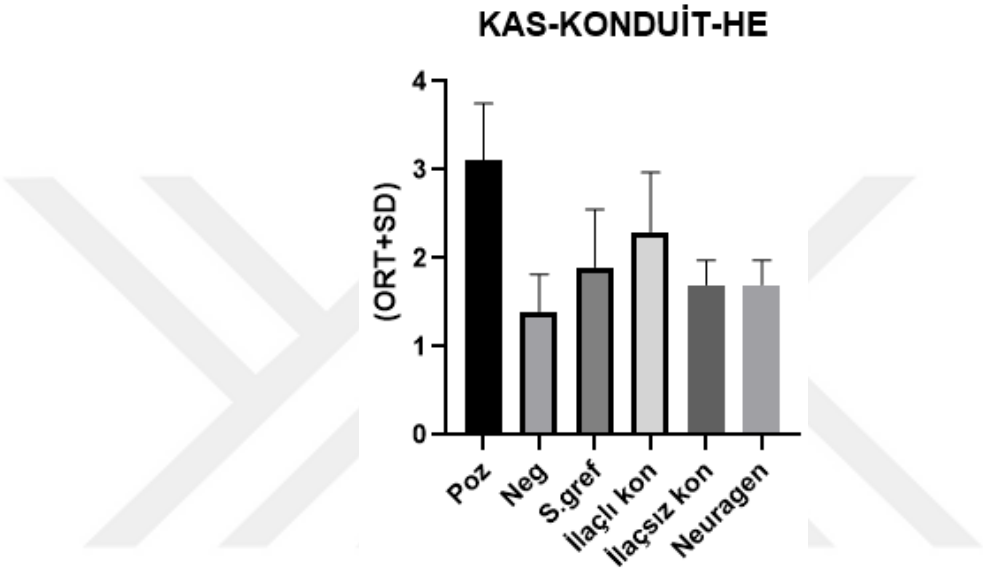
Neuragen Grubu

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
1	3,5	1	2,5	3	1,5	1,5
2	4	1	1,5	2	2	1,5
3	2,5	1,5	1	1,5	2	2
4	2,5	2	2,5	2	1,5	1,5
5	3	1,5	2	3	1,5	2

Tablo 53: Kas H/E boyamasının gruplardaki değerleri

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
Number of values	5	5	5	5	5	5
Minimum	2,500	1,000	1,000	1,500	1,500	1,500
Maximum	4,000	2,000	2,500	3,000	2,000	2,000
Range	1,500	1,000	1,500	1,500	0,5000	0,5000
Mean	3,100	1,400	1,900	2,300	1,700	1,700
Std. Deviation	0,6519	0,4183	0,6519	0,6708	0,2739	0,2739
Std. Error of Mean	0,2915	0,1871	0,2915	0,3000	0,1225	0,1225

Tablo 54: Kas H/E boyamasının gruplardaki dağılımı



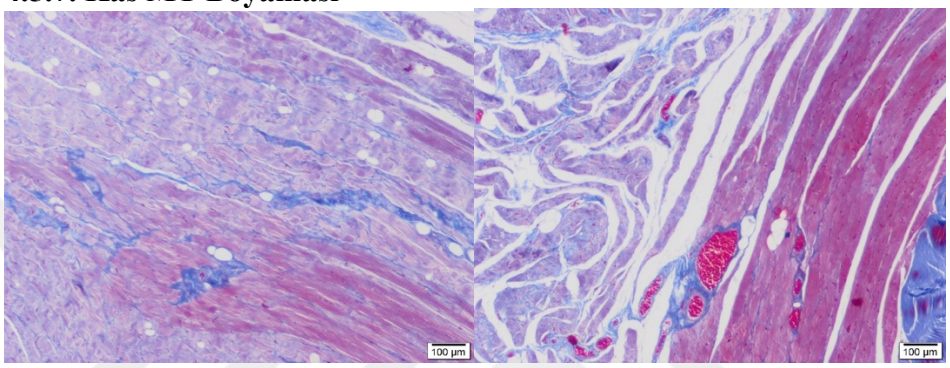
Grafik 17: Kas H/E boyamasının grafiksel dağılımı

Tukey's MCT	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Poz vs. Neg	1,700	0,6823 to 2,718	Yes	***	0,0004
Poz vs. S.gref	1,200	0,1823 to 2,218	Yes	*	0,0144
Poz vs. İlaçlı kon	0,8000	-0,2177 to 1,818	No	ns	0,1855
Poz vs. İlaçsız kon	1,400	0,3823 to 2,418	Yes	**	0,0034
Poz vs. Neuragen	1,400	0,3823 to 2,418	Yes	**	0,0034
Neg vs. S.gref	-0,5000	-1,518 to 0,5177	No	ns	0,6559
Neg vs. İlaçlı kon	-0,9000	-1,918 to 0,1177	No	ns	0,1048
Neg vs. İlaçsız kon	-0,3000	-1,318 to 0,7177	No	ns	0,9397
Neg vs. Neuragen	-0,3000	-1,318 to 0,7177	No	ns	0,9397
S.gref vs. İlaçlı kon	-0,4000	-1,418 to 0,6177	No	ns	0,8252
S.gref vs. İlaçsız kon	0,2000	-0,8177 to 1,218	No	ns	0,9894
S.gref vs. Neuragen	0,2000	-0,8177 to 1,218	No	ns	0,9894
İlaçlı kon vs. İlaçsız kon	0,6000	-0,4177 to 1,618	No	ns	0,4707
İlaçlı kon vs. Neuragen	0,6000	-0,4177 to 1,618	No	ns	0,4707
İlaçsız kon vs. Neuragen	0,000	-1,018 to 1,018	No	ns	>0,9999

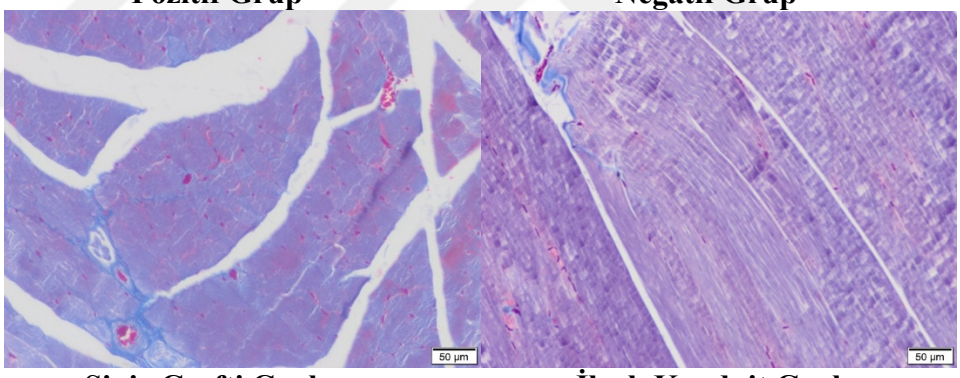
Tablo 55: Kas H/E boyamasının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması

Kas H/E boyaması sonuçları istatistiki olarak tek yönlü varyans analizi(ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler negatif kontrol grubu ve ilaç salınımsız konduit grubu ve Neuragen konduit elde edilirken; en yüksek değerler sırasıyla pozitif kontrol grubu, ilaçlı konduit ve sinir grefti gruplarında elde edildi. Pozitif kontrol grubunda kas H/E boyaması değerleri negatif kontrol grubu, sinir grefti, Neuragen ve ilaçsız konduit grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0.05$). Ancak pozitif kontrol grubu ile ilaç salınımlı konduit grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p=0.1855$). Ancak diğer gruplar arasındaki karşılaştırmada hiçbir grup arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. ($p>0.05$)

