



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA DENEYSEL SİYATİK SİNİR
HASARI ÜZERİNE QUERCETİNİN ETKİLERİNİN
MORFOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Sibel TÜREDİ

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Esin YULUĞ

TRABZON – 2017

ONAY

Bu Tez Doktora Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur.

Prof. Dr. Engin Yenilmez

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı



Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Sibel Türedi'nin hazırladığı "Sıçanlarda deneysel siyatik sinir hasarı üzerine Quercetinin etkilerinin morfolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmesi" başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Esin Yuluğ



Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

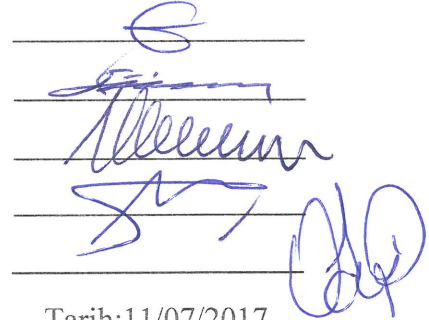
Prof. Dr. Engin Yenilmez

Prof. Dr. Esin Yuluğ

Prof. Dr. Ümit Çobanoğlu

Prof. Dr. Sevdâ Fatma Müftüoğlu

Prof. Dr. Oya Evirgen



Tarih:11/07/2017

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun / /2017 tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi, kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

15.06.2016
Sibel TÜREDİ

İthaf

Doktora tezimi tüm hayatım boyunca beni destekleyen, maddi, manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan aileme ve tez çalışmam boyunca desteklerini esirgemeyen sevdiklerime ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca birlikte çalıştığım, tüm sorularımı içtenlikle paylaşan, sahip oldukları fikirleri ile beni aydınlatan ve tükenmeyen enerjileri ile eğitimime katkıda bulunan sayın hocalarım; Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Engin YENİLMEZ, yüksek lisans ve doktora tez danışmanım; değerli hocam Prof. Dr. Esin YULUĞ, bölümümüzün değerli hocalarından kısa süre önce ani ve acı şekilde kaybettiğimiz değerli hocamız Prof. Dr. Ersan ODACI'ya, Prof. Dr. Yavuz TEKELİOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Gökçen KERİMOĞLU ve Tıbbi Biyokimya AD öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet ALVER'e, Patoloji AD Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ümit ÇOBANOĞLU'na,

Yüksek lisans ve doktora eğitim döneminin tüm heyecanını, stresini ve güzelliklerini birlikte yaşadığımız biricik dostum Araştırma Görevlisi Hatice HANCI'ya; tez çalışmamda desteklerini esirgemeyen Araştırma Görevlisi Ali KULABER'e, yüksek lisans öğrencisi Canan GÜNEY'e, Biyokimya AD doktora öğrencileri Akın BODUR ve İmran İNCE'ye, Patoloji AD görev yapan biyolog Mehmet Ali ÖZDEŞ'e,

Hayatım boyunca insan olmanın inceliklerini öğrendiğim, her an yanımda olan, benden desteğini, sevgisini ve sabrını esirgemeyen babam Ali TÜREDİ, annem Eşşe TÜREDİ ve ablam Seval TÜREDİ AYHAN'a, ülkenin en gergin ve stresli bölgesinde çalışmasına rağmen bana hep pozitif yaklaşan kardeşim Alper TÜREDİ'ye ve bana sürekli dua eden minik yeğenim Alpaslan AYHAN'a,

Ayrıca tez çalışmamı TDK-2015-5331 no'lu proje ile destekleyen KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Sibel TÜREDİ

Trabzon, 2017

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ONAY

BEYAN

İTHAF

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER DİZİNİ	1
TABLolar DİZİNİ	4
ŞEKİLLER DİZİNİ	5
RESİMLER DİZİNİ	6
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	9
1. ÖZET	11
2. SUMMARY	13
3. GİRİŞ ve AMAÇ	14
4. GENEL BİLGİLER	16
4.1. Siyatik Sinir Anatomisi	16
4.2. Siyatik Sinir Gelişimi	18
4.3. Periferik Sinir Histomorfolojisi	19
4.3.1. Periferik Sinirin Bağ Dokusu Tabakaları	21
4.3.1.1. Epinöryum	21
4.3.1.2. Perinöryum	22
4.3.1.3. Endonöryum	23
4.4. Periferik Sinir Yaralanma Şekilleri	23
4.4.1. Periferik Sinir Yaralanma Sınıflaması	24
4.4.2. Periferik Sinir Dejenerasyonu ve Rejenerasyonu	26
4.4.2.1. Histopatolojik Değişimler	26
4.5. Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistem	27
4.5.1. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	27
4.5.2. Antioksidan Sistem	30
4.6. Quercetin	31
4.6.1. Yapısı ve Emilimi	31
4.6.2. Quercetin'in Yaygın Etkileri	32

4.7. Apopitozis	34
5. GEREÇ ve YÖNTEM	37
5.1. Deneyisel Çalışma Aşaması	37
5.1.1. Deney Hayvanları ve Etik Prosedür	37
5.1.2. Laboratuvar Koşulları	37
5.1.3. Vücut Ağırlığının Belirlenmesi	37
5.1.4. Deney Gruplarının Belirlenmesi ve Uygulama Planı	38
5.1.5. Sinir Hasarının Oluşturulması	39
5.1.6. Kan ve Doku Numunelerinin Toplanması	40
5.2. Sıçan Siyatik Sinir ve Gastroknemius Kas Dokularına Ait Histopatolojik Preparasyon ve Değerlendirme	41
5.2.1. Toluidine Blue Hazırlama Prosedürü	42
5.2.2. Epon Karışımı Hazırlama Materyali Prosedürü	42
5.2.3. Işık Mikroskobu İçin Doku Hazırlama Prosedürü	43
5.2.4. Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi	43
5.3. İmmünohistokimyasal İşlemler	44
5.3.1. TUNEL Boyama Prosedürü	45
5.4. Biyokimyasal incelemeler ve Kullanılan Yöntemler	46
5.4.1. Doku ve Serum SOD Aktivitesi Ölçümü	46
5.4.2. Doku ve Serum CAT Aktivitelerinin Ölçümü	46
5.4.3. Doku MDA Seviyelerinin Belirlenmesi	47
5.4.4. Doku Homojenatında Protein Miktarının Ölçümü	48
5.4.5. Serum MDA Seviyesi Tayini	48
5.5. İstatistiksel Analizler	48
6. BULGULAR	50
6.1. Gözlemler	50
6.2. Vücut Ağırlığı Değerlerine Ait Bulgular	50
6.3. Siyatik Sinir ve Gastroknemius Kasına Ait Morfolojik Değerlendirme Bulguları	50
6.4. Morfometrik Bulgular	83
6.5. İmmünohistokimyasal Bulgular	83
6.6. Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulgular	95
6.7. Gastroknemius Kasına Ait Histopatolojik Bulgular	97
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	102

8. SONUÇ ve ÖNERİLER	110
9. KAYNAKLAR	111
10. ETİK KURUL ONAYI	126
11. ÖZGEÇMİŞ	128



TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1. Elektron mikroskop için doku takip ve gömme prosedürü	42
Tablo 2. Deney gruplarının vücut ağırlığına ait ortalama ve standart sapmalar	50
Tablo 3. Deney gruplarına ait miyelin kılıf kalınlığı, sinir lifi çapı, miyelinli sinir lifi sayısı ile ilgili morfolometrik bulgular	83
Tablo 4. Deney gruplarına ait apoptotik indeks bulguları	84
Tablo 5. Sıçan sıyatik sinir dokularına ait biyokimyasal bulgular	96
Tablo 6. Sıçan gastrocnemius kasına ait biyokimyasal bulgular	97

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1. Quercetinin yapısal formülü

31



RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa
Resim 1. Siyatik sinir hasarının oluşturulması	40
Resim 2. S-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü	51
Resim 3. S-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü	52
Resim 4. S-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B)	53
Resim 5. S-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B).	54
Resim 6. S-7 ve S-28 gruplarına ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü	55
Resim 7. Q-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü	56
Resim 8. Q-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü	57
Resim 9. Q-7 ve Q-28 gruplarına ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü	58
Resim 10. Q-7 ve Q-28 gruplarına ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü	59
Resim 11. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A)	61
Resim 12. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (B)	62
Resim 13. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (C)	63
Resim 14. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (D)	64
Resim 15. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B)	65
Resim 16. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (C, D)	66
Resim 17. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B)	67
Resim 18. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (C, D)	68
Resim 19. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (E)	69
Resim 20. T-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A)	70
Resim 21. T-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (B)	71
Resim 22. T-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B)	72
Resim 23. T-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (C, D)	73
Resim 24. T-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B)	74
Resim 25. T-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (C, D)	75
Resim 26. T+Q-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A).	76
Resim 27. T+Q-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (B).	77

Resim 28. T+Q-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B)	78
Resim 29. T+Q-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B)	79
Resim 30. T+Q-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü	80
Resim 31. T+Q-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A,B)	81
Resim 32. T+Q-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B)	82
Resim 33. S-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B)	85
Resim 34. S-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü	86
Resim 35. Q-7 ve Q-28 gruplarına ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü	87
Resim 36. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B)	88
Resim 37. T-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B)	89
Resim 38. T+Q-7 ve T+Q-28 gruplarına ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü	90
Resim 39. S-7 ve S-28 gruplarına ait sıçanların gastroknemius kas dokusunun görüntüsü	91
Resim 40. Q-7 ve Q-28 gruplarına ait sıçanların gastroknemius kas dokusunun görüntüsü	92
Resim 41. T-7 ve T-28 gruplarına ait sıçanların gastroknemius kas dokusunun görüntüsü	93
Resim 42. T+Q-7 ve T+Q28 gruplarına ait sıçanların gastroknemius kas dokusunun görüntüsü	94
Resim 43. S-7 ve S-28 gruplarına ait sıçanların gastroknemius kas dokusunun görüntüsü	98
Resim 44. Q-7 ve Q-28 gruplarına ait sıçanların gastroknemius kas dokusunun görüntüsü	99
Resim 45. T-7 ve T-28 gruplarına ait sıçanların gastroknemius kas dokusunun görüntüsü	100

Resim 46. T+Q-7 ve T+Q28 gruplarına ait sıçanların gastroknemius kas dokusunun görüntüsü

101



KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

ADP	: Adenozin trifosfat
AI	: Apoptotik İndeks
AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrome
ATP	: Adenozin trifosfat
BSA	: Bovine serum albumin
C1q	: Kollektin
CAT	: Katalaz
Cu-SOD	: Bakır süperoksit dismutaz
DAB	: 3,3'-diaminobenzidine
DAP	: Dynamic access policies
DDSA	: Dodekenilsüksinik Anhidrit
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Ethylenediamine tetraacetic acid
eNOS	: Endotelial nitrik oksit sentaz
G6PD	: Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
GP-x	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
H&E	: Hematoksilen&Eozin
HOCl	: Hipokloröz asiti
iNOS	: Nitrik-oksit sentaz
KTÜ	: Karadeniz Teknik Üniversitesi
LPO	: Lipid peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
MNA	: Methylnadic anhydride
Mn-SOD	: Manganez süperoksit dismutaz
mRNA	: Messenger ribonükleik asit
NADPH	: Nikotinamid dinüklotid fosfat
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B

O₂-	: Süperoksit
OH	: Hidroksil
PBS	: Phosphate buffer solution
RO₂	: Peroksil
SOD	: Superoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TBA	: Tiyoarbitürük asit
TdT	: Terminal deoxynucleotidy transferase
TNF-α	: Tömör nekroz faktör- α
TUNEL	: Terminal deoxynucleotidy transferase dUTP nick end labeling
UV	: Ultra V

1. ÖZET

Sıçanlarda Deneysel Siyatik Sinir Hasarı Üzerine Quercetin Etkilerinin Morfolojik ve Biyokimyasal Olarak Değerlendirilmesi

Bu çalışmada siyatik sinir ezilme hasarı modelinde, Quercetin nöroprotektif ve antioksidan etkinliğini histopatolojik, morfometrik ve biyokimyasal yöntemler ile değerlendirmeyi amaçladık

Çalışmamızda 48 adet 10-12 haftalık Sprague Dawley türü erkek sıçanlar rastgele 8 gruba ayrıldı. Gruplar, Sham (S-7; S-28), Quercetin (Q-7; Q-28; 200mg/kg/7 gün), travma (T-7; T-28; siyatik sinirde mikro vasküler klemple 1 dk'lık ezilme) ve travma+Quercetin (T+Q-7; T+Q-28; travma ile birlikte Quercetin 200mg/kg/7 gün) olarak isimlendirildi, hasarlanmayı takiben 7. ve 28. günde sakrifiye edildi. Tüm gruplardan elde edilen sinir ve kas dokularında, oksidan-antioksidan biyokimyasal parametreler ile birlikte histopatolojik olarak; Toluidin blue, Hematoksilin&Eozin ve Masson - Trikrom boyamaları ile morfoloji değerlendirmeleri yapıldı.

Morfoloji değerlendirmelerinde, T-7 ve T-28 gruplarında akson ve miyelin kılıfta yaygın dejenerasyon, miyelin kılıfın konsantrik lamellar yapısında ciddi derecede bozulma ve aksonal şişme izlendi. Miyelin kılıf kalınlığı, sinir lifi çapı ve miyelinli sinir lifi sayısı belirgin şekilde azaldı ve Apoptotik İndekste (AI) artış izlendi. T+Q-7 ve T+Q-28 gruplarında ise morfolojik olarak rejenerasyon sürecinin başladığı, hücresel hasarın ve aksonal yapının iyileşmeye başladığı gözlemlendi. Ayrıca AI belirgin derecede azaldı. Bu değerlerin T+Q-28 grubu S-28 ile karşılaştırıldığında normale yakın olduğu gözlemlendi. Biyokimyasal parametrelerden malondialdehit (MDA) ve süperoksit dismutaz seviyeleri, T-7 grubunda S-7 ile karşılaştırıldığında bir miktar artış izlense de anlamlı değildi; T-28 grubunda katalaz aktivitesinde belirgin bir düşüş izlendi. T+Q-7 ile T-7 grubu karşılaştırıldığında T+Q-7 grubunda MDA seviyesi anlamlı derecede azaldı, serum katalaz aktivitesi ise arttı.

Ezilme tipi siyatik sinir yaralanmasında, Quercetin sinir rejenerasyonuna olumlu katkı sağladığı, yaralı bölgede fibrozis ve lipid peroksidasyonunu önleyerek iyileşme süresini kısaltabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Siyatik Sinir Yaralanması, Quercetin, Lipid Peroksidasyonu, Apopitozis.



2. SUMMARY

Morphological and Biochemical Evaluation of the Effects of Quercetin on the Experimental Sciatic Nerve Damage in Rats

The purpose of this study was to evaluate the neuroprotective and antioxidant effectiveness of quercetin in a model of sciatic nerve crush injury using histopathological, morphometric and biochemical methods.

Forty-eight male Sprague Dawley rats aged 10-12 weeks were randomly assigned into eight groups; sham (S-7; S-28), quercetin (Q-7 and Q-28; 200 mg/kg/7 days), trauma (T-7 and T-28; 1-min crush of the sciatic nerve with micro vascular clamps) and trauma + quercetin (T+Q-7 and T+Q-28; trauma and quercetin 200 mg/kg/7 days). Animals were sacrificed 7 and 28 days after injury. Oxidant-antioxidant biochemical parameters were analyzed in muscle and nerve tissues from all groups, together with morphological evaluation at histopathological staining with toluidine blue, hematoxylin and eosin and Masson's trichrome. At morphological evaluation, diffuse degeneration was observed in axons and the myelin sheath in groups T-7 and T-28, together with severe impairment of the concentric lamellar structure of the myelin sheath and axonal swelling. Myelin sheath thickness, nerve fiber diameter and myelinated nerve fiber numbers decreased significantly, while apoptotic index (AI) increased. In groups T+Q-7 and T+Q-28, the morphological regeneration process and healing of cellular damage and axonal structure were observed to have begun. AI also decreased significantly. Morphology was close to normal in T+Q-28 compared to S-28. In terms of biochemical parameters, Malondialdehyde and superoxide dismutase activity were increased, when group T-7 was compared with group S-7, this was not statistically significant. A significant decrease was observed in CAT activity in group T-28. When group T+Q-7 was compared with group T-7, malondialdehyde values decreased significantly; catalase activity increased.