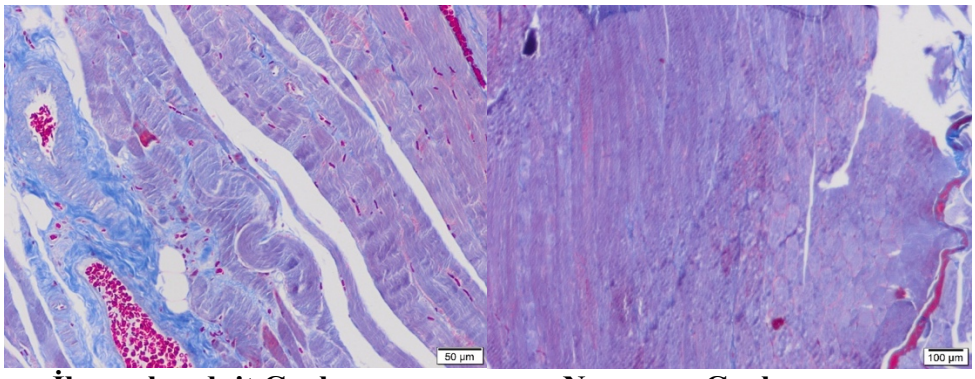
4.5.7. Kas MT Boyaması



Pozitif Grup **Negatif Grup**



Sinir Grefti Grubu **İlaçlı Konduit Grubu**



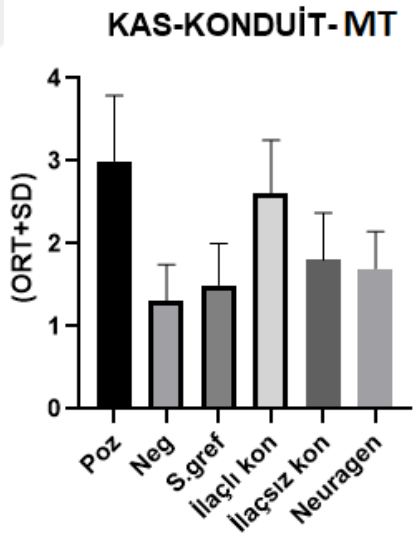
İlaçsız konduit Grubu **Neuragen Grubu**

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
1	2	1	1	2	2	1
2	3,5	1	1	2	2,5	2
3	2,5	1,5	1,5	3,5	1,5	1,5
4	4	1	2	2,5	1	2
5	3	2	2	3	2	2

Tablo 56: Kas MT boyamasının gruplardaki değerleri

	Poz	Neg	S.gref	İlaçlı kon	İlaçsız kon	Neuragen
Number of values	5	5	5	5	5	5
Minimum	2,000	1,000	1,000	2,000	1,000	1,000
Maximum	4,000	2,000	2,000	3,500	2,500	2,000
Range	2,000	1,000	1,000	1,500	1,500	1,000
Mean	3,000	1,300	1,500	2,600	1,800	1,700
Std. Deviation	0,7906	0,4472	0,5000	0,6519	0,5701	0,4472
Std. Error of Mean	0,3536	0,2000	0,2236	0,2915	0,2550	0,2000

Tablo 57: Kas MT boyamasının gruplardaki dağılımı



Grafik 18: Kas MT boyamasının grafiksel dağılımı

Tukey's MCT	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Poz vs. Neg	1,700	0,5640 to 2,836	Yes	**	0,0013
Poz vs. S.gref	1,500	0,3640 to 2,636	Yes	**	0,0051
Poz vs. İlaçlı kon	0,4000	-0,7360 to 1,536	No	ns	0,8811
Poz vs. İlaçsız kon	1,200	0,06395 to 2,336	Yes	*	0,0342
Poz vs. Neuragen	1,300	0,1640 to 2,436	Yes	*	0,0184
Neg vs. S.gref	-0,2000	-1,336 to 0,9360	No	ns	0,9936
Neg vs. İlaçlı kon	-1,300	-2,436 to -0,1640	Yes	*	0,0184
Neg vs. İlaçsız kon	-0,5000	-1,636 to 0,6360	No	ns	0,7489
Neg vs. Neuragen	-0,4000	-1,536 to 0,7360	No	ns	0,8811
S.gref vs. İlaçlı kon	-1,100	-2,236 to 0,03605	No	ns	0,0616
S.gref vs. İlaçsız kon	-0,3000	-1,436 to 0,8360	No	ns	0,9616
S.gref vs. Neuragen	-0,2000	-1,336 to 0,9360	No	ns	0,9936
İlaçlı kon vs. İlaçsız kon	0,8000	-0,3360 to 1,936	No	ns	0,2843
İlaçlı kon vs. Neuragen	0,9000	-0,2360 to 2,036	No	ns	0,1794
İlaçsız kon vs. Neuragen	0,1000	-1,036 to 1,236	No	ns	0,9998

Tablo 58: Kas MT boyamasının gruplar arasında Post-Hoc Tukey karşılaştırması

Kas MT boyaması sonuçları istatistiki olarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Post-Hoc Tukey analizleri ile gruplar arasında karşılaştırıldı ve $p<0.05$ istatiski olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında ortalama olarak en düşük değerler negatif kontrol grubu ve sinir grefti grubu ve Neuragen konduit elde edilirken; en yüksek değerler sırasıyla pozitif kontrol grubu, ilaçlı konduit ve ilaç salınımsız konduit gruplarında elde edildi. Pozitif kontrol grubunda kas MT boyaması değerleri negatif kontrol grubu, sinir grefti, Neuragen ve ilaçsız konduit grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0.05$). Ancak pozitif kontrol grubu ile ilaç salınımlı konduit grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. ($p=0.8811$). Ancak diğer gruplar arasındaki karşılaştırmada hiçbir grup arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. ($p>0.05$)

5. TARTIŞMA

Periferik sinir yaralanmaları, hasta açısından ciddi fonksiyonel kayıplara yol açabilen bir sağlık sorunudur ancak halen ideal bir sinir iyileşmesi ve rejenerasyonunu sağlayabilecek bir metod bulunamamıştır. Özellikle proksimal ve distal kesi uçları arasında defekt bulunan sinir yaralanmalarının onarımında halen altın standart tedavi yöntemi sinir greftleri ile onarım olsa da bu yöntemin kendine ait morbiditeleri sebebiyle alternatif sinir kondüit üretim çalışmaları günümüzde hız kazanmıştır ve plastik cerrahinin odak noktalarından biri haline gelmiştir.

Sinir greftleri ile onarıma bakıldığında; kısıtlı donör alanlarının bulunması, alıcı alanda skar dokusu bırakması, alıcı alanda nöroma gelişim riski bulunması gibi komorbiditeleri sebebiyle alternatif tedavi yöntemler aranmaktadır. Bu amaçla, geçmişten günümüze biyodegrede olamayan ve biyodegrede olabilen sentetik veya doğal birçok maddeden sinir kondüit üretim çalışmaları yapılmıştır ve yapılmaya devam edilmektedir. Sinir kondüiti çalışmalarındaki ortak amaç, aksonal uzamanın doğru doğrultuda uzamasına kılavuzluk etmek ve bu rejenerasyon hızını artırabilmektir. Bu amaçla, ideal bir sinir kondüitinin aşağıdaki fiziksel özellikleri sağlaması gerekmektedir.

1) Yeterli esnekliğe sahip olmalıdır.
2) Besin ve oksijen açısından geçirgen olabilmelidir.
3) Biyo-uyumlu olup, yabancı cisim reaksiyonuna sebep olmamalıdır.

Literatür incelendiğinde, yukarıdaki özellikleri sağlayabilmek amacıyla bu biyo-uyumlu olabilecek biyomateryallerin üretilmesi hız kazanmıştır ancak halen fonksiyonel iyileşmeyi ve aksonal rejenerasyonu sağlamada sinir greftlerine üstünlüğü gösterilebilmiş bir sinir kondüiti üretilememiştir. Sinir rejenerasyonu için klavuzluk gösteren bu kondüitlerin en büyük dezavantajlarından biri de defekt miktarı ne kadar uzunsa başarı şansının da düşmesidir.