We concluded that quercetin makes a positive contribution to crush-type injuries of the sciatic nerve and can shorten the healing process by preventing lipid peroxidation and fibrosis in the injured region.

Key words: Sciatic Nerve Injury, Quercetin, Lipid Peroxidation Apoptosis

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Siyatik sinir hasarı; çoğunlukla trafik ve iş kazaları başta olmak üzere pek çok kazada, delici, batıcı ve ateşli silah yaralanmalarının sonucu sıkıştırma, ezilme, gerdirme, laserasyon, kırık gibi çeşitli etkenlerin bir sonucu olarak meydana gelmektedir (1). Sinir yaralanmalarının etkisiz tedavisi kısmi veya tamamen duyu kaybı, motor ve otonomik işlev kaybına neden olur. Bu tür işlevsel kayıplar sonucunda ise sinir hasarı olan kişilerde işgücü kaybı, sosyo-ekonomik ve psikolojik problemlerde görülebilmektedir (2, 3). Siyatik sinirde yaygın olarak görülen başka bir yaralanma türü de ezilme tipi yaralanmalardır. Ezilme tipi yaralanmalarda, motor ve duyu fonksiyonlarının total kaybı meydana gelebilir (2, 4).

Sıçanlardaki ezilme tipi yaralanma, sinir aksonunun ve miyelinin tamamen kesilmesiyle karakterize, sinir hasarından sonra rejenerasyonu incelemek için sık kullanılan bir aksonotrafik modeldir (yani hasarın tamamen iyileşip iyileşebileceği deneysel bir modeldir). Bir sinir yaralandıktan sonra, aksonların distal kısmı Wallerian dejenerasyonu adı verilen bir işleme tabi tutulur. Bu koşullar altında, çeşitli çalışmalar, miyelin proteinlerinin ekspresyon düzeylerindeki değişiklikler gibi biyokimyasal ve işlevsel etkiler gözlenmektedir (5). Periferik sinirlerdeki yaralanma sonrası doku destrüksiyonundan dolayı serbest oksijen radikalleri artarak lipid peroksidasyonuna (LPO) neden olarak doku hasarı gelişmektedir. Bu tür sinir hasarında iskemik ve mekanik süreçlerin kümülatif etkisinin kendi etkilerinden daha belirgin olduğu düşünülmektedir (3, 6). Periferik sinir hasarlarının ardından rejenerasyon yeteneğine sahip oldukları bilinmesine rağmen, rejenerasyon süreci ve travma sonrası sonuç, sinir onarımında kaydedilen ilerlemeye rağmen genellikle yavaş ve zayıftır. Sonuç olarak, periferik sinir travması önemli bir morbidite nedenidir ve son zamanlarda araştırmacılar bu konu ile ilgili yaptıkları çalışmalarda periferik sinir rejenerasyonu tedavisi için çeşitli ajanlar araştırmaktadır.

Quercetin (QR, 3,3',4',5,7- pentahydroxyflavone) polifenolik grubuna ait, hemen her yerde bulunabilen bitkisel flavonoid bileşiklerden biridir. Soğan, brokoli, yeşil çay, elma, Ginkgo biloba, sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) gibi pek çok sebzelerde, meyvelerde, aromatik bitkilerde bulunmaktadır (7, 8). Yapılan pek çok farmakolojik çalışmada güçlü bir antioksidan, anti-anjiyojenik, anti-enflamatuar, nöroprotektif ve

anti-apoptotik özelliklerinin olduğu belirtilmiştir (7, 9). Güçlü bir antioksidan ve antienflamatuar aktiviteye sahip olduğu için diyabet, kanser ve obezite gibi pek çok hastalığı önleyebildiği öne sürülmüştür. Son zamanlarda Quercetin'in iskemi hasarındaki etkinliğini vurgulayan çalışmalar artmaktadır. Quercetin'in serebral iskemideki nöroprotektif mekanizmasında matriks metalloproteinaz-9'u ve serbest radikal üretiminini azalttığı bulunmuştur (10). Yapılan bir başka çalışmada beyinde alimünyuma dayalı davranışsal ve biyokimyasal değişimlerde quercetin'in nöroprotektif etkileri olduğu belirtilmiştir (11).

Bu çalışmada deneysel sinir ezilme yaralanması sonrası, quercetin'in nöroprotektif ve antioksidan etkilerinin olup olmadığını histomorfometrik ve biyokimyasal parametreler ile değerlendirmeyi amaçladık.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Siyatik Sinir Anatomisi

Siyatik sinir, anatomik olarak sakral pleksusun ucundan başlamakta olup vücudun en kalın ve en uzun siniridir. Siyatik sinir pelvisten infrapiriform delik yolu ile çıkar. Bu sırada yassılaştırmış olduğu için 1-1,5 cm genişliğindedir. Motor, duyu ve otonom olmak üzere 3 çeşit periferik sinir vardır (12). Periferik motor sinir lifleri; omurilik ön boynuzunda yerleşmiş olan ikinci motor nöronlardan çıkar. Duyusal aksonların hücre gövdeleri ise omuriliğin dışında, intervertebral foramende yerleşimli olan arka kök ganglionun içine yerleşmiştir. Buradaki bipolar duyuusal nöronların periferik uzantıları periferik sinir içinde yer alırken santral uzantıları arka kök yoluyla omuriliğe girerler (13).

Periferik sinirin bir parçası olan spinal sinirler 31 çift olup 33 medulla spinalis segmentinden çıkar. Bu spinal sinirlerin bölgelere göre dağılımı,

1. 8 adet nervi cervicales
2. 12 adet nervi thoracici
3. 5 adet nervi lumbales
4. 5 adet nervi sacrales
5. 1 adet nervus coccygeus

Spinal sinirler medulla spinalise ön ve arka kökler vasıtasıyla bağlanırlar. Kökleri oluşturan liflere fila radicularia denilir. Bu köklerden önde bulunanına radix anterior, arkada bulunanına radix posterior denilir. Ayrıca ön kökler motor lifler bulunması nedeniyle radix motoria, arka köklere de sensitif liflerin bulunması nedeniyle radix sensoria de denilmektedir.

Plexus Sacralis, pelvis boşluğunda ve sacrum'un her iki ön-yan tarafında bulunan plexus sacralis, truncus lumbosacralis (4. lumbal sinirin küçük bir bölümü ile 5. lumbal sinirin tümünün birleşmesinden oluşur) 1., 2., 3. sakral spinal sinirlerin ön dalları ve 4. Sakral sinirin az bir bölümünün katılmasıyla oluşur. Üçgen şeklinde olan plexus sacralis'in tabanı sacrum'a, tepesi de foramen ischiadicum majus'a doğru yönelir.

Nervus ischiadicus da bu üçgenin tepesinden aşağı doğru plexus sacralis'in bir devamı şeklinde uzanır (14).

Plexus sacralis'in dalları

1. Nervus (N) musculi (mm) quadrati femoris (L4,5,S1)
2. N.mm. obtratorii interni (L5,S1,2)
3. N. mm. piriformis (S1,2)
4. N. gluteus superior (L4,5,S1)
5. N. gluteus inferior (L5, S1,2)
6. N. cutaneus femoris posterior (S1,2,3)
7. N. ischiadicus
8. N. tibialis (L4,5,S1,2,3)
9. N. fibularis (peroneus) communis (L4,5,S1,2)
10. N. pudendus (S2,3,4) (14).

Nervus Ischiadicus, vücudun en kalın siniridir. Ayak derisinin tümü ile bacak derisinin büyük kısmına sensitif dallar, uyluğun arka tarafındaki kaslar ile bacak ve ayağın tüm kaslarına somatomotor lifler gönderir. Plexus sacrali'in devamı şeklinde olan n. ischiadicus, pelvis'i foramen infrapiriforme'den terkeder; M. Piriformis'in alt kenarından uyluğun alt 1/3'üne kadar uzanır, burada uç dalları olan n. tibialis ile n. fibularis (peroneus) communis'e ayrılır. N. tibialis daha kalın olup n. İskiadicus'un devamı şeklinde seyreder. N. ischiadicus gluteal bölgede m. gemellus superior, m. gemellus inferior, m. obturator internus ve m. quadratus femoris'in arkasında, m. gluteus maximus'un ön tarafında bulunur. Burada n. cutaneus femoris posterior ve a. glutea inferior ile birlikte seyreder. Uylukta m. adductor magnus'un arkasında ve m. biceps femoris'in önünde bulunur. M. biceps femoris'in uzun başı, siniri yukarıdan aşağıya ve içten dışa doğru arkadan çarpazlar. Plexus sacralis'in arka bölüm liflerinden n.fibularis communis, ön bölüm liflerinden ise n. tibialis oluşur. Bu iki sinir birlikte, n.ischiadicus adı altında fossa poplitea yakınına kadar, bir kılıfla sarılı olarak uzanır. Ancak fossa poplitea yakınında birbirinden ayrılırlar (14). N. ischiadicus'un tam kesisi sıklıkla karşılaşılan bir durum değildir, fakat kesi oluştuğunda ise bacak kullanılamaz hale gelir. Bunun nedeni bacağın fleksiyonu gibi kalçanın ekstansiyonun da bozulmuş olmasıdır. Bütün bilek ve ayak hareketleri de kaybolur. Tabanca mermisi ya da bıçakla yaralanma sonucu oluşan n. İskiadicus'un tam olmayan kesisine, n. gluteus inferior ve/veya n. cutaneus femoris posterior da katılabilir. Siyatik lezyonun iyileşmesi yavaştır ve genellikle tam olmaz. N. ischiadicus'un konumuna göre kalçanın bir güvenli tarafı

(dış taraf) ve bir de tehlikeli tarafı (iç tarafı) vardır. Kalçanın iç tarafının yaralanması ya da buraya yapılan cerrahi girişimler, n.ischiadicus'un ya da uyluğun arka tarafındaki hamstring kaslarına (m. semitendinosus, m. semimembranosus, m. biceps femoris) giden dallarının hasar görmesine neden olur. Bu kasların paralizi uyluğun ekstansiyonunun ve bacağın fleksiyonunun bozulmasıyla sonuçlanır (15). N. ischiadicus'un duysal liflerinin dağıldığı alanlarda ağrı duyulması haline siyatik denilir. Siyatikte, uyluğun arka yüzünde, bacağın arka ve dış yüzlerinde ve ayağın lateralinde ağrı duyulur. Siyatik, birkaç nedenle oluşabilir. Birincisi intervertebral disklerin prolapsusu sonucu alt lumbal ve sakral spinal sinirlerin bir veya birkaçının ön köklerine basınç yapması sonucu, ikincisi plexus sacralis veya n. ischiadicus'u, pelvis içersindeki bir tümörün sıkıştırması sonucu, üçüncüsü n. ischiadicus veya dallarının inflamasyonu sonucu ortaya çıkar (16).

Ayrıca sıçan siyatik siniri anatomik olarak incelendiğinde, pelviste ön ve arka dallara ayrılan sakral pleksus (5, 6 ve kısmen 4. lumbal sinirler tarafından oluşturulur)'un arka dalı olarak bilinir. Siyatik sinir devamında ise nerves tibialis, nerves common peroneales ve kollateral dallara ayrılır (17).

4.2. Siyatik Sinir Gelişimi

Merkezi sinir sistemi 3. haftanın başlarında, terlik seklinde kalınlaşmış bir ektodermal plak halinde belirir. Bu plak, primitif çukurun önünde, orta- dorsal bölgede yerleşmiştir. Nöral plağın lateral kenarları kısa bir süre sonra nöral katlantıları meydana getirmek üzere yükselir. Gelişimin daha ileri evrelerinde, nöral katlantılar daha da yükselerek orta hatta birbirine yakınlaşır ve nöral tüpü oluşturmak üzere kaynaşırlar. Kaynaşma servikal bölgede başlar, kaudal ve sefalik yönlerde doğru ilerler. Giderek büyüyen embriyonun transvers kesitlerinde, **nöral oluk**, **nöral tüp** ve **krista nöralis** meydana gelir. Başlangıçta, nöral tüple yüzey ektodermi arasında bir ara bölge meydana getiren krista nöralis hücreleri, spinal ve kranial duyu ganglionlarına gelişir (18). Sinir sistemi ektodermden gelişir. Notokord ve parakordial mezodermin uyarısı ile korda dorsalis (notokord) tarafındaki ektodermden 17. günde kalınlaşma olur. Bu oluşuma **nöral plak** adı verilir. Nöral kanalın bu iki yanında toplanan hücreler **krista nöralis** olarak anılır. Periferik sinir sisteminin tüm hücreleri krista nöralisten köken alır. Krista nöralis bunun dışında sempatik nöroblastlara, schwann hücrelerine, pigment

hücrelerine, odontoblastlara, meninkslere ve brankial arkların mezenşimlerine de farklılaşırlar (19). Krista nöralis hücreleri medulla spinalisin dorsolateralinde dorsal kök ganglionlarını oluşturur. Periferik sinir sisteminde afferent ve efferent fibriller vardır. Dorsal kök ganglionları duyuşal ganglionlardır. Efferent sinirler (ventral gangliyonlar) otonom sinir sisteminin bir parçasıdır. Bundan dolayı otonom gangliyonlar da denir. Afferent ve efferent fibriller aynı fasikül içinde devamlılık gösterirler. Medulla spinalisteki motor sinir lifleri 4. haftanın sonunda görölmeye baslar. Gelişen medulla spinalisin bazal plaklarındaki hücrelerden sinir lifleri ortaya çıkar ve bu sinir lifleri de medulla spinalis ventrolateral yüzeyi boyunca sinir kökleri olarak devam eder. Bu sinir liflerinden belli kas gruplarına yönelenler birleşir ve ventral sinir kökünü meydana getirir. Dorsal sinir kökleri spinal ganglion hücrelerinin oluştuğı yer olan ve medulla spinalis dorsolateraline göç eden krista nöralis hücrelerinin aksonları tarafından oluşturulur. Spinal ganglionlardaki nöronların santral ve periferik çıkıntıları spinal sinir liflerini yapabilmek için bir araya gelirler. Karışık yapıda olan bu sinir lifleri dorsal ve ventral dallara ayrılırlar. Primer dorsal dal ekstensör kas gruplarını, vertebrayı, posterior intervertebral eklemleri ve sırt cildini innerve etmektedir. Primer ventral dal ise servikal, brakial ve lumbosakral ana sinir pleksuslarını meydana getirir. Vücudun fleksör kaslarını ve fleksör yüzeyini innerve etmektedir (20, 21).

4.3. Periferik Sinir Histomorfolojisi

Periferik sinir sisteminin temel hücreşel yapıları nöronlar ve Schwann hücreleridir. Nöron, bir hücre gövdesi ve hedef organa ulaşan aksonal uzantıdan oluşur. Nöronların hücre gövdeleri ‘soma’ veya ‘perikaryon’ olarak isimlendirilir. Hücre gövdesi nöronun metabolik ve genetik merkezi olarak işlev görür. Nöronun hücre gövdesi nükleus, nükleolus ve protein sentezinden sorumlu aparat olan Nissl cisimcikleri’ni (ribozomlu endoplazmik retikulum) içerir (22). Sitoplazma içerisinde bulunan diğeri önemli bir yapı da, dendrit ve aksonların sonlarına kadar uzanan, nörotübül ve nörofilamentlerden oluşan nörofibrillerdir. Bu yapılar metabolitlerin taşınmasında, hücre şeklinin korunması ve desteklenmesinde görev alırlar. Nöronun bilgi alıcısı olan bölgeleri dendritler ve hücre gövdeleridir. Aksonlar ise tek ve daha uzun olan uzantılardır. Aksonların primer görevi sinirsel uyarıyı periferdeki kas dokusuna aksiyon potansiyeli olarak taşımaktır. Genellikle düzgün kontürlü ve uniform yapıda olan aksonların ortalama çapları 1-24 µm arasında değişmekteyken, uzunlukları

50 μm 'den birkaç metreye kadar uzayabilir. Nöronlar bu uzantılarının sayısı, uzunluk ve şekline göre unipolar, bipolar ve multipolar olmak üzere 3 gruba ayrılırlar. Nöronların çoğu tek bir aksona sahiptir. Akson, 'aksolemma' denilen membran ile çevrili, silindirik tüp biçimli sitoplazmadan oluşur. Hücre sitoplazmasının akson içerisindeki eşdeğeri ise "aksoplazma" adını alır. Nörofilamentler ile mikrotübülleri içeren hücre iskeleti (cytoskeleton) akson boyunca uzanır. Mikrotübüller, hızlı aksonal transport için bir iskelet oluşturur (22). Buna karşı hücre gövdesinde ve dendritlerde bulunan Nissl cisimcikleri aksonlarda bulunmaz. Aksonların çoğu miyelin ile sarıdır. Miyelin, merkezi sinir sisteminde oligodendrositler, periferik sinir sisteminde ise Schwann hücreleri tarafından yapılır ve lipid bakımından zengin membranın oluşturduğu çok sayıda konsantrik tabakadan meydana gelir. Miyelinli liflerde her akson tek bir Schwann hücresi tarafından sarılırken, miyelinsiz liflerde bir Schwann hücresi birden fazla aksonu çevrelemektedir. Ayrıca Schwann hücreleri tarafından üretilen ve temel olarak ekstraselüler matriks proteinlerinden (kollajen tip IV ve laminin) oluşan bir bazal membran sinir lifini çevrelemektedir ve bunun laminar yapının rejenerasyonu için oldukça önemlidir (23). Miyelin hızlı iletimli sinir liflerinde iletim fonksiyonundan sorumludur. Her bir hücrenin miyelin kılıfları arasında Ranvier boğumu adı verilen kısa bir aralık bulunur. Kolleteral dallanma yapan aksonlardaki dallar *Ranvier* boğumlarından ayrılmaktadır. Miyelin tabakası konsantrik dizilişli tabakalar şeklindedir ve lameller arasındaki genişleme yerleri miyelin kılıfındaki *Schmidt-Lanterman* yarıkları olarak adlandırılır. Bu yarıklar ve *Ranvier* boğumları merkezi sinir sistemindeki miyelinli sinirlerinde bulunmazlar. Ranvier boğumları arasında Schwann hücresi büyük çaplı liflerde kendi üzerine kıvrılarak miyelin tabakasını oluşturur. Boğumlar arasındaki mesafe de sinir lifine göre 250 μm ile 2000 μm arasında değişir. Akson çapı ne kadar büyükse boğumlar arası mesafe de o kadar uzundur ve miyelin tabakası da o kadar kalındır (24). Miyelinsiz sinir liflerinde potansiyelin yayılımı zar boyunca kesintisiz iletim şeklinde olurken, miyelinli sinirlerde depolarizasyon yalnızca Ranvier boğumlarında olmakta ve akım, bir boğumdan diğerine sıçrayarak ilerlemektedir (sıçrayıcı iletim). Miyelinli liflerde bu sıçrayıcı ileti sayesinde impuls, miyelinsiz liflerden çok daha hızlı iletilir (25).

Miyelinin yapısı diğer plazma membranlarına benzemekle birlikte, içeriği açısından diğerlerinden farklıdır. Biyokimyasal olarak % 75 lipid ve % 25 proteinden

oluşur. Miyelin içerisinde bulunan lipidlerin % 20-30'unu oluşturan kolesterol, multilameller yapının stabilizasyonunu sağlamaktadır. Miyelin içeriğindeki diğer lipidler ise glikolipid yapısında olan galaktoserebrosid, sülfatid ve gangliosidlerdir. Benzer şekilde periferik sinirlerin miyelin yapısı ile santral sinir sistemi miyelini arasında da farklar bulunmaktadır. Periferik miyelin yapısında santral sinir sistemine göre sfingomiyelin, kolin ve gliserofosfatid oranı daha fazla, galaktoserebrozid oranı ise daha azdır (26).

4.3.1. Periferik Sinirin Bağ Dokusu Tabakaları

Periferik sinirlerin çevresi koruyucu tabakalarla çevrilidir. Bu tabakalara *bağ dokusu* adı verilir ve periferik sinirin % 21-81'ini oluştururlar (27). Eklem bölgelerinde bu oranın arttığı bilinmektedir. Bağ dokusunun görevi periferik siniri korumak ve beslemektir. Periferik sinirleri çevreleyen bağ dokusu *epinöryum*, *perinöryum* ve *endonöryum* adı verilen üç farklı destek doku kılıfından oluşur (28). Bu yapıların birçok mekanik ve fizyolojik görevleri mevcuttur. Periferik sinir içinde kanı taşıyan kapiller damar sistemine de vasa nervosus adı verilir. Periferik sinir lifleri ve Schwann hücreleri bir araya gelerek *fasikül* denen yoğun bir demet oluştururlar. Sinir lifleri fasikülde kollajen ve retikulin lifleri ile birlikte mukopolisakkaritten oluşan temel maddenin içinde bulunurlar. Bu yapının temel hücresi fibroblastlardır ve kollajen üretiminden sorumludurlar (27). Fasiküller, kendi içinde, sinirin uzun eksenine boyunca giden alt birimlere (aksonlara) ayrılamazlar; çünkü aksonlar arası bağlantılarla oluşan intranöral pleksus yapısı vardır.

4.3.1.1. Epinöryum

Epinöryum fasikülleri dış travmalara ve ekstremitelerin hareketiyle oluşan sıkışmalara karşı koruyan gevşek bir konnektif doku tabakasıdır. Sinirlerin fonksiyonel ünitesi için koruyucu bir yastık gibi görev yaparlar (28, 29). Epinöryum iç ve dış olarak iki tabakadan oluşur. Dış epinöryum kollajenden zengindir ve periferik sinirlerin dış kısmını sarar. Kollajen nispeten yetersizdir ve büyük oranda potansiyel boşluklar içermektedir ki bu da sinirin gerilme ve hareketine izin vermektedir. İç epinöryum dıştaki bağ dokusunun fasiküller arasına yayılması ile oluşur. Her iki tabaka da longitudinal kuvvetleri alttaki perinöryuma iletilmeden önce absorbe ederler (30, 31). Endonöral kapiller pleksusları besleyen, çok sayıda uzunlamasına vasküler kanallara ve

iyi gelişmiş bir vasküler pleksusa sahiptir. Epinöryumun derin tabakası spontan olarak fasikülleri ayırır ve gevşek bir şekilde bir arada tutar. Histolojik olarak epinöryum diğer tip gevşek konnektif dokulara benzemekte olup fibroblast, makrofaj ve mast hücrelerini içerir. Epinöryumun yüzeyindeki gevşek birkonnektif doku olan adventisya sinirin rahat bir şekilde kaymasına olanak sağlar Epinöryumun bu özellikleri sinir hasarına bağlı skar oluşumuyla engellenebilir (29). Epinöryum proksimalde dura ile devam eder ve subaraknoid mesafenin başladığı yerde perinöryumdan ayrılır. Bu yapılaşma kan sinir bariyerinin temelini oluşturur (32). Epinöryum önemli hücresel, damarsal ve lenfatik komponentleri içermektedir ve sinir yaralanması meydana geldiğinde bu yapılar hasar görür. Epinöryumda fibroblastlar da bulunur ve bunlar yaralanmayı takiben çoğalırlar. Sonuçta fibrozis gelişir; bunun sonucuda sınırlı harekete ve sinirin gerilmesine neden olmaktadır. Kesi hattında meydana gelen gerginlik aksonal geçişi, dolayısıyla rejenerasyonu etkileyebilir (31).

4.3.1.2. Perinöryum

Perinöryum kan beyin bariyerinin bir uzantısıdır (32). Her fasikül perinöryum denen yoğun, mekanik olarak güçlü, multilameller bir kılıfla kaplıdır ve yassı hücrelerden meydana gelir (29). Bu hücreler alttaki bazal laminaya tutunurlar. Tabakalar arasında kollogen lifleri hem oblik hemde longitudinal olarak dizilmiştir. Lamellerin sayısı fasiküllerin çapına bağlı olarak değişir. Endonöral alan perinöral hücrelerden ayrılrsa da bu ayrım net değildir. Perinöryum mekanik olarak kuvvetli bir membrandır. Eksternal travmalara karşı mekanik bir engel oluşturarak endonöral alanın içeriğini korur. Aynı zamanda bir difüzyon bariyeri görevi yaparak da endonöryumun özel iç yapısını korumaktadır (29). Buradaki kollajen liflerinin yarı çapı epinöryumdan daha küçüktür, yaklaşık olarak 65 nm dir. Buradaki perinöral hücreler fibroblastlardan farklılaşmışlardır. Fibroblastlar travmayı takiben perinöryumda çoğalmaya başlarlar ve rejenere olan sinirler morfolojik olarak incelendiğinde bu fibroblastların başlangıçta tomurcuklanan sinirin etrafını çevirdiği görülür. Perinöryum yüksek oranda endoplazmik veziküller içermektedir ve glukoz transportunun perinöryumdan yapıldığı deneysel olarak çeşitli bulgular ile açıklanmıştır (33).

4.3.1.3. Endonöryum

Endonöryum, her sinir lifinin bazal zarını saran hassas bir bağ dokusu tabakasıdır (34). Endonöryum, akson ve bunu çevreleyen Schwann hücreleri, kollajen ve retiküler lifler, fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri ve kapiller sistemden oluşur (35). Yapısında elastin yoktur (28, 34, 36). İçerdiği uzun yerleşimli tip I kollajen sayesinde gerilmeye karşı kuvvetli bir yapı halindedir. Sinirde bulunan endonöral damarlar, Schwann hücrelerini ve miyelini sarar. Morfolojik olarak dalgalı bir yapıya sahiptir ve bu sayede uzamaya karşı uyumludur. Endonöryumun fibröz ve hücreli komponentleri endonöral sıvı ile çevrilidir. Endonöral sıvı basıncı, çevre doku basınçlarına göre daha yüksektir. Bu fark sayesinde aksona zarar verecek toksik maddeler uzaklaştırılır (36). Bir sinir boyunca ve kişiden kişiye fasikül sayıları değişkenlik gösterir. Fasiküller bir sinir boyunca birbirine paralel uzanan bağımsız akson dizilimleri değildirler. Seyir boyunca fasiküller birbirlerine sayısız dallar ile bağlanır ve bir tür intranöral pleksus oluştururlar. Pleksiform yapı nedeni ile bir fasikülden diğerine dallanmalar olması sonucunda, trase boyunca trunkusun içerdiği fasikül sayısı ve fasiküllerin içerdiği akson sayısı değişkenlik gösterir. Bu durumda sinir trasesi boyunca alınan kesitlerde farklı morfolojik yapılar görülebilir (37).

4.4. Periferik Sinir Yaralanma Şekilleri

Periferik sinirler; trafik ve iş kazaları başta olmak üzere her türlü kazada, kesici, batıcı, ateşli silahlarla ortaya çıkan delme, ezilme, çekilme, dönme tipi travmalar, kırık-çıkıklar sonucunda hasar görebilir. Servikal yapıda ve çeşitli tuzak nöropatilerinde de sinir sıkışması sonucu zedelenme meydana gelebilir. Bunların dışında; iskemide (ateroskleroz), metabolik hastalıklarda, tümöral, toksik, fiziksel (sıcak, soğuk), kimyasal olaylar ve radyoterapi gibi etkenlerle de periferik sinir hasarı oluşabilir (1). Fakat bu yaralanmaların en sık görüleni travmatik yaralanmalardır. Periferik sinir hasarı, uygulanan ezilme süresine ve kuvvetine göre değişkenlik gösterir. Büyük lifler küçük liflere göre ezilme ve iskemide daha fazla duyarlıdır. Ayrıca yüzeysel yerleşimli fasiküller derin yerleşimli olanlara oranla daha fazla ezilme duyarlıdır. Ayrıca kalın perinöryum içerisine gömülü küçük lifler, ince perinöryum içerisine gömülü kalın liflere oranla daha az oranda kompresyona duyarlıdır (38, 39). Yaygın olarak görülen bir yaralanma türü de, ezilme tipi yaralanmalardır. Bu yaralanmada sinirsel elemanların

ayrılması veya kopması söz konusu değildir. Ezilme tipi yaralanmalarda, motor ve duyu fonksiyonlarının total kaybı meydana gelebilir. Ama bu tür etkilerin patofizyolojisi belirgin değildir, çünkü sinir devamlılığı korunmaktadır. Bununla birlikte sinir hasarının oluşumunda hangi mekanizmanın daha önemli olduğu tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Yapılan çalışmalar, kısa süreli ezilme tipi yaralanmalarda iskeminin fizyolojik iletim bloğuna neden olduğunu göstermiştir. Kısa süreli iskeminin, sinir iletim bloğunu nasıl oluşturduğu açık değildir. Bununla birlikte, büyük çaplı miyelinli liflerin, küçük çaplılara oranla daha fazla iskemik etkiye uğradığı gösterilmiştir. Kısa süreli iskemide, histolojik değişiklikler genellikle geri dönüşümlüdür. Şiddetli iskemik hasara uğramış sinirde, genellikle fonksiyonun kaybolabileceği ve tam bir iyileşmenin oluşmayabileceği kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalarda, ezilme tipi yaralanmalarda mekanik deformasyonun etkilerinin daha ön planda olduğu yaygın görüş olmuştur (40, 41).

4.4.1. Periferik Sinir Yaralanma Sınıflaması

Periferik sinir yaralanmaları sınıflaması 1943 Seddon ve 1952 Sunderland'in çalışmaları ile şekillenmiştir (42, 43). Periferik sinir yaralanmalarında Seddon tarafından bildirilen nöropraksi, aksonotimezis ve nörotimezis tarzındaki üçlü ve basit sınıflama yaygın şekilde kabul görmektedir. Seddon sinir hasarını, şiddetine göre üç kategoriye ayırır.

Nöropraksi: Sinir devamlılığı bozulmamıştır. Tuzak nöropatilerinde görülen hasar tipidir. Çok zor tespit edilebilen segmental demiyelizasyon gibi miyelin yapılarıdaki değişikliklere rağmen, bu tip hasarlanmada semptomların geçici olma nedeni yaralanma yerinde lokal olarak iletinin kesintiye uğramasından dolayıdır. Hasar yerinin proksimal ve distalinde iletim normaldir.

Aksonotimezis: Sinir çevresindeki mezenşimal yapılar olan perinörium ve epinörium korunarak, sinirin akson ve çevresindeki miyelin kılıfta kesilme vardır. Akson ve miyelinde yaralanma noktasının distalinde oluşan Wallerian dejenerasyon komplet denervasyona neden olur. Bu tip yaralanmanın kronik kompresyon, akut ezilme ve esneme gibi sayısız nedeni vardır. Bu tür hasarlanmada iyileşme oranları, sinir çevresindeki hasarlanmamış mezenşimal dokuların kafes görevi görerek, hedef organın

reinnervasyonu için aksonların filizlenmesine kılavuzluk etmesiyle artmaktadır. Aksonal filizler endonöral tüpler boyunca günde1-2 mm olacak şekilde yenilenirler.

Nörotomezis: Kopmuş sinirleri içerir. Bu hasarlanmada fonksiyonlarda tam kayıp vardır ve cerrahi müdahale olmaksızın iyileşme söz konusu değildir. Çünkü aksonların yeniden uzaması için kılavuzluk edecek mezenşimal doku kaybı olmuş ve skar dokusu oluşmuştur.

Sunderland periferik sinir yaralanmalarını beş derecede değerlendiren yeni bir sınıflandırma önermiştir.

1. derece hasar (Nöropraksi): Lokalize ileti bloğu vardır. Bu tip hasarda, sinir dokusunun bütünlüğü devam etmektedir. Travma alanındaki sinir segmentinde iletim kaybı söz konusudur ve aksonlar, sinir kılıfı yapıları intaktır. Sadece elektrofizyolojik olarak tespit edilebilen bu iletim bloğu lezyon alanında sınırlıdır ve distalde iletim normaldir. Klinikte turnike kullanımı gibi lokal basınç yaratan durumlar ve kompresyon nöropatilerin erken dönemlerinde ortaya çıkan sinir hasarı bu grupta incelenmektedir. 6-8 hafta içinde aksonal iletim tam olarak düzelir.

2. derece hasar (Aksonotomezis): Akson ve miyelin hasar görmüş, endonöral ve destek doku kılıfları korunmuştur. Lezyon distalinde Wallerian dejenerasyon görülür, ek olarak motor, duysal, otonom innervasyon bozulmuştur. Endonöral kılıfların korunması nedeniyle iyi düzeyde iyileşme beklenir.

3. derece hasar: Aksonlar, endonöryum ve Schwann hücrelerinin harabiyeti vardır. Epinöryum ve perinöryum sağlamdır. Fasiküler yapı korunmuştur. Distalde Wallerian dejenerasyon izlenir. Endonöryumdaki fibröz doku fibrillerin ilerlemesini engelleyebileceğinden iyileşme tam olmayabilir. Bu tip hasar kronik kompresyon, akut ezilme ya da gerilme sonucunda oluşur. Bu tür yaralanmalar Seddon sınıflandırmasındaki aksonotomezis ve nörotomezisin karışımı olarak da kabuledilebilir.