Biyolojik biyo-bozunur materyallerden üretilen sinir kondüitleri, yapısal olarak daha esnek özelliklere sahip olmakla birlikte poröz yapıya sahip olmakta ve geçirgenliği sayesinde de akson beslenmesini ve schwann hücrelerinin desteklenmesi artırmaktadır. Bu amaçla, günümüzde en çok PLA, PGA ve PLGA gibi eriyen malzemeler kullanılmaktadır. Ancak bu moleküller ile üretilen sinir

kondüitlerinin en büyük dezavantajı, 3 boyutlu yazıcı teknolojisi gerektirmesi ve ciddi yüksek maliyetli üretim ve zor tedariğinin olmasıdır.

Son zamanlarda, bitki iskeleleri hayvan aselüler iskelelerinin yerine yaygın olarak çalışılmaktadır. Modulevski ve ark., 2014 yılında, elma hypanthium dokusu, 12 hafta boyunca memeli hücrelerinin in vitro büyümesini destekleyen gözenekler ve hava ceplerinden oluşan özel iç yapısı nedeniyle dekelülerizasyon yoluyla doğal bir selüloz lif iskelesi haline getirilmiştir [90]. 2017 yılında Gershlak ve ark., memeli damar sistemine benzeyen damar yapıları korunarak hücresizleştirilmiş ıspanak yaprakları elde edilmiştir [91]. O zamandan beri maydanoz, bambu, Calathea zebrina ve Anthurium warocqueanum dahil olmak üzere çeşitli bitki bazlı dokular iskele malzemesi olarak hücresizleştirilmiştir [92]. Bitkiler aleminde çeşitli doku yapılarının bulunması nedeniyle, bitki kaynaklı aselüler iskeleler, bitkilerin yapısal özelliklerine göre insan organlarını simüle edebilir. Hayvan yapılarının özelliklerini korumanın yanı sıra, bitki yapıları benzersiz ve biyolojik uyumlulukları, düşük üretim maliyetleri, etik ve tedarik kısıtlamalarından muaf olmaları, basit kullanımları ve büyük ölçekli üretim ve araştırmalar için uygun olmaları ile karakterize edilmektedir. Yine 2020 yılında Pradeina ve ark., tarafından yapılan çalışmada deselülerize edilmiş bitki scaffoldlarının kas ve endotel benzeri rejeneratif kapasitesinin olduğu ve kullanımının çeşitlendirilebileceğinden bahsedilmiştir [93]. 2022 yılında, Esmaeili ve ark., Alstroemeria bitki sapının deselülarizasyonu ile poröz yapıda kemik defektleri için scaffold olarak kullanımına yönelik yaptığı yayın sonrasında birçok tıp alanına da bitki deselülarizasyonu ile elde edilen scaffold ve ECM üretimi hızlanmıştır ancak henüz sinir rejenerasyonu amacıyla herhangi bir kullanımı olmamıştır [81]. Bu amaçla yaptığımız çalışmamızda, üretimi için biyoyazıcı teknolojisi gerektirmeyen, hızlı ve istenilen boyutlarda elde edilebilen, esnek ve tamamen biyouyumlu olması ve çok ucuz bir maliyetle üretim yapabiliyor olmamız sebebiyle bitki sapının deselülarizasyonu ile edilmiş ilk sinir kondüiti üretmeyi hedefledik. Çalışmamız sırasında, yaptığımız toksisite testlerinde herhangi bir toksisitesinin bulunmaması, elektron mikroskop ile ve histopatolojik incelemede mevcut poröz yapılarını görmemiz ve tüm deney boyunca hiçbir hayvanda alerjik ve toksik bulgular görülmemesi literatürde mevcut olan deselülerize bitki temelli biyomateryal kullanımı ile uyumlu olduğunu görmüş olduk ve deselülerize edilerek

üretilmiş olan biyomateryallerin sinir rejenerasyonu ve sinir kondüit üretim çalışmalarında kullanımının artacağını ve önünü açacağını göstermiştir.

10 mm'lik bir sıçan siyatik sinir defekti modeli, sinir rejenerasyonu için sinir kondüitlerinin etkisini değerlendirmek için sıklıkla kullanılan modeldir [94]. Bu nedenle, bu çalışmamızda, sol arka sıçan siyatik sinirinde 10 mm'lik bir defekt oluşturduk ve fonksiyonel değerlendirme amacıyla, siyatik fonksiyonel indeks, elektrofizyolojik inceleme yapıldı. Ayrıca deney sonunda histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme ile sinir rejenerasyonunu değerlendirdik. Yaptığımız ön çalışma ile birlikte, muhtemel sinir defekti oluşturulması sonrasında oluşan nöropatik ağrı ile artan sıçan stresi sonucunda hayvanlarda ayak parmağı ve topuk yeme davranışının olduğunu gördük ve literatürdeki yayınlardan farklı olarak ilk cerrahi sonrasında tüm hayvanlara 3 haftalık atel uygulaması yaptık ve toplamda sadece 3 hayvanda sinir defekti oluşturulan tarafta birinci parmakta kısmi falanks ve tırnak yediğini gördük.

İmmünohistokimyasal çalışmalar, sinir rejenerasyon çalışmalarında gün geçtikçe önem kazanan parametrik inceleme yöntemidir. Bu amaçla, sinir iyileşmesi sırasında aktif aksonal uzamayı ve iyileşen aksonları değerlendirmek amacıyla NRF-2(Nükleer Faktör eritroid 2- ilişkili faktör 2 (NRF-2), rejenere olan ve daha önceden bulunan tüm aksonları görmek ve akson sayısını belirlemek, schwann hücre yoğunluğunu gözlemlemek için S100 ve myelin kılıf kalınlığını değerlendirmek amacıyla Miyelin basic protein (MBP) ile istatistiksel aksonal sayı karşılaştırması yaptık.

NRF-2 (Nükleer Faktör eritroid 2- ilişkili faktör 2 (NRF-2), periferik sinir yaralanmaları sonrasında oluşan oksidatif stres ve bunun etkilerini sınırlandıran genetik yolağın başlangıcı oluşturan faktörlerdendir. Yapılan çalışmalarda periferik sinir hasarı sonrasında oluşan reaktif oksijen ürünleri, rejenerasyonu kısıtladığı gösterilmiştir [95,96]. Oluşan bu reaktif oksijenlerinin kısıtlanması ve sınırlandırılması sinir rejenerasyonunu hızlandırmaktadır. Bu nedenle, nükleer Nrf2 ekspresyonunun artırılması ve ardından oksidatif stresin engellenmesi, oksidatif nöral hasarın önlenmesinde ve periferik sinir hasarından sonra onarım sürecinin desteklenmesinde önemli bir yaklaşım olabilmektedir. 2016 yılında Che ve ark., yaptığı bir çalışmada susam yağının akut sinr hasarı oluşturulmuş fare modelinde kullanıldığında NRF-2 üzerinden sinir iyileşmesini artırdığı göstermiştir ve NRF-2 düzeylerinin korele olduğunu göstermiştir [97]. Yine Fehling ve ark., tarafından 1999

yılında yapılan bir çalışmada spinal kord travmalı hastalarda NRF-2 boyamalarında yüksek NRF-2 düzeyleri olan hastaların daha az fonksiyonel kaybı olduğu gösterilmiştir [98]. 2018 yılında Jahromi ve ark., yaptığı bir çalışmada, PLGA bazlı ve BDNF salınımı yapan bir sinir kondüitinin sıçan siyatik sinir defekti modelinde uygulamış ve NRF-2 ve S100 boyaması ile kondüit grubunda rejenere olan sinirlerin kontrol grubuna göre anlamlı daha iyi boyandığı tespit edilmiş [99]. Yine 2024 yılında Sara ve ark., yaptığı çalışmada, sıçanda siyatik sinir modelinde L-cysteinin etkileri araştırılmış ve L-cystein verildiğinde reperfüzyon hasarının azaldığı ve NRF-2 düzeylerinin artarak sinir rejenerasyonunu artırdığı gösterilmiş [100]. Biz de çalışmamızda, IGF-1 LR3 salınımlı deselülerize bitki sapı kaynaklı konduitin, sinir greftleri ve ticari konduite göre sinir rejenerasyonunu iyileştirmede myelin kılıfı kalınlığı ile orantılı değerlendirmek için literatüre uyumlu olarak S100 değerlerini istatistiki olarak karşılaştırdık. Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak kesitlerde rejenerasyonun yüksek olduğu akson kesit bölgesinde S100 değerlerinin de yüksek olduğu görüldü.