4. derece hasar (Nörotomezis): Aksonal, endönoral ve perinöral yaralanma vardır. Epinöryum sağlamdır. Sinir gövdesinin bütünlüğü fiziksel olarak devam etmekle birlikte skar dokusunun yarattığı blok rejenerasyonu engeller ve yaralanma seviyesinde nöroma (solid skar dokusu) oluşumuna neden olur. Spontan iyileşme görülebilmese rağmen tedavi uygulanmadığında fonksiyonel dönüş nadirdir.

5. derece hasar (Nörotomezis): Epinöral kılıfı da içeren sinir tam kesisi ve ayrılması vardır. Cerrahi tedavi olmadan iyileşmesi mümkün değildir.

6. derece hasar: Mackinnon bu sınıflandırmaya 6. derece sinir hasarı adı altında bir ekleme yapmıştır. Sinir boyunca değişik seviyelerde ve farklı derecelerde sinir hasarlarının bir arada bulunması söz konusudur. Özellikle ezici tipte yaralanmalarda ortaya çıkmaktadır. Tedavisinde intranöral nöroliz ile sağlam fasiküllere zarar vermeden 4. ve 5. derecede hasarlı fasiküllerin cerrahi onarımı gerekmektedir (41, 44).

4.4.2. Periferik Sinir Dejenerasyonu ve Rejenerasyonu

Sinir lifi herhangi bir kaza veya travma sonucunda ya da deneysel olarak kesilir veya ezilirse, hücreden ayrı kalan kısımda morfolojik, kimyasal ve fonksiyonel birtakım değişiklikler meydana gelir. Bu değişikliklerin tümüne sinir dejenerasyonu denir. Sinirde meydana gelen bu değişiklikler ilk olarak Waller tarafından açıklandığından, bu olaya Wallerian dejenerasyon adı verilir. Wallerian dejenerasyonuna uğramış bir sinirin tamir olup normal fonksiyonunu kazanmasına rejenerasyon denir. Bu tamir olayı iki fazda meydana gelir: Birinci fazda; sinir lifi silindirik eksenin ganglion hücresine bağlı kalan kısmından periferik doğru adeta “psödopod” gibi ilerler. İkinci fazda ise yeni sinir lifleri olgunlaşır miyelin kılıfı ile kaplanır ve uyarılabilirlik özelliği kazanırlar (45).

4.4.2.1. Histopatolojik Değişimler

Wallerian dejenerasyonunda görülen primer histolojik değişiklik, akson ve miyelin kılıfta oluşan yapısal bozukluklardır. Dejenerasyon sonucu gözlenen başlıca yapısal değişiklikler, nöronda nörotübül ve nörofilamentlerin düzensiz hale gelmesi, akson ve miyelin kılıfın birbirlerinden ayrılmaları, aksonda varikoz şişkinliklerin oluşmasıdır. Miyelin kılıf dejenerasyonu özellikle 36-48 saat içinde belirgin hale gelir. Yaralanmadan sonra 48-96 saatte genellikle akson devamlılığı kaybolur ve impuls iletimi bozulur. Wallerian dejenerasyonunda Schwann hücrelerinin anahtar rol oynadıkları kabul edilmektedir. Bu hücreler yaralanmadan sonra 24 saat içinde aktif hale geçer, çekirdek ve sitoplazmik büyüme gösteren hücreler, hızla bölünerek dejenerasyon ve tamir yoluna yardım edecek bir çok moleküllü ekspresyon ederler (46, 47). Başlangıç evresinde, travmaya cevap olarak endonöral tüp şişer. İlk iki haftadan sonra çap oldukça azalır. 5-8 haftada dejenerasyon olan sinir artıkları genellikle ortadan kaldırılmıştır. Üçüncü derece yaralanmalarda travma-aracılı lokal bir reaksiyon

meydana gelir. İntrafasiküler yaralanmalarda sinir lifinin distal kısımları endonöryumun esnek olmasından dolayı retraksiyona uğrar. Lokal vasküler travma, etkin inflamasyonla sonuçlanan hemoraji ve ödeme yol açar. Fibroblastlar proliferer olur ve oluşan fibröz bağ dokusu, yaralı segmentte şişkinliğe neden olur. İntrafasiküler skar dokusu sinir gövdesinde de gelişir ve genellikle perinöral skar dokusu ile kaynaşır (41). Travmatik hasar sonrası ilk 1-2 hafta içinde, kromatolizis olarak bilinen sinir hücre çekirdeğindeki Nissl cisimciklerinin eriyip kaybolması ile karakterize bir olay gelişmektedir (48). Hücre çekirdeği, hücre içindeki merkezi konumundan perifere doğru hareket etmekte ve hücre gövdesi şişme göstermektedir. Kural olarak, aksondaki hasar hücre gövdesine ne kadar yakın ise hücre gövdesinde o denli önemli değişikliklere yol açmaktadır (41, 48, 49). Lezyon düzeyinden itibaren proksimal bölümdeki ilk Ranvier boğumuna kadar olan sinir segmentinde önce dejenerasyonla ilişkili bazı değişiklikler olmaktadır. Kısa bir süre sonra ise proksimalden gelişen aksonal uzantılar endonöral tüpler içinde ilerleyerek lezyon alanına ulaşmaktadır. Eğer erken bir dönemde sinirin kesik uçları cerrahi olarak karşı karşıya getirilir ise proksimaldeki aksonal uzantılar distalde yer alan sinir segmentine doğru büyümeye devam ederler. Aksi halde, aksonal uzantılar çevre doku içine doğru yanlış bir yönelim göstererek sonlanırlar (49, 50, 51). Rejenerasyon süresince, rejenerasyon hızı, yavaş aksonal transport hızı ile ilişkilidir. Aksonal reaksiyon, akson güdüğünde şişme ve miyelin kılıfta yıkım ile karakterizedir. Bu dejenerasyon aksonal filizlenme ve remiyelinizasyon sonucu iyileşme ile sonuçlanabileceği gibi, geriye doğru hasar ile de sonuçlanabilir (52). Aksonların rejenerasyon hızı türlere bağlı olarak değişir. Kemirgenlerde 2-3,5 mm/gün iken insanlarda 1-2 mm/gün'dür. Geri dönüşümsüz sinir hasarını engellemek, aksonal rejenerasyonu arttırmak ve yapışıklıkları önlemek amacıyla pekçok yöntem ve madde kullanılmıştır. Onarım tekniklerinin gelişmesi, yapışıklık oluşumunu azaltabilse de tamamen ortadan kaldıramamıştır (53).

4.5. Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistem

4.5.1. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Oksidatif stres, pro-oksidan ve anti-oksidan sistemler arasındaki dengenin oksidan sistemler lehine bozulması sonucu lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen ürünlerinin

açığa çıkararak organizmada hücrel hasara yol açan ve birçok hastalığın patogeneğinde kritik öneme sahip olan bir olaydır (54, 55).

Serbest radikaller; yörüngelerinde bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektronun olduğu atom veya atom gruplarıdır (56). Bu eşleşmemiş elektron nedeni ile serbest radikal molekülü kararsız konumdadır ve kararlı yapı kazanabilmesi için elektronunu başka bir elektronla eşleştirmesi gerekir. Bu nedenle serbest radikalın kimyasal aktivite potansiyeli yüksektir (57). Serbest radikallerin artması oksidatif strese sebep olur ve hücrelerin lipid, protein, deoksiribonükleik asit (DNA), karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve de yapılarının bozulmalarına neden olurlar. Ayrıca mitokondrideki aerobik solunum ve kapiller geçirgenliğini bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırır (58, 59). Bu nedenle oksidatif stres, yaşlanma sürecinden (60), kanser (61), renal yetmezlik (62), infertilite (63) gibi birçok hastalığın etyolojisinde kritik rol oynamaktadır.

Oksidatif streste etkili olan reaktif oksijen türleri olarak süperoksit (O_2^-), hidroksil (OH), peroksil (RO_2), hidroperoksil (HRO_2^-) gibi serbest radikaller ve hidrojen peroksit (H_2O_2), hipokloröz asiti (HOCl) gibi nonradikal türleri sayabiliriz. Serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşması radikal zincir reaksiyonları ile diğer ürünlerin üretimine yol açarlar. Süperoksit radikali, organizmada nikotinamid dinüklotid fosfat (NADPH) oksidaz, ksantin oksidaz, siklooksijenaz gibi çeşitli oksidazlar aracılığı ile ve bazı koşullarda endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aracılığı ile oksijenin bir elektron redüksiyonu sonucu oluşur. Ayrıca adenosin trifosfat (ATP) sentezi için gerekli olan normal oksidatif fosforilasyon esnasında mitokondrial elektron transport zinciri tarafından üretilir. Normal şartlar altında O_2^- antioksidan savunma mekanizmaları tarafından hızla elimine edilir. O_2^- mitokondride manganez süperoksit dismutaz (Mn-SOD), sitoplazmada bakır süperoksit dismutaz (Cu-SOD) ile H_2O_2 'e dönüştürülür. H_2O_2 ise mitokondride glutatyon peroksidaz (GP-x), lizozomda CAT tarafından H_2O ve O_2 'e parçalanır. H_2O_2 ayrıca demir (Fe), bakır (Cu) gibi elementlerin varlığında reaktif OH radikaline (Fenton reaksiyonu) dönüştürülebilir (64).

Serbest radikaller membran yapısındaki fosfolipitlerde lipid peroksidasyonuna sebep olarak doğrudan hücreye zarar verir. Lipid peroksidasyonu son ürünü olarak MDA oluşur. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek

membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (64, 65).



4.5.2. Antioksidan Sistem

Serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta bazı savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Bunlar ‘antioksidan savunma sistemleri’ olarak bilinirler (66).

Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirirler (67):

1. Temizleme etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde olan bu etki enzimler tarafından yapılır.

2. Baskılama etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olan bu etki vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır.

3. Onarma etkisi

4. Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen ağır metaller şeklinde olan bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır.

Antioksidanlar enzimatik ve nonenzimatik olarak sınıflandırılırlar. Hücresel seviyede etkili olan enzimatik sistemler içinde birincil olan antioksidan enzimler arasında SOD, CAT, GP-x, yer alır. Non enzimatik antioksidan savunma sistemleri ise başlıca GSH, vitamin A, C, E, melatonin, albümin, bilirubin, ürik asit, karoten, sistein, transferrin gibi maddelerden meydana gelmektedir (68, 69).

SOD’un işlevi endojen olarak oluşan süperoksit radikalinin etkilerinden hücreleri korumaktır. Bunu da O_2^- radikalinin H_2O_2 -edönüşümünü katalize ederek yapar. İki tip SOD vardır. Birincisi bakır-çinko metaloenzimidir ve sitozolde bulunur. Diğeri ise manganaz metaloenzimidir ve çoğunluğu mitokondride bulunur. Enzime etkinliğini kazandıran metal iyonlarıdır. SOD’un bölgesel dağılımlı olması fizyolojik koşullarda O_2 ’ye karşı yeterli koruma sağlar. SOD’un etkinliğinin artması H_2O_2 üretimini artırır. OH- radikalleri ile hasarı sınırlamak için GP-x ve CAT ile birlikte çalışmalıdır. CAT, SOD’ın oluşturduğu H_2O_2 ’i peroksidazlarla beraber oksijen ve suya parçalar. Ayrıca düşük konsantrasyonlarda H_2O_2 ’i GP-x parçalar, yüksek konsantrasyonlarda ise CAT aktivite kazanır.

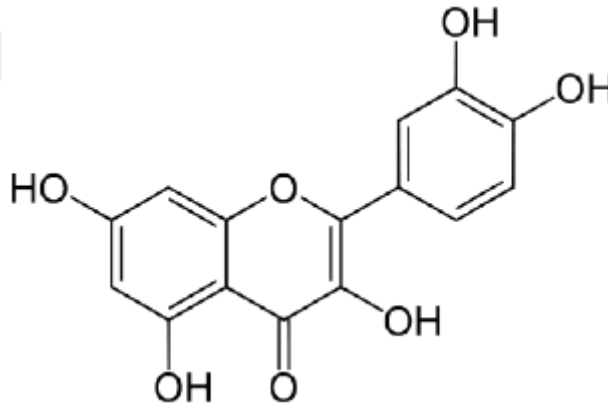
Glutasyon peroksidaz enzimi substrat olarak redükte GSH kullanır. Tepkimeye giren glutasyonlar okside olur ve bisülfid bağı ile birbirine bağlanarak indirgeyici

gücünü yitirir. Tepkime devamı için okside glutatyonlar (GSSG) ve indirgenmiş NADPH'nin kullanılması ve glutatyon redüktaz aracılığı ile katalizör bir tepki ile tekrar glutatyona çevrilmesi gereklidir. Bu tepkimede ko-faktör olarak kullanılan NADPH'nin tekrar sentezi için ise hegzosmonofosfat şantına ve bu şantta anahtar olan glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimine gerek vardır. Dolayısı ile glutatyon redüktaz ve G6PD de antioksidan savunma sistemi arasında değerlendirilmelidir (67, 70).

4.6. Quercetin

4.6.1. Yapısı ve Emilimi

Quercetin, (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon) olarak isimlendirilir ve yapısında 3,3',4' ve 5,7 pozisyonlarında –OH grubu bağlıdır. Quercetin, sarı renkte, acı bir tadı olan kristalize katı şekildedir. Suda çözünmez, alkolde kısmi çözünür, asetik asit ve sulu alkali solüsyonlarda tam çözünürlük sağlanır (71-73). Yapısal formülü aşağıdaki gibidir.



Şekil 1. Quercetin yapısı (72).

Quercetin bir flavon bileşiği olup doğada bitki çayları olarak bilinen bitkilerin yapraklarında, çiçeklerinde ve saplarında bulunur (74). Başta turpgiller, üzüm, elma, domates, çilek, yaban mersini, siyah ve yeşil çay, kırmızı şarap olmak üzere pek çok besinde farklı miktarlarda bulunmaktadır (75, 76). Yüksek miktarda Quercetin içeren bitkilerin başında soğan gelmektedir. Diyetle alınan quercetin yapısındaki glikozit bağları ve miktarları farklıdır, fenolik gruplara bağlı olan bir ya da daha fazla şeker grubu bulunabilir (77). Diyetle alınan günlük quercetin miktarı 5-40 mg arasında

değişmektedir. Bu miktar soğan, domates, elma gibi sebze ve meyveleri yüksek miktarlarda tüketen kişilerde ise 200-500 mg'a kadar artabilir (78).

Quercetin, ince barsaktan ve nispeten zayıf olarak absorbe edilir. Barsaktaki mikroflora flavonid glikozidi quercetin ve şekere hidrolize eder ve sonrasında quercetin enterohepatik sistem içerisine absorbe edilir (78). Absorbe edilen quercetin portal dolaşımla karaciğere taşınır ve burada ilk geçiş metabolizmasına uğrar. Quercetin tüm dokulara dağılır ve plazmada albumine sıkıca bağlanır. Oral alımından sonra pik plazma düzeyine 0,7 ile 7,0 saati içerisinde ulaşılırken eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 25 saattir (79).