Diğer yandan sinir rejenerasyonu sırasında aksonal uzama açısından en önemli klavuz rolü oynayan ve rejenerasyon kapasitesini belirleyen hücre olan Schwann hücreleri için in-vitro kültürlerde net bir biyomarker olmamasına rağmen 2015 yılında Liu ve ark., tarafından yapılan bir çalışmada SOX10 ve S100'ün prolifere olan schwann hücrelerinde yüksek oranda exprese edildiği gösterilmiştir. S100 proteinleri kalsiyum bağlayıcı alanlar içerir ve intraselüler ve extraselüler olayları düzenler. Usher ve ark., tarafından 2012 yılında yapılan bir çalışmada, travmatik beyin hasarı olgularında S100'ün marker olarak kullanılabileceğini göstermiştir [101]. Yine 2015 yılında Wang ve ark., tarafından yapılan çalışmada S100'ün Schwann hücrelerinin proliferasyonu gösteren bir marker olduğu gösterilmiştir. Etki mekanizması olarak da Holger ve ark., yaptığı bir çalışmada S100 aracılığıyla sinir hücre membranında Ca^{+2} aracılığıyla GABA transportunun artması ve bu da sinir rejenerasyonunun regülasyonu sağladığı gösterilmiştir [102]. Biz de çalışmamızda, IGF-1 LR3 salınımlı deselülerize bitki sapı kaynaklı konduitin, sinir greftleri ve ticari konduite göre sinir rejenerasyonunu iyileştirmede myelin kılıfı kalınlığı ile orantılı değerlendirmek için literatüre uyumlu olarak S100 değerlerini istatistiki olarak karşılaştırdık. Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak kesitlerde rejenerasyonun yüksek olduğu akson kesit bölgesinde S100 değerlerinin de yüksek olduğu görüldü.

Myelin basic protein (MBP), Schwann hücreleri tarafından üretilen myelin kılıfın major komponentlerini oluşturan protein yapılarıdır. Bu proteinler, myelin kılıfın kalınlığını ve sentezinin düzenlenmesini artırmakta ve artan myelin sinir rejenerasyonunu ve ileti hızını regüle etmektedir. Yapılan bir çalışmada, auditory sinir üzerinde MBP protein ekspresyonunun azalmasının yaşlılığa bağlı işitme kaybına sebep olduğu gösterilmiştir [103]. Ayrıca MBP sayesinde schwann hücrelerinin ürettiği myelin kılıfı ile aksonal membran arasındaki bağlantı regülasyonu sağlanarak sinir rejenerasyonu sırasında gerekli olan aksonal transport yönlendirilmektedir ve birçok hayvan çalışmasında gösterilmiştir [104–106]. Sanjoy ve ark., tarafından yapılan bir çalışmada, erişkin periferik sinirlerin crush hasarı sonrasında 4-7.günde MBP düzeylerinin en düşük seviyede olduğu ancak 3.haftaya doğru MBP miktarlarının arttığı ve bunla korele olarak myelin kalınlığının arttığını göstermiştir [107]. Kuhn ve ark., tarafından yapılan başka bir çalışmada, sinir yaralanması görülen sıçanlarda distal aksonal güdük bölgesinde demyelinasyon alanlarında MBP ve Periferik myelin protein-22 (PMP-22) düzeylerinin Schwann hücrelerinde azaldığı, proksimal ve distal aksonal güdükler dikildikten sonra rejenerasyon sürecinde MBP düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir [108]. Birçok konduit üretim çalışmalarında, sinir konduiti uygulandıktan sonra rejenere olan bölgelerde myelin kılıfı kalınlığı ile doğru orantılı olarak MBP düzeylerinin de yüksek olduğu ve aksonal sayı ve iletinin de arttığı gösterilmiştir [109–111]. Biz de çalışmamızda, IGF-1 LR3 salınımlı deselülerize bitki sapı kaynaklı konduitin, sinir greftleri ve ticari konduite göre sinir rejenerasyonunu iyileştirmede myelin kılıfı kalınlığı ile orantılı değerlendirmek için literatüre uyumlu olarak MBP değerlerini istatistiki olarak karşılaştırdık. Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak kesitlerde rejenerasyonun yüksek olduğu akson kesit bölgesinde MBP değerlerinin de yüksek olduğu görüldü.

Bizim çalışmamızda incelediğimiz histopatolojik ve immünohistokimyasal sonuçlar (NRF-2, S100, MBP) total olarak birlikte değerlendirildiğinde, proksimal, orta ve distal kesitlerin tümünde akson sayıları ve myelin kılıf kalınlığı IGF-1 LR3 salınımı yapan deselülerize bitki sapı konduit grubunda, sinir grefti grubu ve ticari konduit grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Ayrıca MBP ve NRF-2 immunohistokimyasal boyamalarda da IGF-1 LR3 salınımı yapan deselülerize bitki sapı konduit grubunda sinir grefti grubu ve ticari konduit konduit grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Ancak ilaçsız salınımsız deselülerize bitki sapı konduiti

grubunda hem sinir grefti hem de ticari konduit grubuna göre anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir. Bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, IGF-1 LR3 salınımı yapan deselülerize bitki sapı konduitinin sinir greftine göre daha başarılı düzeyde aksonal rejenerasyonu sağladığını görmekteyiz. Ancak ilaç salınımı yapmayan deselülerize bitki sapı grubunda sinir greftine kıyasla anlamlı bir fark tespit edilememiş olması sebebiyle aslında konduit içerisinde niozom aracılığıyla kontrollü IGF-1 LR3 salınımı aksonal rejenerasyonu hızlandırmada ve artırmada ek bir katkı sağladığını düşündürmektedir. Ancak, hem MT hem de H/E boyama ile kas incelemesine bakıldığında; IGF-1 LR3 salınımı yapan grupta ilaç salınımsız konduit grubu ve sinir greftlerine göre anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. IGF-1 LR3 salınımı akson sayılarının ve myelin kılıfı kalınlığının yüksek olmasını ve sinir rejenerasyonu hızlandırmış olsa da kaslar üzerinde herhangi bir fonksiyonel katkıda ek katkı gözlenmemiştir. Ön planda; sıçanların çok yüksek rejeneratif kapasitesinden dolayı 12. haftada doğal olarak kaslarda yüksek rejenerasyon sağlanmış olabilitesi ve bu da kas fibrillerinin histopatolojik değerlendirmesinde anlamlı bir fark olmamasına sebep olmuş olabileceğini düşündürmektedir. Aynı zamanda 12.haftada SFI göre yürüme analizi sonuçlarında da anlamlı bir fark tespit edilememiş olması da bu hipotezi desteklemektedir. Ayrıca özellikle ilk 8 haftalık değerlendirmelerde de IGF-1 LR3 salınımı yapan deselülerize bitki sapı konduiti grubunda hem aksonal rejenerasyon ve myelin kılıfı kalınlığının diğer gruplara göre yüksek olması hem de yürüme analizinde de anlamlı olarak fonksiyonel iyileşme olması da IGF-1 LR3'ün intrinsik aksonal rejenerasyonu ve bunun yansıması olarak da fonksiyonel faydasının olduğunu ve sıçan siyatik sinirin kas rejenerasyonuna etkisinin değerlendirilmesi için en etkin sürenin 8.haftaya kadar olan değerlendirmenin yeterli olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızın bir diğer değerlendirme basamağı olarak da fonksiyonel sonuçları incelemek sinir rejenerasyonunu değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Literatürde çeşitli değerlendirme yöntemleri mevcuttur, ancak uygun bir seçim araştırmacı için kritik bir nokta olmaya devam etmektedir. Siyatik sinir hasarı olan sıçanlar tipik olarak ayağın dış rotasyonu ile hareket eder. Fonksiyonel iyileşme sırasında, iyileşme derecesini değerlendirmek için Siyatik Fonksiyonel İndeks (SFI) olarak bilinen, ayak izlerini inceleyerek arka bacak performansını analiz etme yöntemi ile farklı uzunluklar hesaplanmış ve bir SFI formülüne dahil edilerek değerlendirilmiş ve nihai haline 1989 yılında Bain ve ark., tarafından getirilmiştir. O dönemden itibaren