4.6.2. Quercetin'in Yaygın Etkileri

Quercetin'in antioksidan, antikarsinojenik, antiagregan, vazodilatatör antienflematuar ve kardiyoprotektif özellikleri vardır (80). Viral enfeksiyona yatkınlığı azaltır (81). Gıda takviyesi olarak bulunur (82). Antioksidan özellikler genellikle quercetin'in kimyasal yapısının özellikle de –OH ikamesi ve katekol tip B halkasının varlığı ve lokasyonunun bir fonksiyonudur (80). Quercetin apoptozu indükler, tümör gelişimini engeller, fosfolipaz A2 ve protein kinazları inhibe eder, membran akışkanlığını artırır, farelerde eritrosit membranlarını oksidatif hasara karşı korur (83). Quercetin, antioksidan etkinliği ile oksidatif strese bağlı doku hasarını azaltarak global iskemi sonrası reperfüzyonda miyokardial iyileşmeyi arttırmaktadır. Bu koruyucu etki özellikle kronik tedavi uygulanan kalplerde belirgin olarak görülmektedir (84). Quercetin'in günlük alımı, enflamatuar araçların salınımının inhibisyonu, lipid peroksidasyonu ve oksidatif DNA hasarına karşı koruyuculuğuyla, nörodejeneratif hastalıklar, felç, tümör gelişimi ve kardiyovasküler hastalık riskinin azalmasıyla bağlantılı olabilir. Quercetin doza bağlı olarak hücrelerdeki peroksit üretiminin inhibisyonuna neden olmaktadır (85). Süperoksit ve hidroksil radikallerini temizlemekte, lipid peroksidasyonunu inhibe etmekte ve lipid peroksil radikallerini azaltmaktadır (86). Sadece direkt reaktif oksijen türlerinin temizleyicisi değildir; hücre içi sinyal kaskatları ile etkileşerek endojen antioksidan savunma sisteminde düzenleyici olarak da kendini gösterebilir (87). Quercetin uygulaması ile ilgili yapılan bir çalışmada karaciğerdeki bazal MDA konsantrasyonunun anlamlı şekilde azaldığı bildirilmiştir (88). Hayvan çalışmalarında quercetin uygulamasının oksidatif stresi (89), düşük

dereceli sistemik enflamasyonu (90) azaltarak ve mitokondriyal biyogenezi arttırarak (91) sağlığa faydalar sağladığı öngörülmüştür. Bazı insan çalışmalarının sonuçlarına göre genç sağlıklı katılımcılara yapılan quercetin ilavesi enflamasyonu (92) ve oksidatif stresi (93) azaltmadığı görüşüde mevcuttur.

Quercetin içeren çeşitli flavonoidler iskemi reperfüzyon hasarını indükleyebilen nitrik-oksit sentaz (iNOS) aktivitesini interfere ederek azaltırlar. Yüksek konsantrasyonda nitrik oksit (NO) üretimi oksidatif hasar sonucu makrofajlardaki indüklenabilen NO sentazın etkisi ile oluşur. Aktive makrofajlarda eş zamanlı olarak hem NO hem de süperoksit anyonu artar. NO serbest radikallerle reaksiyona girer ve oldukça hasar verici peroksinitrit oluşur. Flavonoidler antioksidan olarak kullanıldığında serbest radikaller temizlenir ve bundan dolayı NO ile reaksiyona giremezler ve daha az hasar oluşur. Ayrıca Quercetin-Ksantin oksidaz yolu oksidatif yolda özellikle iskemi reperfüzyon hasarında önemli role sahiptir. Hem ksantin dehidrogenaz hem ksantin oksidaz, ksantini ürik aside çevirir. Ksantin dehidrogenaz enzimin fizyolojik durumlardaki formudur, fakat ksantin oksidaz iskemi durumundaki formudur. Ksantin oksidaz ROS'un kaynağıdır. Reperfüzyon fazında ksantin oksidaz moleküler oksijenle reaksiyon verir ve süperoksit radikali oluşur. Quercetin ksantin oksidaz aktivitesini inhibe eder ve oksidatif hasarı azaltır (94).

Lökosit immobilizasyonunun azaltılması ile ilişkili çalışmalar incelendiğinde Quercetin ve diğer flavonoidlerin reperfüzyon sırasında immobilize lökosit sayısını azaltarak koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (95). Quercetin'in antiproliferatif etkisi olduğu ve bu etkiyi hücre siklusu ve hücre büyümesini düzenleyici genleri etkileyerek yaptığı söylenmektedir (96). Quercetin'in kronik inflamatuvar hastalıklar patogenezinde ve oksidatif stresterol alan ve antiviral ve antimikrobiyal etkiye de sahip olan tümör nekroz faktör- α (TNF- α) üretimini ve gen ekspresyonunu doza-bağımlı şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (97). Ayrıca solunum yolları, gastrointestinal sistem, deri ve idrar yollarında enfeksiyona yol açan bakteri türlerine karşı antibakteriyel aktiviteye sahiptir (98). Quercetin, glukozun diyabetik komplikasyonlarından (retinopati, nöropati, nefropati) sorumlu sorbitole dönüşmesini sağlayan aldoz redüktaz enzimini inhibe etmek suretiyle diyabetik hastalarda faydalı olabilir (99).

Quercetin'in Alzheimer hastalığı ve diğer bazı nörodejeneratif hastalıklarda doku hasarına yol açan oksidatif strese beyin hücrelerini koruduğu öne sürülmüştür (100). Ayrıca potansiyel bir anti-kanser ajan olarak umut vericidir. Farklı kanser hücre hatlarında apoptozu aktive ettiği, küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde hücre proliferasyonunu güçlü bir şekilde inhibe ettiği ve servikal kanserlerde nükleer faktör kappa B (NF-kB) ekspresyonunun azaltılmasıyla apoptotik hücre popülasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (101, 102). Bu hücrelerde pro-apoptotik Bax proteininin ekspresyonu yanında, sitozolik sitokrom c, Apaf-1 (*apoptotic peptidase activating factor 1*), p53, kaspaz-9 ve kaspaz-3 ile kesilmiş poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) miktarları da artmıştır. Buna karşılık anti-apoptotik Akt, Bcl-2, Bcl-xL ve Mcl-1 (*Myeloid Cell Leukemia 1*) ekspresyonları azalmaktadır (103). Quercetin uygulanan fare nöroblastoma hücrelerinde konsantrasyona bağlı olarak Bax protein ekspresyonu, kaspaz-3 ve kaspaz-9 aktivasyonu ile hücre döngüsünü düzenleyici bir protein olan p53 messenger ribonükleik asit (mRNA) seviyeleri anlamlı derecede artmıştır (104). Quercetin'in, mitokondriyal membran potansiyelinin kaybı, sitokrom c'nin sitoplazmaya salınması ve kaspazların aktivasyonu gibi etkileri aracılığıyla apoptozu tetiklediği savunulmaktadır (105). Proapoptotik ve antiapoptotik proteinleri modüle etme özelliği de vardır.

4.7. Apoptozis

Çok hücreli organizmalarda hücre bölünmesiyle artan hücre sayısı hücre ölümleriyle dengelenir. Eğer bir organizmada bir hücreye artık gereksinim duyulmuyorsa, hücre içi haberci sistemleri aktive edilerek o hücrenin intihar süreci başlatılır. Bu intihar süreci Yunanca'da yaprak dökümü anlamına gelen apoptoz diğer bir deyişle programlı hücre ölümüyle gerçekleşir (106). Apoptotik hücreler organizmanın bazı dokularında ve hücrelerinde sürekli olarak oluşmaktadırlar ve bu oluşum ömür boyu devam etmektedir. Böylece ölüm (apoptoz) ve yeniden yapım (mitoz) bu dokularda doku homeostazisini oluşturmak için dinamik bir denge halindedir. Apoptozun artması nörodejeneratif hastalıklara, AIDS'de (Acquired Immune Deficiency Syndrome) görülen lenfosit yetersizliğine; azalması ise malignite ve otoimmün hastalıklara yol açabilir.

Apoptoz hücre içinden veya dışından gelen sinyallerle başlatılan ve birbirini takip eden bir olaylar zinciri olarak seyredir. Sonuçta hücrenin fagositozu ile sona erer. Bu aşamalar;

I) Apoptozun başlatılması,

II) Hücre içi proteazların (kaspazların) aktivasyonu,

III) Hücrede çeşitli morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin oluşması,

IV) Fagositoz, olarak özetlenebilir (107).

Apoptotik hücrede gözlenen değişiklikleri ele aldığımız zaman hücrenin küçülmeye ve kondanse olmaya başladığını, hücre iskeletinin dağıldığı ve çekirdek zarının yer yer eridiği gözlenir. Ayrıca çekirdek DNA'sı parçalara ayrılır (108, 109). Apoptozun en belirgin özelliği hücre içi Ca (kalsiyum) ve Mg (magnezyum) bağımlı endojen endonükleaz enziminin aktivasyonu ile kromozomal DNA'nın nükleozomal birimlere parçalanmasıdır. Apoptotik hücrelerin DNA'sı agaroz jel elektroforezinde merdiven basamağına benzer (ladder formasyonu) bir yapı biçiminde görülür. Bu, apoptoz için tipik bir görünüm sağlar (110). Apoptoza uğrayan bir hücrede laminin ve aktin filamentlerinin kopması sonucu sitoplazmada çekilme ve küçülme gözlenir. Kromatin ve çekirdekte bulunan yapısal proteinlerin parçalanması sonucu çekirdekte kondensasyon başlar ve çoğu zaman çekirdek kromatinin çekirdek membranının iç yüzüne yerleşmesi nedeniyle at nalı biçiminde görülür. Hücre büzülmeye ve küçülmeye devam eder ve makrofajların tanıyabileceği ve normal hücrelerden daha kolay ayırt edilebileceği membran ile çevrili küçük parçalara ayrılır. İçlerinde sitoplazma ve sıkıca paketlenmiş organeller, bazılarında çekirdek parçaları da mevcut olan apoptotik cisimler meydana gelir. Çekirdek de hücre gibi büzülür ve bazen membranla sarılı olarak birkaç parçaya ayrılabilir. Nüklear porlar kromatinin membrana komşu olmadığı bölgelerde yoğunlaşırlar (107). Apoptoz sırasında apoptotik hücrelerin membranlarında değişimler olur. En belirgin değişim normalde hücre membranının sitoplazmik yüzeyinde yer alan negatif yüklü fosfolipidlerin birimlerinin hücre membranının dış yüzeyine çıkmasıdır. Bunun sonucunda kollektin (C1q) adı verilen çeşitli proteinler apoptotik hücre zarına bağlanmaktadır. Ayrıca normalde hücre zarında gizlenmiş olan N-asetil glikozamin ve N,N diasetilşitabroz molekülleri apoptozda açığa çıkarlar ve makrofajlar tarafından tanınırlar. Apoptotik hücrelerde görülen morfolojik membran

değişimlerinden biri de hücre içeriklerini içine alan ve membranla çevrili veziküller biçiminde apoptotik hücrelerden kopan tomurcuklardır. Bu küçük veziküller apoptotik cisim olarak da adlandırılırlar. Bu değişimler apoptotik sürecin sonlarına doğru görülür (111). Apoptozis tanı yöntemleri içerisinde apoptotik hücre morfolojisinin değerlendirilmesinde kullanılan ışık, floresan, lazerli konfokal, elektron ve faz-kontrast mikroskobu ile inceleme yer alır. DNA fragmentasyonlarının belirlenmesinde agaroz Jel elektroforezi, enzimatik yolla DNA fragmentasyonlarının belirlenmesi Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL), İn situ hibridizasyon tekniği ve Anneksin-V yöntemi ile apoptozise özgü proteinlerin saptanması ve flow sitometri yöntemi kullanılır (112, 113).



5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Deneysel Çalışma Aşaması

5.1.1. Deney Hayvanları ve Etik Prosedür

Çalışmamız Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Tıp Fakültesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 30.06.2015 tarih ve Etik kurul karar no:4 ile (12.05.2016 tarih ve 272 sayı ile düzeltmeli) onay almıştır. Çalışma süresince kullanılan deney hayvanları, kimyasal malzemeler, araç ve gereçler KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2015-5331 kod numarasıyla desteklenmiştir. Bu çalışmada, 10-12 haftalık Sprague Dawley cinsi (250-300 gr) 48 adet erkek sıçanlar kullanıldı. Çalışma grubunu oluşturan sıçanların tamamı KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Çalışma süresince sıçanların bakımı, beslenme ve barınması için KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nde bulunan sıçan takip odaları kullanıldı. Deney için kullanılan sıçanların tamamı Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edildiği için çevre stresi ve uyum problemi yaşanmadı. Çalışmanın deneysel aşamaları ve histopatolojik incelemeleri KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında tamamlandı. Ayrıca yarı ince kesit alımı için KTÜ Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Elektron mikroskopi laboratuvarı ve biyokimyasal parametrelerin incelenmesinde KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarları kullanıldı.

5.1.2. Laboratuvar Koşulları

Deney süresince laboratuvarın sıcaklığı ortalama $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, nisbi nem ortalama $\%50 \pm 5$ olarak ayarlandı. 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde aydınlatılma sağlandı. Deney süresi boyunca standart laboratuvar hayvan yemi ve ad libitum su verildi. Çalışma süresince sıçanlar standart kafeslerde ve her kafeste 1 adet sıçan olacak şekilde barındırıldı.

5.1.3. Vücut Ağırlığının Belirlenmesi

Sıçanların ilk vücut ağırlığı belirlemesi siyatik sinir hasarından önce gerçekleştirildi. Hayvanların vücut ağırlıkları haftada bir kez ölçülerek kaydedildi.

5.1.4. Deney Gruplarının Belirlenmesi ve Uygulama Planı

Deney için 10-12 haftalık (250-300 gr) Spraque Dawley cinsi 48 adet erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar 8 grup olmak üzere yaş ve ağırlıklarına göre homojen şekilde gruplara ayrıldı. Gruplar;

Sham 7 Günlük Grup (S-7), (n:6): Sıçanlara deneyin ilk günü sadece cerrahi insizyon yapıp kapatıldı ve 7. günde sakrifiye edildi.

Sham 28 Günlük Grup (S-28), (n:6): Sıçanlara deneyin ilk günü sadece cerrahi insizyon yapıp kapatıldı ve 28.günde sakrifiye edildi.

Quercetin 7 Günlük Grup (Q-7), (n:6):Sıçanlara deneyin ilk gününden itibaren 7 gün süre ile her gün 200 mg/kg quercetin (Sigma-Aldrich, Co,St.Louis, USA; CAS: 117-39-5) %0.5 lik dimetil sülfoksit (DMSO) (Merck, Darmstadt, Germany; CAS: 8.02912.1000) ile çözülerek oral yolla intragastrik olarak uygulandı ve 7. gün sakrifiye edildi.

Quercetin 28 Günlük Grup (Q-28), (n:6): Sıçanlara deneyin ilk gününden itibaren 7 gün süre ile 200 mg/kg quercetin %0.5 lik DMSO ile çözülerek oral yolla intragastrik olarak uyguladı ve 28. günde sakrifiye edildi.

Travma 7 Günlük Grup (T-7), (n:6): Cerrahi insizyon ile siyatik sinir açığa çıkartıldı ve mikro vasküler klemp ile 1 dakika (dk) süresince ezilme hasarı yapıp kapatıldı (3) ve sıçanlar 7. günde sakrifiye edildi.

Travma 28 Günlük Grup (T-28), (n:6): Cerrahi insizyon ile siyatik sinir açığa çıkartıldı ve mikro vasküler klemp ile 1 dk süresince ezilme hasarı yapıp kapatıldı, 28. günde sakrifiye edildi.

Travma + Quercetin Tedavisi 7 Günlük Grup (T+Q-7), (n:6): Cerrahi insizyon ile siyatik sinir açığa çıkartılarak mikro vasküler klemp ile 1 dk süresince ezilme hasarı yapıp kapatıldı ve 7 gün süre ile 200 mg/kg quercetin (114) %0.5lik DMSO ile çözülerek oral yolla intragastrik olarak uygulandı. Sıçanlar 7. gün sakrifiye edildi.

Travma + Quercetin Tedavisi 28 Günlük Grup (T+Q-28), (n:6): Cerrahi insizyon ile siyatik sinir açığa çıkartılıp mikro vasküler klemp ile 1 dk süresince ezilme hasarı yapıldı ve deri kapatıldı. Sıçanlara hasar oluşturulduktan itibaren 7 gün süre ile

200 mg/kg quercetin %0.5'lik DMSO ile çözölerek oral yolla intragastrik olarak uyguladı ve sıçanlar 28. günde sakrifiye edildi.

5.1.5. Sinir Hasarının Oluşturulması

Deney prosedürünün uygulanması için sıçanlar intraperitoneal olarak ketamin (90 mg/kg) (Ketalar® 50 mg/kg, Eczacıbaşı Co., Istanbul, Turkey) + ksilazin (10 mg/kg) (Rompun %2, BAYER HEALTHCARE LLC. Kansas, ABD) ile anestezi altında iken prone pozisyonda ayakları tespit edildi. Antiseptik bir solüsyon ile sağ yanal uyluk bölgesi temizlenerek bistüri yardımı ile cerrahi insizyon açılarak klipslendi. Daha sonra tek taraflı olarak büyük trakoarterden orta uyluğa kadar uzanan bir kesi ile kas insizyonu yapıldı. Sham grupları için siyatik sinir görüldü ve herhangi bir dokunuş olmadan deri kapatıldı. Travma grupları için ise kas insizyonundan sonra sağ siyatik sinir açığa çıkartıldı. Açığa çıkartılan siyatik sinire mikro vasküler klemp ile 1 dk süresince ezilme hasarı yapıldı. Daha sonra kesi bölgesinde deneyin ileri aşamalarında oluşabilecek olumsuzlukları önlemek için deri altı dokusu 4,0 ipek sütur (Doğsan, Türkiye; CAS: TS5505) ile çift kat olarak dikilerek deri rutin tarzda kapatıldı ve operasyon tamamlandı (Resim 1). Cerrahi girişim sonrası sıçanlar 1. ve 4. hafta için iyileşmeye bırakıldı.