birçok araştırmacı tarafından onarım sonrası siyatik sinir fonksiyonunu ölçmek için önemli bir değerlendirme olarak kabul edilmiştir. Biz de çalışmamızda, fonksiyonel değerlendirme için SFI ölçümü yaptık. Sonuçlar toplu olarak incelendiğinde 4 ve 8. haftada bitki deselülarizasyonu ile elde ettiğimiz ilaç salınımlı grubun tüm gruplara göre anlamlı olarak iyileşme sağladığını; ilaç salınımsız sinir kondüiti grubu da sinir grefti ile benzer oranda iyileşme sağlarken, ticari kondüit grubuna göre daha iyi sonuçlar olduğunu görmüş olduk. Bu sonuca bakıldığında, IGF-1 LR3 salınımı yapan konduitler, ilaç salınımı yapmayan deselülerize bitki sapı konduitlerine göre de sinir greftlerine göre de histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak aksonal rejenerasyonu artırmasının yanında artmış aksonal rejeneratif kapasite fonksiyonel olarak da anlamlı iyileşmesine yansımış olduğunu da göstermiş olmaktadır. Bu da bize IGF-1 LR3'ün ilk 8 haftada belirgin olarak sinir iyileşmesini artırdığını göstermektedir. Ancak 12. haftada SFI değerlendirilmesine bakıldığında ilaç salınımlı ve ilaç salınımsız, sinir grefti ve ticari konduit grupları arasında anlamlı fark saptanmadı. Bu da 8.haftadan sonra sıçanların yüksek iyileşme kapasitesine sahip olmasından dolayı tüm gruplarda doğal olarak kullanılan yöntemden bağımsız olarak daha yüksek rejenerasyon sonuçlarının elde edilmiş olabileceği hipotezimizin doğruluğunu güçlendirmektedir.

Fonksiyonel değerlendirme için SFI yürüme analizi dışında çalışmamızda elektrofizyolojik çalışma ile gastrocunemius kas amplitüde ölçümü, temel kas sarkolemmal kasılması mekanizmasına dayanmaktadır. Sinirin proksimaline verilen uyarı kas içerisine yerleştirilen elektrod ile alınan amplitüde ne kadar yüksekse aksonal rejenerasyon o kadar iyi olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Literatür incelendiğinde, 0.1 mA altında 0.5-1 ms arasında verilen uyarıların en etkin uyarılar olduğu gösterilmiş olup bunun üzerindeki uyarılarda kasılan sarkolemmal gerginliğin düştüğü ve elde edilen sonuçların düşmeye başlandığı gözlenmiştir [112]. Çalışmamızda da literatürle uyumlu olacak şekilde en yüksek amplitüd değerlerini 0.1 mA altında yapılan uyarılarda aldığımız için tüm grupları bu şekilde inceledik. Yaptığımız değerlendirme sonucunda, ilaçlı kondüit grubunda en yüksek sonuçları elde etmemize rağmen sinir gretfi uygulanan grup ve ilaç salınımsız gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde, yine bitki deselülarizasyonu ile elde ettiğimiz kondüit grubunun sinir greftine alternatif olabilecek düzeyde iyi bir rejenerasyon sağlayarak kas kontraksiyonunu

kazandırdığını göstermiş olmaktayız. Ancak IGF-1 LR3'ün ekstra bir fark oluşturmamış olması SFI indeksi kısmında da belirttiğimiz gibi 12.haftada sıçanların çok yüksek rejeneratif kapasite sonrasında fonksiyonel olarak iyileşmenin daha iyi olması ve ayak ölçümlerini birden fazla kas grubu etkilemesi sebebiyle 12.haftada anlamlı bir fark izlenmediğini düşünmekteyiz. İlk 8 haftada aksonal sayının yüksek olması, SFI yürüme analizi sonuçları ile de değerlendirildiğinde ilk 8 haftalık dönemde IGF-1 LR3'ün sinir iyileşmesini daha fazla indüklediği ve sinir greftleri ile karşılaştırıldığında daha iyi sonuçlar elde ettiğimizi ve bu amaçla deselülerize Alstroemeria çiçeğinden elde ettiğimiz sinir konduitlerinin sinir rejenerasyon çalışmalarında etkinliğini göstermekte ve sinir grefti ile onarıma alternatif olabilecek bir yöntem olduğunu düşündürmektedir.