Resim 1. Siyatik sinir hasarının oluşturulması

5.1.6. Kan ve Doku Numunelerinin Toplanması

Deney süresinin bitiminde siyatik sinir bisturi yardımı ile proksimal ve distalinden kesilerek çıkartıldı. Ayrıca aynı bölgede bulunan gastroknemius kası da çıkarıldı. Akabinde biyokimyasal parametreler için antikoagülsüz ve ethylenediamine

tetraacetic acid (EDTA)'lı tüpe kan örneği alınarak 3000 rpm de 10 dk santrifüj sonrası elde edilen serumlar -80 °C derin dondurucuda saklandı. Sonra çıkarılan siyatik sinir dokuları ikiye ayrılarak yarısı histolojik değerlendirmeler için uygun tespit solüsyonuna alınarak tespit işlemine başlandı. Diğer yarısı ise biyokimyasal değerlendirmeler için eppendorf tüp içerisine alınıp -80 °C'de derin dondurucuda saklandı.

5.2. Sıçan Siyatik Sinir ve Gastroknemius Kas Dokularına Ait Histopatolojik Preparasyon ve Değerlendirme

Morfolojik analiz için; periferik sinir takibinde miyelinli aksonları iyi fiske ettiği için altın standart kabul edilen osmium tetroksit (OsO_4) ile fiksasyona ve toluidin blue ile boyamaya literatür araştırması sonucu karar verildi (115) Siyatik sinir hasar alanının 0.5 cm distalinden alınan doku örneği 2.5% glutaraldehid (Merck, Darmstadt, Germany; CAS: 1.04239.0250) solüsyonu içerisine alınarak tespit edildi (0.4 M phosphatebuffer solution (PBS), pH 7.4). Devamında post-fiksasyon için sırasıyla, 1% OsO_4 (abcr GmbH&Co.KG Karlsruhe, Germany) ve 1% uranil asetat içinde 1 saat bekletildi. Ardından artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek epoxy resine gömüldü (Tablo 1). Ardından ultramiktotom (Reichard Ultracut R, LEICA) ile ve 0,5 μm yarı ince kesitler alınıp Toluidine blue ile boyandı. Ayrıca rutin histolojik doku takip prosedürü sonrası elde edilen parafin bloklardan 5 μm kalınlığında kesitler alındı, H&E ve Masson Trikrom (Masson Trichrome Stain Kit-Methyl/Aniline Blue, Atom Scientific LTD Manchester) ile boyanarak ışık mikroskopunda morfolojik ve morfometrik analizler yapıldı. Çıkarılan gastroknemius kas dokusu %10 formalin solüsyonunda tespit edildi ve rutin histolojik doku takip prosedürü uygulanarak parafin bloklar elde edildi. Ardından tam otomatik mikrotom (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) ile 5- μm kalınlığında kesitler alındı ve doku boyama cihazı ile H&E (LEICA auto stainer XL, Minnesota, USA) ve MassonTrikrom Kit ile boyanarak kapatıldı. Siyatik sinire ait kesitlerde morfometrik analiz için Toluidin blue ile boyanan tüm preparatlara ait yarı ince kesitlerde, her bir kesitte 5 farklı alanda miyelinli sinir lifi sayısı, miyelin kılıf kalınlığı ve sinir lifi çapı ışık mikroskop altında (Olympus BX 51; Olympus Optical Co, Ltd, Tokyo, Japan) ve Analysis 5 Research (Olympus Soft Imaging Solution, Germany) software programı kullanılarak ölçüldü ve fotoğraflandı.

Tablo 1. Elektron mikroskop için doku takip ve gömme prosedürü

Madde	Konsantrasyon	Süre	Isı
Gluteraldehit	%2,5	>2 saat	+4 ⁰ C
PBS		2x10 dk	+4 ⁰ C
OsO ₄	%1	60 dk	+4 ⁰ C
PBS		10 dk	+4 ⁰ C
Uranil Asetat	%1	60 dk	+4 ⁰ C
PBS		10 dk	+4 ⁰ C
Alkol	%30	10 dk	+4 ⁰ C
Alkol	%50	10 dk	+4 ⁰ C
Alkol	%70	10 dk	Oda ısısı
Alkol	%96	10 dk	Oda ısısı
Alkol	%100	10 dk	Oda ısısı
Propilen oksit		2x10 dk	Oda ısısı
Propilen oksit: Epon	1:1	1-2 saat	Oda ısısı
Propilenoksit: Epon	1:3	1-2 saat	Oda ısısı
Epon	Saf	1 saat	Oda ısısı
Epon (kapsül içinde)	Saf	18 saat	+60 ⁰ C

5.2.1. Toluidine Blue Hazırlanma Prosedürü

Toluidin blue 1 gr

Sodyum tetraborata (borax)..... 1 gr

Distile su..... 100 cc

100 cc distile su içinde 1 gr borax eritildi. İçine 1 gr toluidin blue konularak iyice çalkalandı. Tamamen eritildikten sonra filtre kağıdı ile süzülerek kullanıldı. Bu solüsyon normal oda ısısında birkaç ay stabildir (116).

5.2.2. Epon Karışımı Hazırlama Materyali Prosedürü

50 ml epon gömme materyali karışımı hazırlamak için aşağıdaki maddeler belirtilen oranlarda karıştırıldı, gömme materyali haline getirildi;

22,75 ml Araldite M (Sigma-Aldrich, Co, St. Louis, USA)

15,5 ml Dodekenilsüksinik Anhidrit (DDSA) (Merck, Darmstadt, Germany)

11,75 ml Epoxy embedding medium, hardener methylnadic anhydride (MNA) (Sigma-Aldrich, Co, St.Louis, USA)

1.0 ml 2, 4, 6 Tris (Dimethylaminomethly) phenol (Sigma-Aldrich, Co,St.Louis, USA)

5.2.3. Işık Mikroskobu İçin Doku Hazırlama Prosedürü

Dokuların takip, kesit alma ve boyanma işlemlerinin tümü KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Tespit işlemini takiben aşağıdaki aşamalardan sırasıyla geçirilerek parafin blok haline getirildi.

- % 70'lik alkol1 gün
- % 90'lık alkol1 gün
- % 96'lık alkol1 gün
- % 100'lük alkol1 gün
- % 100'lük alkol1 saat (1 kez)
- Ksilen5 dk (3 kez)
- Dokular eritilmiş parafin içerisinde 58 °C'de etüvde 3 kez 15 dakika bekletildi ve sonrasında tekrar etüv içerisinde 2 saat bekletildi.
- Dokular bloklandı.

5.2.4. Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi

Kesit alma işlemi tamamlandıktan sonra lam üzerine alınan dokular H&E boyaması için zembile yerleştirildi. Parafinin erimesi için 1 saat 58°C etüvde bekletildi ve doku boyama cihazında (LEICA auto stainer XL, Minnesota, USA) sırasıyla aşağıdaki işlemlerden geçirildi:

- Ksilen5 dk
- Ksilen5 dk
- Ksilen5 dk
- %100'lük alkol5 dk
- %96'lık alkol5 dk
- %70'lik alkol5 dk
- Yıkama 1 (distile su)1 dk
- Hematoksilen.....2 dk
- Yıkama 2 (musluk suyu)5 dk
- Asit alkol1 kez
batırılıp çıkartıldı.
- Yıkama 3 (distile su)1 dk
- Amonyaklı su10 sn

- Yıkama 4 (distile su)1 dk
- Eozin.....1.5 dk
- Yıkama 5 (distile su)1 dk
- % 96'lık alkol5 sn
- %100'lük alkol5 dk
- Ksilen5 dk
- Ksilen5 dk
- Entellan ile kapatıldı.

5.2.5. Masson Trikrom Kitine Ait Boyama Prosedürü

Preparatların 58°C etüvde 1 saat deparafinizasyonunu takiben kit içeriğindeki A ve B solüsyonları eşit miktarda karıştırılarak Weigert Iron Heamatoxylin solüsyonu elde edildi. Deparafinizasyondan sonra dokular aşağıdaki sıralı işleme tabi tutuldu.

- Suda yıkama
- Weigert Hematoksilen.....15 dk
- Suda yıkama
- Asit alkol batırılıp-çıkarıldı
- Suda yıkama
- Ponceau Fuchsin.....5 dk
- Distile suda yıkama
- Phosphotungustic asit15 dk
- Methylblue5 dk
- Distile suda yıkama
- Oda sıcaklığında kurutulup absolü etanolda dehidrate edildi.
- Preparatlar ksilenle geçirilip kapatıldı.

5.3. İmmünohistokimyasal İşlemler

Alınan siyatik sinir ve gastrocnemius kasına ait doku örneklerinin apoptozis değerlendirmesinde TUNEL tekniği kullanılarak her bir dokuya ait hücrelerde DNA fragmentasyonları tanımlandı. Kesitlerin TUNEL tekniği ile boyanmasında In Situ cell Death Detection Kiti kullanıldı (Roche, Mannheim, Germany) ve üretici firmanın prosedürü referans alındı. Apoptozis değerlendirmesinde TUNEL tekniği ile boyanan kesitler ışık mikroskop (Olympus, BX51, Japan) altında, X400 büyütmede nekroz

alanları bulunmayan, homojen boyanmış TUNEL (+) hücreler apoptotik hücre olarak tanımlandı. Her dokuda 400X büyütmede 5 farklı alanda toplam 100 hücre sayılarak apoptotik ve normal hücreler kaydedildi ve AI hesaplandı (AI= TUNEL (+) hücre sayısı / toplam hücre sayısı x 100).

5.3.1. TUNEL Boyama Prosedürü

TUNEL tekniği için In situ cell death detection kit, POD kiti kullanıldı (11 684 817 910 ROCHE). Lam üzerine alınan 5 µ'luk kesitler 1 saat 58°C'lik etüvde bekletildikten aşağıdaki işlemlerden geçirildi.

- Oda ısısında 3x5 dk ksilende inkübe edildi.
- %100 etanol 2x5 dk
- %95 etanol 2x5 dk
- %70 etanol 2x5dk
- Distile su ile yıkanır.
- PBS'de yıkanır.
- %3 H₂O₂'de 15 dk
- Distile su ile yıkanır.
- PBS'de 2x5 dk
- Oda ısısında Large Volume UV (Ultra V) block 10 dk
- 75 µg Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) ve 50 µl TdT/dUTP karışımı ile dokular kaplanır, 37 °C'lik etüvde 1,5 saat nemli ortamda tutulur.
- PBS'de yıkanır.
- 100 µl converter peroksidaz (Roche diagnostic, Mannheim, Germany) dokuyu kapatacak şekilde kaplanır ve 37 °C'lik etüvde inkübe edilir.
- PBS'de 3x5 yıkanır.
- 100 µl 3,3'-diaminobenzidine including kit (DAB) (Sigma, St Louis, MO, USA). DAB ile 5 dk karanlıkta oda ısısında beklenir.
- Distile suda 1x2 kez yıkanır.
- H&E ile 15 sn boyanır ve çeşme suyu ile yıkanır.
- %70 etanol 1x5dk
- %95 etanol 1x5 dk
- %100 etanol 1x5 dk
- Ksilen 2x5 dk

- Kurutulup kapatılır.

5.4. Biyokimyasal incelemeler ve Kullanılan Yöntemler

5.4.1. Doku ve Serum SOD Aktivitesi Ölçümü

Doku ve serum SOD aktivitesi Sun ve Oberley'in (117) geliştirdiği yöntem yoluyla belirlendi. Bu yöntem, ksantin-ksantinoksidaz sistemiyle oluşturulan $O_2^{\cdot-}$ lerinin nitro bluetetrazoliumu indirgemesi sonucu oluşan mor renkli formazan molekülünün 560 nm'de verdiği absorbansın ölçülmesi esasına dayanan bir yöntemdir. SOD enzim aktivitesi ölçümünde kullanılan çözeltiler aşağıda verilmiştir.

SOD Reaktif Karışımı: 3.65 mg ksantin, 8.93 mg etilendiamintetraasetik asit, 1.01 gr Sodyum Karbonat (Na_2CO_3), 12 mg Bovine serum albumin (BSA) tartıldı ve hacmi 156 ml'ye tamamlandı.

2 M Amonyum Sülfat $[(NH_4)_2SO_4]$ Çözeltisi: 2.64 gr $(NH_4)_2SO_4$ 10 ml saf suda çözüldü.

0.8 mM $CuCl_2$ Çözeltisi: 6.82 mg Bakır II Klorür ($CuCl_2$) alındı ve 50 ml deiyonize suda çözüldü.

167 U/L Ksantin Oksidaz Çözeltisi: 3.3U/ ml'lik orijinal şişeden 101 ml alınıp 2 ml' ye $(NH_4)_2SO_4$ çözeltisi ile tamamlandı.

150 μ M Nitroblue Tetrazolium Çözeltisi: 4.9 mg nitrobluetetrazolium 40 ml deiyonize suda çözülerek elde edildi. 100 U/ml'lik stok SOD standardından 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 U/ml' lik SOD standartları deiyonize su kullanılarak hazırlandı.

SOD aktivitesi hesabında kullanılan % inhibisyonu belirlemek için aşağıda belirtilen formül kullanıldı.

$$\% \text{ inhibisyon} = (AbsKör - AbsNumune) \div (AbsKör) \times 100 \quad (1)$$

Belirlenen SOD aktiviteleri, toplam protein miktarına bölünerek sonuçlar U/mg protein olarak hesaplandı.

5.4.2. Doku ve Serum CAT Aktivitelerinin Ölçümü

CAT aktivitesi, amonyum molibdatın H_2O_2 ile oluşturduğu sarı renkli kompleksin verdiği absorbansın 405 nm'de ölçülmesi temeline dayanan yöntem yardımıyla ölçüldü (118). 10 mg CAT standardı 10 mL soğuk fosfat tamponunda çözülerek 160 kU/ml'lik

stok CAT standardı elde edildi. Stok CAT standardından 80, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25 kU/ml'lik CAT standartları oluşturuldu. CAT aktivitesinin ölçümünde kullanılan çözeltiler aşağıda verilmiştir. Doku ve serumlarda GSH analizi Ellman'ın geliştirdiği yöntemle göre belirlendi (119).

60 mM'lık Sodyum-Potasyum Fosfat Tamponu: 2.08 gr sodyum fosfat (Na_2HPO_4) ve 1.58 gr Potasyum Di hidrojen Fosfat (KH_2PO_4) bir miktar saf suda çözüldü. pH'sı 7'ye ayarlandıktan sonra son hacim saf su ile 500 ml'ye tamamlandı.

Amonyum Molibdat Çözeltisi: 10.01 gr amonyum molibdat bir miktar saf suda çözüldü ve son hacim 250 ml'ye tamamlandı.

Substrat Çözeltisi: 9.7 mM'lık H_2O_2 'den 336 μl alındı ve 50 ml PBS'de seyreltildi.

5.4.3. Doku MDA Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku MDA seviyelerinin belirlenmesi, MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu kompleksin renginin 532 nm'deki absorbansının ölçülmesi esasına dayanan metot yardımıyla yapıldı (120). MDA seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltiler aşağıda verilmiştir.

%1'lik Fosforik Asit (H_3PO_4) Çözeltisi: Bir miktar saf su üzerine 2.94 ml %85'lik H_3PO_4 eklendi ve son hacim saf su ile 250 ml'ye tamamlandı.

TBA Çözeltisi: 0.67 gr TBA 50 ml saf suda manyetik bar yardımıyla 30 °C'de yaklaşık 20 dakika karıştırıldı. TBA çözeltisi tamamen soğuduktan sonra üzerine 50 ml asetik asit ilave edildi ve iyice karıştırılarak çalışmada kullanılan nihai çözelti elde edildi.

Standart çözeltiler: 8.3 μl tetrametoksipropan 0.01 M hidroklorik asit (HCl) çözeltisine eklendi ve 50 °C'de 1 saat inkübe edildi. Reaksiyon sonucu oluşan 10000 nmol/ml'lik stok MDA standardından 100 nmol/ml'lik ara stok çözelti hazırlandı. Ara stok çözeltiden 10 nmol/ml'lik çözelti elde edildi ve bu çözeltiden seri seyreltmeler yapılarak 80, 40, 20, 10 ve 5 nmol/ml'lik standart çözeltiler hazırlandı.

5.4.4. Doku Homojenatında Protein Miktarının Ölçümü

Doku homojenatlarında protein tayini, katalog numarası 71285-3 olan bisinkoninik asit protein ölçüm kiti (Novagen, MerckMillipore, Almanya) protokolüne uygun olarak yapıldı. Çalışmada stok standart olarak 2 mg/ml'lik sığır serum albümini kullanıldı.

5.4.5. Serum MDA Seviyesi Tayini

Plazma lipid peroksit seviyesi ölçümü Yagi (121) yöntemiyle yapıldı. Lipid peroksidasyon ürünü (MDA) ile tiyobarbitürik asit arasındaki reaksiyon sonucu oluşan kırmızı renk 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Kullanılan Çözeltiler

0.042 M Sülfirik Asit (H_2SO_4): 570 μ l % 98'lik H_2SO_4 bir miktar su içeren balon jojeye pipetlenip hacim 250 ml'ye tamamlandı.

% 10'luk Fosfotungstik Asit: 0.5 gr Fosfotungstik asit 4.5 ml deiyonize suda çözüldü.

% 0.67'lik TBA Çözeltisi: 0.67 gr TBA % 50'lik 100 ml asetik asit çözeltisinde ısıtılarak çözüldü.

Standart Çözeltileri: 0, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 nmol 1,1,3,3-tetrametoksipropan/ml: 164.7 μ l 1,1,3,3-tetrametoksipropan 0.01 M HCl ile 100 ml'ye tamamlandı ve 50 $^{\circ}C$ 'de 1 saat inkübe edildi. Bu 10 mM'lık stok çözeltiden 10 μ l alınıp 10 ml'ye deiyonize suyla tamamlanarak hazırlanan 10 μ M'lık standarttan seri seyreltmeler yaparak 10, 5, 2.5, 1.25, 0.67 nmol/ml'lik standart çözeltiler hazırlandı.

5.5. İstatistiksel Analizler

Veriler SPSS 22 (Statistical Package for the Social Sciences 22) bilgisayar paket programına aktarıldı ve istatistiksel olarak değerlendirildi. Çalışmanın sonuçlarının normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Normal dağılıma uymayan birbirinden bağımsız gruplardaki ikiden fazla değişkenin değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi ve ikili değişken için Mann-Whitney U testi uygulandı. Normal dağılıma uymayan birbirine bağımlı gruplardaki ikiden fazla değişkenin değerlendirilmesinde Friedman testi ve ikili değişken için Wilcoxon testi uygulandı.

Değişkenlerden elde edilen değerler medyan-çeyrekler arası aralık şeklinde tanımlandı ve $p<0.05$ istatistiksel anlamlı kabul edildi. Tablo içerisinde ortalama ve standart sapma (SD) değerleri ile belirtildi.



6. BULGULAR

6.1. Gözlemler

Deney süresince sıçanlar her gün rutin beslenme ve barınma açısından kontrol edildi. Cerrahi işlem sonrası haftalık insizyon yeri kontrol edildi ve herhangi bir enfeksiyon bulgusuna rastlanmadı. Siyatik sinir hasarı oluşturulan tüm gruplarda sıçanların hasar oluşturulan taraftaki pençelerini hafif fleksiyonda, hafifçe sağa çevrilmiş ve vücuda daha yakın şekilde tuttukları gözlemlendi. Bununla birlikte tüm denekler deney süresini sağlıklı olarak tamamladı.

6.2. Vücut Ağırlığı Değerlerine Ait Bulgular

Vücut ağırlıkları açısından tüm gruplarda başlangıç değerlerine göre dört hafta boyunca zamana bağlı bir kilo artışı olsa da (Tablo 2) bu artışlarda herhangi bir grubun ($p>0.05$) etkisi bulunmadı. Sadece hasar grubunun vücut ağırlık değerleri ikinci haftadan sonra diğer gruplara göre daha belirgin olarak artsa da bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Tablo 2. Deney gruplarının vücut ağırlığına ait ortalama ve standart sapmalar

Gruplar	Vücut ağırlığı (gr)				
	Başlangıç	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
S-7	292,85±10,65	298,30±9,62	301,88±8,93	309,60±8,83	313,38±8,66
S-28	294,06±9,21	299,34±8,78	304,22±8,99	311,24±10,45	313,67±8,57
Q-7	292,80±10,93	297,49±11,28	299,16±9,53	306,83±9,30	313,16±7,33
Q-28	295,47±13,47	299,76±13,16	305,05±13,05	314,16±11,08	317,66±9,75
T-7	291,81±12,26	299,34±14,05	309,83±13,49	315,33±10,01	319,16±8,88
T-28	292,76±12,02	298,23±11,31	306,33±10,91	311,50±11,20	315,66±8,73
T+Q-7	296,97±14,55	301,20±12,97	308,50±15,48	311,33±14,30	313,33±13,07
T+Q-28	296,42±12,64	300,26±12,69	308,16±9,76	311,33±10,40	315,66±9,13

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Her grupta n=6 sıçan

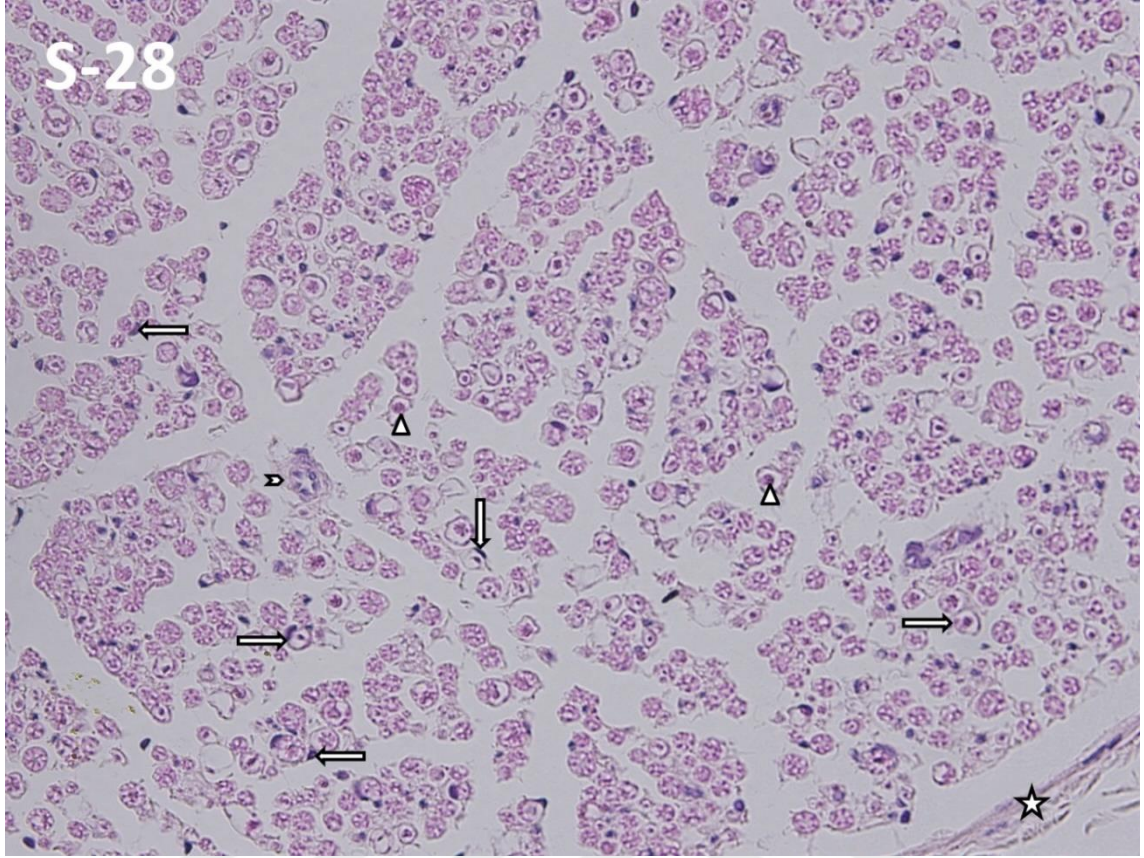
6.3. Siyatik Sinir ve Gastroknemius Kasına Ait Morfolojik Değerlendirme Bulguları

Tüm gruplara ait siyatik sinir dokularında histopatolojik değerlendirmeler rutin H&E, Masson trikrom ve yarı ince kesitlerde toluidin blue boyama işlemi yapılarak gerçekleştirildi.

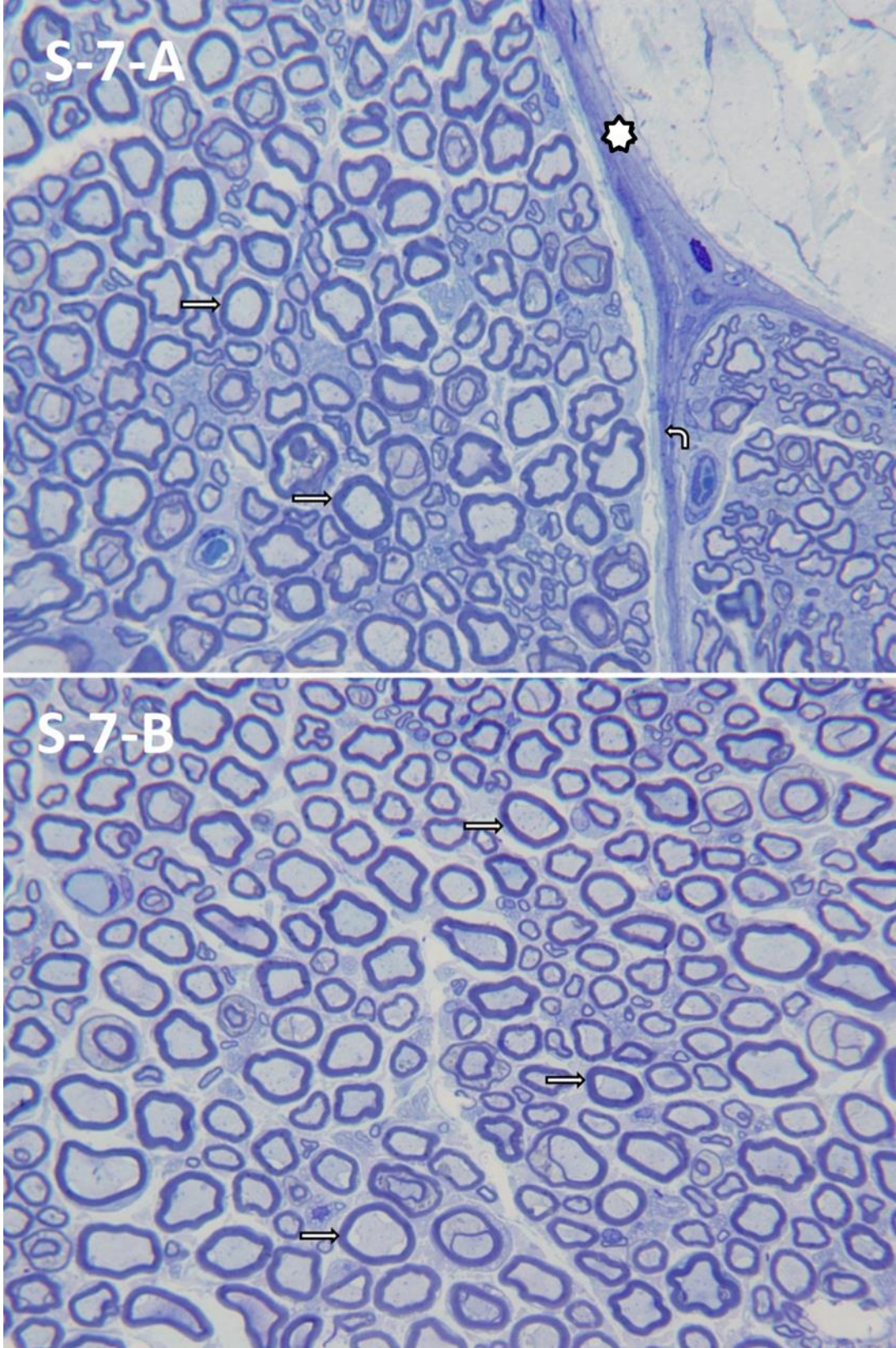
S- 7 ve S- 28 gruplarına ait hayvanların siyatik sinir yarı ince kesitlerinin ışık mikroskopik incelenmesinde, sinir kesitinin literatürle uyumlu olarak unifasiküler yapıda olduğu izlendi. Siyatik sinir kesitleri en dışta epinöryum ile çevriliydi. Epinöryum kılıf içerisinde fasiküller şeklinde bir araya gelmiş akson demetleri etrafında perinöryum bağ dokusu tabakası ve aksonlar arasına yayılmış yer yer kan damarları izleniyordu. Sinir fasikülünde miyelinli aksonlar dikkat çekiciydi. Periaksonal bölgede endonöryum bağdokusu hücre nükleusları ve Schwann hücre nükleusları olarak değerlendirilen heterokromatik nükleuslar izlendi. Miyelinli sinir liflerinde, Schwann hücreleri tarafından yapılan ve aksonun etrafında yerleşmiş olan miyelin kılıfın varlığı görüldü. Ayrıca yer yer mast hücrelerine rastlandı (Resim 2-6).



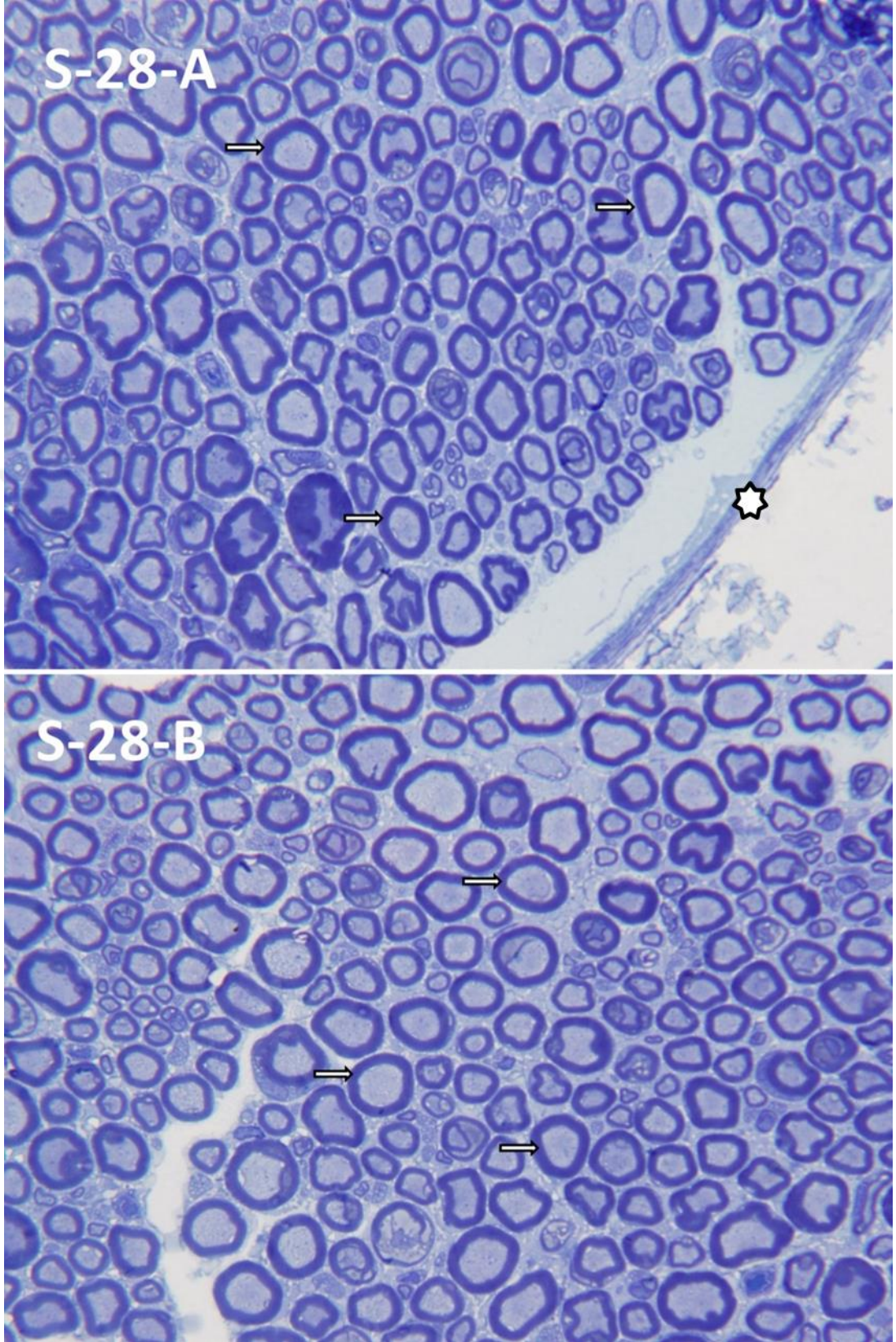
Resim 2. S-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü. Epinöryum (yıldız), miyelinli sinir lifi (sağ ok), akson (ok başı), Schwann hücre nükleusu (sol ok), kan damarı (köşeli çift ayıraç) (H&E, X40).