6. SONUÇ

Bu çalışmamız, bir bitki sapının deselülerizasyonu ile elde edilmiş ilk sinir konduiti çalışması olmuştur. Kontrollü IGF-1 LR3 salınımı yapan deselülerize Alstroemaria çiçek sapından elde ettiğimiz sinir konduiti ile sinir greftlerinin dezavantajlarının önüne geçmek, çok hızlı ve düşük maliyetli olabilecek ve insan dışı hücrelerden kaynaklı bir sinir konduiti olarak sinir rejenerasyonu üzerine etkinliğini incelemeyi amaçladık. Çalışmamızda, ilaç salınımı yapmayan deselülerize kondüitlerin sinir rejenerasyonu üzerine sinir greftleri ile benzer etki gösterirken, özellikle IGF-1 LR3 salınımı yapan kondüitlerin sinir rejenerasyonunu daha da indüklediğini gözlemledik. Bu amaçla, daha ucuz ve herhangi bir toksik etkisi bulunmayan deselülerize bitki saplarından elde ettiğimiz ve IGF-1 LR3 salınımı yapan deselülerize edilmiş Alstroemeria bitki sapından elde ettiğimiz kondüitlerin sinir grefti ile onarıma kıyasla daha iyi sinir rejenerasyonu sağlaması, hızlı ve seri üretim ile sinir iyileşmesi çalışmaları için yenilikçi bir yaklaşım getirecektir. Daha farklı bitkilerin deselülerizasyonu ve farklı mekanizmada etkili ilaçların kullanılarak sinir rejenerasyonu çalışmalarına farklı bir bakış açısı kazandırdığımızı ve bu çalışmaların artacağını düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Catala M, Kubis N. Gross anatomy and development of the peripheral nervous system. In 2013. p. 29–41.
2. Brück W. The Role of Macrophages in Wallerian Degeneration. Brain Pathology. 1997 Apr 28;7(2):741–52.
3. Kubota S, Nishiura Y, Hara Y, Saijilafu, Abe I, Ochiai N. FUNCTIONAL AND MORPHOLOGICAL EFFECTS OF INDIRECT GRADUAL ELONGATION OF PERIPHERAL NERVE: ELECTROPHYSIOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL CHANGES AT DIFFERENT ELONGATION RATES. Hand Surgery. 2011 Jan 20;16(02):105–11.
4. Kornfeld T, Vogt PM, Radtke C. Nerve grafting for peripheral nerve injuries with extended defect sizes. Wiener Medizinische Wochenschrift. 2019 Jun 13;169(9–10):240–51.
5. Houshyar S, Bhattacharyya A, Shanks R. Peripheral Nerve Conduit: Materials and Structures. ACS Chem Neurosci. 2019 Aug 21;10(8):3349–65.
6. Lackington WA, Ryan AJ, O'Brien FJ. Advances in Nerve Guidance Conduit-Based Therapeutics for Peripheral Nerve Repair. ACS Biomater Sci Eng. 2017 Jul 10;3(7):1221–35.
7. Matsumoto K, Ohnishi K, Kiyotani T, Sekine T, Ueda H, Nakamura T, et al. Peripheral nerve regeneration across an 80-mm gap bridged by a polyglycolic acid (PGA)–collagen tube filled with laminin-coated collagen fibers: a histological and electrophysiological evaluation of regenerated nerves. Brain Res. 2000 Jun;868(2):315–28.
8. Song JJ, Ott HC. Organ engineering based on decellularized matrix scaffolds. Trends Mol Med. 2011 Aug;17(8):424–32.
9. Rabbani M, Salehani AA, Farnaghi M, Moshtaghi M. Plant Decellularization by Chemical and Physical Methods for Regenerative Medicine: A Review Article. J Med Signals Sens. 2024 Apr;14(4).
10. MURPHY RW. Nerve Roots and Spinal Nerves in Degenerative Disk Disease. Clin Orthop Relat Res. 1977 Nov;129:46.
11. Akinrodoye MA, Lui F. Neuroanatomy, Somatic Nervous System. 2024.
12. Cesmebasi A. Anatomy of the Cervical Plexus and Its Branches. In: Nerves and Nerve Injuries. Elsevier; 2015. p. 441–9.
13. Hacking C. Cervical plexus (diagram). In: Radiopaedia.org. Radiopaedia.org; 2015.
14. St-Amant M, Knipe H. Brachial plexus. In: Radiopaedia.org. Radiopaedia.org; 2013.
15. Roy J, Henry BM, PĘkala PA, Vikse J, Saganiak K, Walocha JA, et al. Median and ulnar nerve anastomoses in the upper limb: A meta-analysis. Muscle Nerve. 2016 Jun 27;54(1):36–47.
16. Masear VR, Meyer RD, Pichora DR. Surgical anatomy of the medial antebrachial cutaneous nerve. J Hand Surg Am. 1989 Mar;14(2):267–71.
17. Bono CM, Grossman MG, Hochwald N, Tornetta P. Radial and axillary nerves. Anatomic considerations for humeral fixation. Clin Orthop Relat Res. 2000 Apr;(373):259–64.
18. Robertson S, Hacking C. Lumbar plexus. In: Radiopaedia.org. Radiopaedia.org; 2015.

19. Klaassen Z, Marshall E, Tubbs RS, Louis RG, Wartmann CT, Loukas M. Anatomy of the ilioinguinal and iliohypogastric nerves with observations of their spinal nerve contributions. Clin Anat. 2011 May;24(4):454–61.
20. Whiteside JL, Barber MD, Walters MD, Falcone T. Anatomy of ilioinguinal and iliohypogastric nerves in relation to trocar placement and low transverse incisions. Am J Obstet Gynecol. 2003 Dec;189(6):1574–8.
21. Grothaus MC, Holt M, Mekhail AO, Ebraheim NA, Yeasting RA. Lateral Femoral Cutaneous Nerve. Clin Orthop Relat Res. 2005 Aug;NA;(437):164–8.
22. Yoshida T, Nakamoto T, Kamibayashi T. Ultrasound-Guided Obturator Nerve Block: A Focused Review on Anatomy and Updated Techniques. Biomed Res Int. 2017;2017:1–9.
23. MacManus D, Knipe H. Sacral plexus. In: Radiopaedia.org. Radiopaedia.org; 2014.
24. Giuffre BA, Black AC, Jeanmonod R. Anatomy, Sciatic Nerve. 2024.
25. Tomaszewski KA, Graves MJ, Henry BM, Popieluszko P, Roy J, Pękala PA, et al. Surgical anatomy of the sciatic nerve: A meta-analysis. Journal of Orthopaedic Research. 2016 Oct 22;34(10):1820–7.
26. Sonne J, Lopez-Ojeda W. Neuroanatomy, Cranial Nerve. 2024.
27. Bell D, Gaillard F. Cranial nerves. In: Radiopaedia.org. Radiopaedia.org; 2008.
28. Romano N, Federici M, Castaldi A. Imaging of cranial nerves: a pictorial overview. Insights Imaging. 2019 Dec 15;10(1):33.
29. Muzio MR, Fakoya AO, Cascella M. Histology, Axon. 2024.
30. Stojić D, Radošević D, Rajković N, Marić DL, Milošević NT. Classification by morphology of multipolar neurons of the human principal olivary nucleus. Neurosci Res. 2021 Sep;170:66–75.
31. Kidd GJ, Ohno N, Trapp BD. Biology of Schwann cells. In 2013. p. 55–79.
32. Bunge RP. Glial cells and the central myelin sheath. Physiol Rev. 1968 Jan;48(1):197–251.
33. Bilbao JM, Schmidt RE. Schwann Cells and Myelin in the Peripheral Nervous System. In: Biopsy Diagnosis of Peripheral Neuropathy. Cham: Springer International Publishing; 2015. p. 85–109.
34. Poliak S, Peles E. The local differentiation of myelinated axons at nodes of Ranvier. Nat Rev Neurosci. 2003 Dec 1;4(12):968–80.
35. Mohamad Shariati SA, Behmanesh M, Galehdari H. A Study of the Association between SNP8NRG241930 in the 5' End of Neuroglin 1 Gene with Schizophrenia in a Group of Iranian Patients. Cell J. 2011;13(2):91–6.
36. Haller FR, Low FN. The fine structure of the peripheral nerve root sheath in the subarachnoid space in the rat and other laboratory animals. American Journal of Anatomy. 1971 May 3;131(1):1–19.
37. THOMAS PK. The connective tissue of peripheral nerve: an electron microscope study. J Anat. 1963 Jan;97(Pt 1):35–44.
38. Lorimier P, Mezin P, Labat Moleur F, Pinel N, Peyrol S, Stoebner P. Ultrastructural localization of the major components of the extracellular matrix in normal rat nerve. Journal of Histochemistry & Cytochemistry. 1992 Jun 5;40(6):859–68.
39. Paetau A, Mellstr□m K, Vaheri A, Haltia M. Distribution of a major connective tissue protein, fibronectin, in normal and neoplastic human nervous tissue. Acta Neuropathol. 1980;51(1):47–51.

40. Reina MA, Machés F, De Diego-Isasa P, Del Olmo C. Ultrastructure of the Endoneurium. In: Atlas of Functional Anatomy for Regional Anesthesia and Pain Medicine. Cham: Springer International Publishing; 2015. p. 37–57.
41. Sparrow JR, Kiernan JA. Endoneurial vascular permeability in degenerating and regenerating peripheral nerves. Acta Neuropathol. 1981;53(3):181–8.
42. Newbern JM. Molecular Control of the Neural Crest and Peripheral Nervous System Development. In 2015. p. 201–31.
43. Prendergast A, Raible DW. Neural Crest Cells and Peripheral Nervous System Development. In: Neural Crest Cells. Elsevier; 2014. p. 255–86.
44. Buckingham M, Vincent SD. Distinct and dynamic myogenic populations in the vertebrate embryo. Curr Opin Genet Dev. 2009 Oct;19(5):444–53.
45. Gonzalez-Fernandez F. Development of the Retina. In: Pediatric Retina. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2011. p. 1–37.
46. Klassen SA, Limberg JK, Baker SE, Nicholson WT, Curry TB, Joyner MJ, et al. The role of the paravertebral ganglia in human sympathetic neural discharge patterns. J Physiol. 2018 Sep 19;596(18):4497–510.
47. Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. Neurosurg Focus. 2004 May;16(5):1–7.
48. Dellon AL. Re: Nevroapraxia. Ann Plast Surg. 2005 Jul;55(1):112–3.
49. Osborne NR, Anastakis DJ, Davis KD. Peripheral nerve injuries, pain, and neuroplasticity. Journal of Hand Therapy. 2018 Apr;31(2):184–94.
50. Saffari TM, Bedar M, Zuidam JM, Shin AY, Baan CC, Hesselink DA, et al. Exploring the neuroregenerative potential of tacrolimus. Expert Rev Clin Pharmacol. 2019 Nov 2;12(11):1047–57.
51. Charras G, Paluch E. Blebs lead the way: how to migrate without lamellipodia. Nat Rev Mol Cell Biol. 2008 Sep 16;9(9):730–6.
52. Pannell WC, Heckmann N, Alluri RK, Sivasundaram L, Stevanovic M, Ghiassi A. Predictors of Nerve Injury After Gunshot Wounds to the Upper Extremity. HAND. 2017 Sep 24;12(5):501–6.
53. Santos EB dos, Fernandes M, Santos JBG dos, Leite VM, Valente SG, Faloppa F. Estudo da regeneração de nervos tibiais de ratos Wistar em sutura primária com “gap” e sem “gap”, cobertos por segmentos de veia. Acta Ortop Bras. 2012;20(3):165–9.
54. Ghoraba SM, Mahmoud WH, Elsergany MA, Ayad HM. Ulnar Nerve Injuries (Sunderland Grade V): A Simplified Classification System and Treatment Algorithm. Plast Reconstr Surg Glob Open. 2019 Nov;7(11):e2474.
55. Hanna AS, Mickelson E, Omar AH, Baer M, Sveum J, Marti T, et al. Comparison of nylon, vicryl, and fibrin glue for nerve grafting in rats. Neurol Res. 2024 Jul 15;1–10.
56. Ülkür E, Yüksel F, Açikel C, Okar İ, Çeliköz B. Comparison of functional results of nerve graft, vein graft, and vein filled with muscle graft in end-to-side neurorrhaphy. Microsurgery. 2003 Jan 26;23(1):40–8.
57. Millesi H. Bridging defects: autologous nerve grafts. In p. 37–8.
58. Houshyar S, Bhattacharyya A, Shanks R. Peripheral Nerve Conduit: Materials and Structures. ACS Chem Neurosci. 2019 Aug 21;10(8):3349–65.
59. Wang J, Cheng Y, Wang H, Wang Y, Zhang K, Fan C, et al. Biomimetic and hierarchical nerve conduits from multifunctional nanofibers for guided peripheral nerve regeneration. Acta Biomater. 2020 Nov;117:180–91.

60. Weinstein S. Fifty years of somatosensory research: from the Semmes-Weinstein monofilaments to the Weinstein Enhanced Sensory Test. J Hand Ther. 1993;6(1):11–22; discussion 50.
61. Borenstein S, Desmedt JE. Range of variations in motor unit potentials during reinnervation after traumatic nerve lesions in humans. Ann Neurol. 1980 Nov 7;8(5):460–7.
62. Houshyar S, Bhattacharyya A, Shanks R. Peripheral Nerve Conduit: Materials and Structures. ACS Chem Neurosci. 2019 Aug 21;10(8):3349–65.
63. Yan X, Wang J, He Q, Xu H, Tao J, Koral K, et al. PDLLA/β-TCP/HA/CHS/NGF Sustained-release Conduits for Peripheral Nerve Regeneration. Journal of Wuhan University of Technology-Mater Sci Ed. 2021 Aug 29;36(4):600–6.
64. Qin HJ, Li H, Chen JZ, Zhang KR, Zhao XQ, Qin JQ, et al. Artificial nerve graft constructed by coculture of activated Schwann cells and human hair keratin for repair of peripheral nerve defects. Neural Regen Res. 2023;18(5):1118.
65. Stang F, Keilhoff G, Fansa H. Biocompatibility of Different Nerve Tubes. Materials. 2009 Sep 30;2(4):1480–507.
66. Lin KM, Shea J, Gale BK, Sant H, Larrabee P, Agarwal J. Nerve growth factor released from a novel PLGA nerve conduit can improve axon growth. Journal of Micromechanics and Microengineering. 2016 Apr 1;26(4):045016.
67. Toba T, Shimizu Y, Nakamura T, Lynn AK, Matsumoto K, Fukuda S, et al. Evaluation of Peripheral nerve Regeneration across an 80-mm Gap using a Polyglycolic Acid (PGA) - Collagen Nerve Conduit Filled with Laminin-soaked Collagen Sponge in Dogs. Int J Artif Organs. 2002 Mar 24;25(3):230–7.
68. Reid AJ, de Luca AC, Faroni A, Downes S, Sun M, Terenghi G, et al. Long term peripheral nerve regeneration using a novel PCL nerve conduit. Neurosci Lett. 2013 Jun;544:125–30.
69. Mao X, Li T, Cheng J, Tao M, Li Z, Ma Y, et al. Nerve ECM and PLA-PCL based electrospun bilayer nerve conduit for nerve regeneration. Front Bioeng Biotechnol. 2023 Mar 2;11.
70. Liu X, Hao F, Hao P, Zhang J, Wang L, You SW, et al. Regeneration and functional recovery of the completely transected optic nerve in adult rats by CNTF-chitosan. Signal Transduct Target Ther. 2023 Feb 27;8(1):81.
71. Zhang J, Lineaweaver W, Oswald T, Chen Z, Chen Z, Zhang F. Ciliary Neurotrophic Factor for Acceleration of Peripheral Nerve Regeneration: An Experimental Study. J Reconstr Microsurg. 2004 Apr 19;20(04):323–7.
72. Xu X, Yee WC, Hwang PYK, Yu H, Wan ACA, Gao S, et al. Peripheral nerve regeneration with sustained release of poly(phosphoester) microencapsulated nerve growth factor within nerve guide conduits. Biomaterials. 2003 Jun;24(13):2405–12.
73. HOBSON MI, GREEN CJ, TERENGHI G. VEGF enhances intraneural angiogenesis and improves nerve regeneration after axotomy. J Anat. 2000 Nov 13;197(4):591–605.
74. Fansa H, Schneider W, Wolf G, Keilhoff G. Host responses after acellular muscle basal lamina allografting used as a matrix for tissue engineered nerve grafts1. Transplantation. 2002 Aug;74(3):381–7.

75. Park J, Jeon J, Kim B, Lee MS, Park S, Lim J, et al. Electrically Conductive Hydrogel Nerve Guidance Conduits for Peripheral Nerve Regeneration. Adv Funct Mater. 2020 Sep 12;30(39).
76. Adamski M, Fontana G, Gershlak JR, Gaudette GR, Le HD, Murphy WL. Two Methods for Decellularization of Plant Tissues for Tissue Engineering Applications. Journal of Visualized Experiments. 2018 May 31;(135).
77. Gershlak JR, Hernandez S, Fontana G, Perreault LR, Hansen KJ, Larson SA, et al. Crossing kingdoms: Using decellularized plants as perfusable tissue engineering scaffolds. Biomaterials. 2017 May;125:13–22.
78. Zhu Y, Zhang Q, Wang S, Zhang J, Fan S, Lin X. Current Advances in the Development of Decellularized Plant Extracellular Matrix. Front Bioeng Biotechnol. 2021 Jul 21;9.
79. Bridgen MP. Alstroemeria. In 2018. p. 231–6.
80. Lim SS, Lee SI, Kang SC, Kim JB. Alstroemeria plants and its biotechnological applications. J Plant Biotechnol. 2012 Dec 31;39(4):219–24.
81. Esmaeili J, Jadbabaee S, Far FM, Lukolayeh ME, Kırboğa KK, Rezaei FS, et al. Decellularized Alstroemeria flower stem modified with chitosan for tissue engineering purposes: A cellulose/chitosan scaffold. Int J Biol Macromol. 2022 Apr;204:321–32.
82. Tahimic CGT, Wang Y, Bikle DD. Anabolic effects of IGF-1 signaling on the skeleton. Front Endocrinol (Lausanne). 2013;4.
83. Boucher J, Tseng YH, Kahn CR. Insulin and Insulin-like Growth Factor-1 Receptors Act as Ligand-specific Amplitude Modulators of a Common Pathway Regulating Gene Transcription. Journal of Biological Chemistry. 2010 May;285(22):17235–45.
84. Conlon MA, Tomas FM, Owens PC, Wallace JC, Howarth GS, Ballard FJ. Long R3 insulin-like growth factor-I (IGF-I) infusion stimulates organ growth but reduces plasma IGF-I, IGF-II and IGF binding protein concentrations in the guinea pig. Journal of Endocrinology. 1995 Aug;146(2):247–53.
85. Biondi O, Branchu J, Ben Salah A, Houdebine L, Bertin L, Chali F, et al. IGF-1R Reduction Triggers Neuroprotective Signaling Pathways in Spinal Muscular Atrophy Mice. Journal of Neuroscience. 2015 Aug 26;35(34):12063–79.
86. Babilotte J, Guduric V, Le Nihouannen D, Naveau A, Fricain J, Catros S. 3D printed polymer–mineral composite biomaterials for bone tissue engineering: Fabrication and characterization. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2019 Nov 8;107(8):2579–95.
87. Kazi KM, Mandal AS, Biswas N, Guha A, Chatterjee S, Behera M, et al. Niosome: A future of targeted drug delivery systems. J Adv Pharm Technol Res. 2010 Oct;1(4):374–80.
88. Kowalczyk D, Pytka M, Szymanowska U, Skrzypek T, Łupina K, Biendl M. Release kinetics and antibacterial activity of potassium salts of iso-α-acids loaded into the films based on gelatin, carboxymethyl cellulose and their blends. Food Hydrocoll. 2020 Dec;109:106104.
89. Demir B, Moulahoum H, Ghorbanizamani F, Barlas FB, Yesiltepe O, Gumus ZP, et al. Carbon dots and curcumin-loaded CD44-Targeted liposomes for imaging and tracking cancer chemotherapy: A multi-purpose tool for theranostics. J Drug Deliv Sci Technol. 2021 Apr;62:102363.

90. Modulevsky DJ, Lefebvre C, Haase K, Al-Rekabi Z, Pelling AE. Apple Derived Cellulose Scaffolds for 3D Mammalian Cell Culture. PLoS One. 2014 May 19;9(5):e97835.
91. Gershlak JR, Hernandez S, Fontana G, Perreault LR, Hansen KJ, Larson SA, et al. Crossing kingdoms: Using decellularized plants as perfusable tissue engineering scaffolds. Biomaterials. 2017 May;125:13–22.
92. Fontana G, Gershlak J, Adamski M, Lee J, Matsumoto S, Le HD, et al. Biofunctionalized Plants as Diverse Biomaterials for Human Cell Culture. Adv Healthc Mater. 2017 Apr 20;6(8).
93. Predeina AL, Dukhinova MS, Vinogradov V V. Bioreactivity of decellularized animal, plant, and fungal scaffolds: perspectives for medical applications. J Mater Chem B. 2020;8(44):10010–22.
94. Sun X, Wang Y, Guo Z, Xiao B, Sun Z, Yin H, et al. Acellular Cauda Equina Allograft as Main Material Combined with Biodegradable Chitin Conduit for Regeneration of Long-Distance Sciatic Nerve Defect in Rats. Adv Healthc Mater. 2018 Sep 25;7(17).
95. Stålberg E, van Dijk H, Falck B, Kimura J, Neuwirth C, Pitt M, et al. Standards for quantification of EMG and neurography. Clinical Neurophysiology. 2019 Sep;130(9):1688–729.
96. Kubo T, Yamashita T, Yamaguchi A, Hosokawa K, Tohyama M. Analysis of genes induced in peripheral nerve after axotomy using cDNA microarrays. J Neurochem. 2002 Sep 3;82(5):1129–36.
97. Hsu CC, Huang HC, Wu PT, Tai TW, Jou IM. Sesame oil improves functional recovery by attenuating nerve oxidative stress in a mouse model of acute peripheral nerve injury: role of Nrf-2. J Nutr Biochem. 2016 Dec;38:102–6.
98. Schumacher PA, Eubanks JH, Fehlings MG. Increased calpain I-mediated proteolysis, and preferential loss of dephosphorylated NF200, following traumatic spinal cord injury. Neuroscience. 1999 Jun;91(2):733–44.
99. Jahromi M, Razavi S, Seyedebrahimi R, Reisi P, Kazemi M. Regeneration of Rat Sciatic Nerve Using PLGA Conduit Containing Rat ADSCs with Controlled Release of BDNF and Gold Nanoparticles. Journal of Molecular Neuroscience. 2021 Apr 7;71(4):746–60.
100. Hafez SMNA, abdelhafez ESMN. The possible protective effect of l-cysteine in a rat model of sciatic nerve ischemia-reperfusion: A possible role for NRF1 and Caspase 3; Biochemical, Histological, and Immunohistochemical study. J Chem Neuroanat. 2024 Apr;137:102412.
101. Liu G min, Xu K, Li J, Luo Y gang. Curcumin upregulates S100 expression and improves regeneration of the sciatic nerve following its complete amputation in mice. Neural Regen Res. 2016;11(8):1304.
102. Hydén H, Lange PW, Larsson S. S100-glia regulation of GABA transport across the nerve cell membrane. J Neurol Sci. 1980 Mar;45(2–3):303–16.
103. Guipponi M, Tan J, Cannon PZF, Donley L, Crewther P, Clarke M, et al. Mice Deficient for the Type II Transmembrane Serine Protease, TMPRSS1/hepsin, Exhibit Profound Hearing Loss. Am J Pathol. 2007 Aug;171(2):608–16.
104. Black JA, Foster RE, Waxman SG. Rat optic nerve: Freeze-fracture studies during development of myelinated axons. Brain Res. 1982 Oct;250(1):1–20.
105. Geren B Ben, Raskind J. Development of the Fine Structure of the Myelin Sheath in Sciatic Nerves of Chick Embryos. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1953 Aug;39(8):880–4.

106. Nave KA. Myelination and the trophic support of long axons. Nat Rev Neurosci. 2010 Apr 10;11(4):275–83.
107. Gupta SK, Poduslo JF, Mezei C. Temporal changes in PO and MBP gene expression after crush-injury of the adult peripheral nerve. Molecular Brain Research. 1988 Sep;4(2):133–41.
108. Kuhn G, Lie A, Wilms S, Müller HW. Coexpression of PMP22 gene with MBP and P $_0$ during de novo myelination and nerve repair. Glia. 1993 Jan 12;8(4):256–64.
109. Park SY, Ki CS, Park YH, Lee KG, Kang SW, Kweon HY, et al. Functional recovery guided by an electrospun silk fibroin conduit after sciatic nerve injury in rats. J Tissue Eng Regen Med. 2015 Jan;9(1):66–76.
110. Thibodeau A, Galbraith T, Fauvel CM, Khuong HT, Berthod F. Repair of peripheral nerve injuries using a prevascularized cell-based tissue-engineered nerve conduit. Biomaterials. 2022 Jan;280:121269.
111. Deng P, Chen F, Zhang H, Chen Y, Zhou J. Multifunctional Double-Layer Composite Hydrogel Conduit Based on Chitosan for Peripheral Nerve Repairing. Adv Healthc Mater. 2022 Jul 28;11(13).
112. Bonetto A, Andersson DC, Waning DL. Assessment of muscle mass and strength in mice. Bonekey Rep. 2015 Aug 19;4.