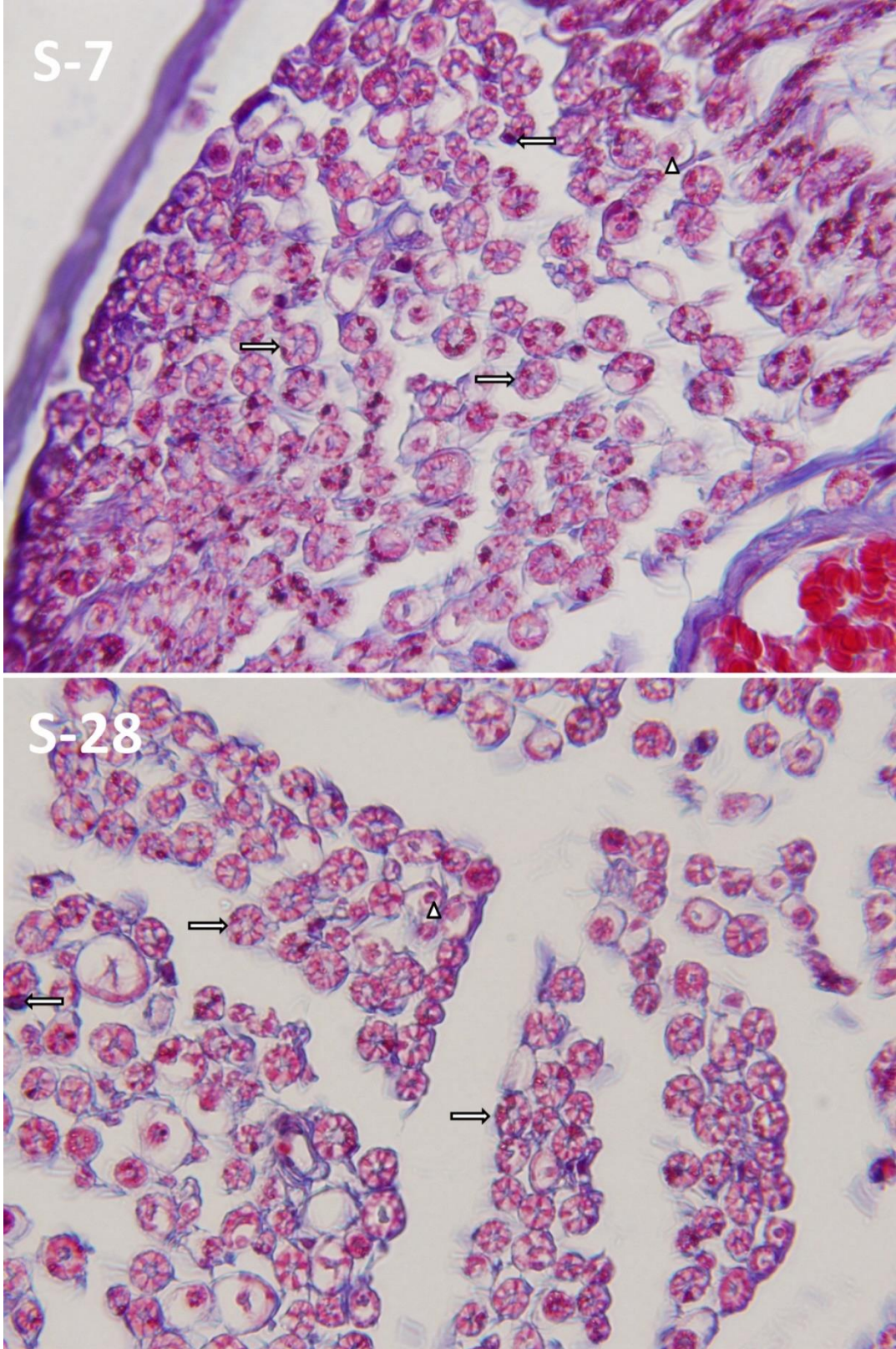
Resim 3. S-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü. Epinöryum (yıldız), miyelinli sinir lifi (sağ ok), akson (ok başı), Schwann hücre nükleusu (sol ok), endonöryum hücre nükleusu (aşağı ok), kan damarı (köşeli çift ayıraç) (H&E, X40).



Resim 4. S-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B). Epinöryum (7-nokta yıldız), perinöryum (sola bükülü ok), miyelinli sinir lifi (sağ ok) (Toluidine blue, X100).

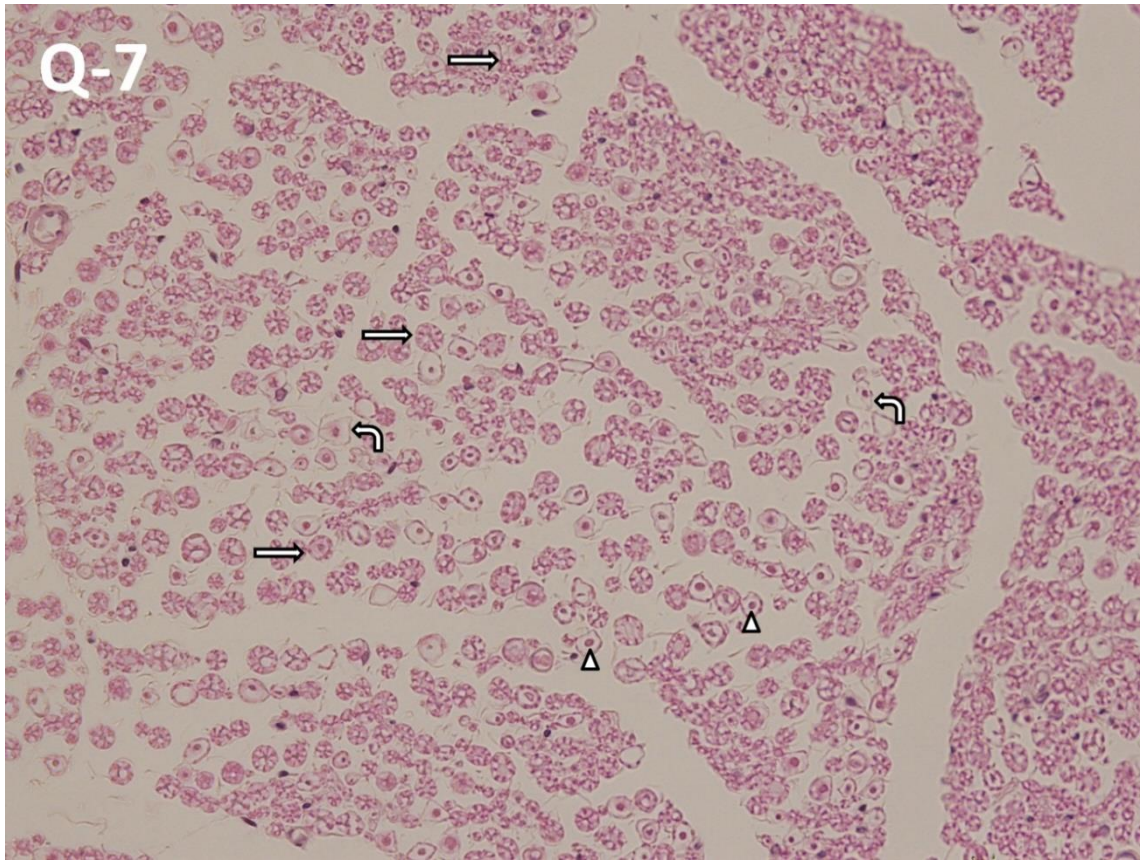


Resim 5. S-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B). Epinöryum (7-nokta yıldız), miyelinli sinir lifi (sağ ok) (Toluidine blue, X100).

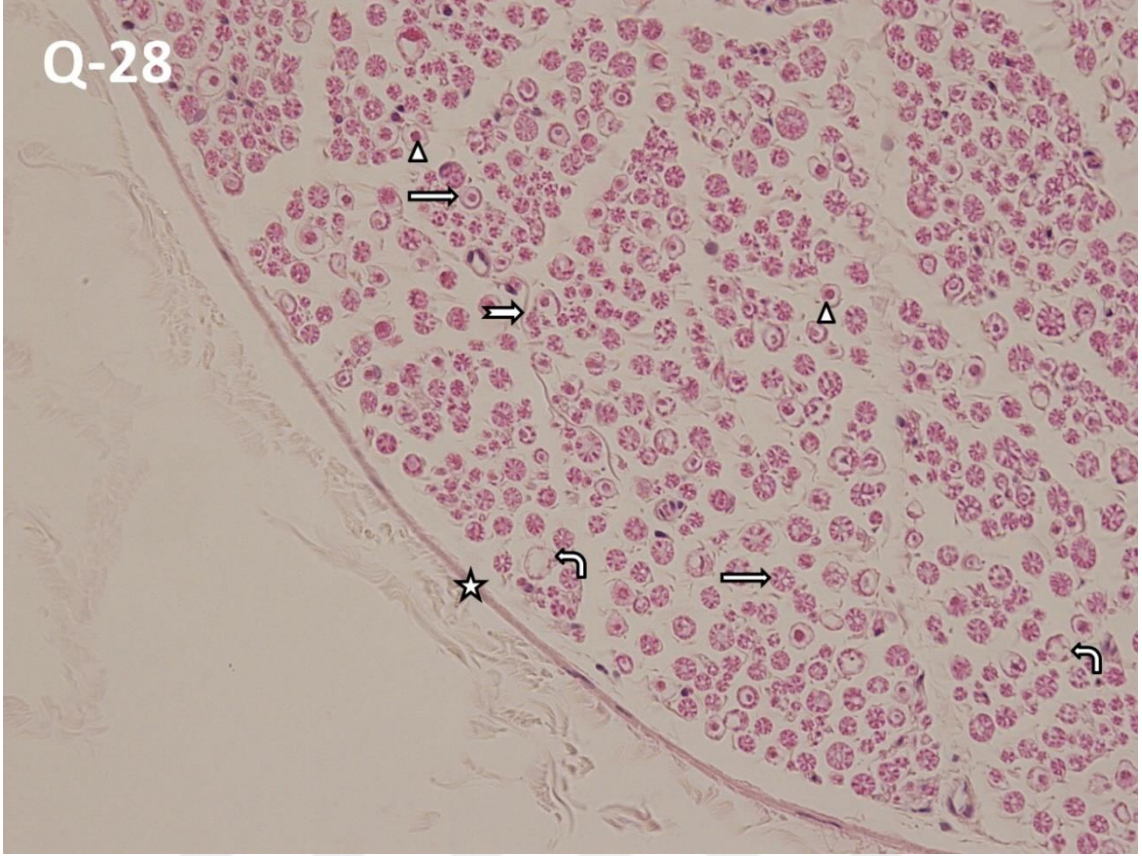


Resim 6. S-7 ve S-28 gruplarına ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü. Miyelinli sinir lifi (sağ ok), akson (ok başı), Schwann hücre nükleusu (sol ok) (Masson Trikrom, X100).

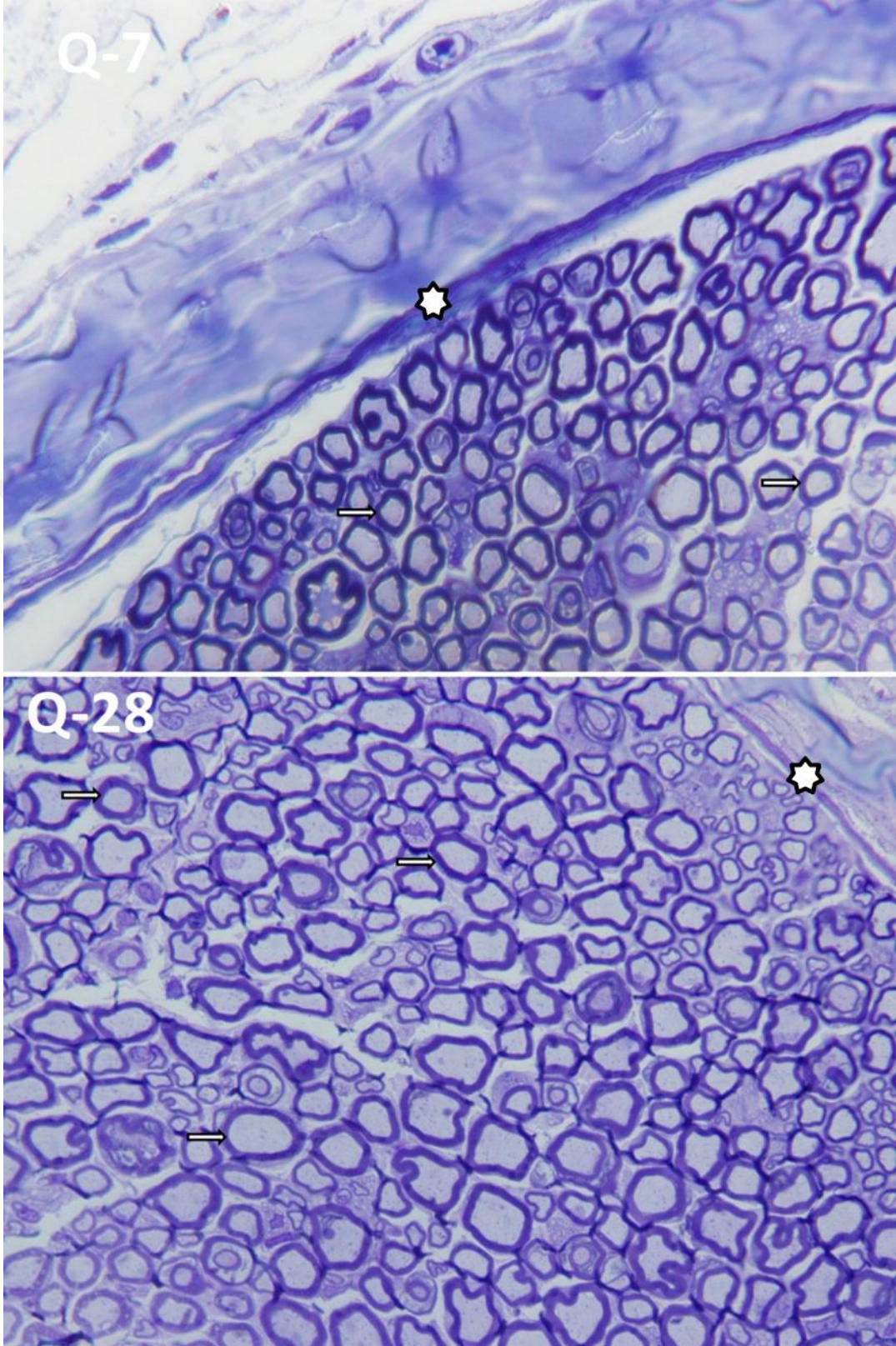
Q- 7 ve Q- 28 gruplarına ait siyatik sinirin yarı ince kesitlerinin ışık mikroskopik incelenmesinde, sinirin dıştan epinörium ile çevrili olduğu izlendi. Epinöriumda fibröz bağ dokusu dışında kan damarları gözlemlendi. Epinöriumun altında, perinörium ile çevrili unifasiküler sinir ayırt edildi. Fasikülde miyelinli sinir aksonları izlendi. Miyelinli aksonların bazı alanlarda akson ve miyelin kılıf yapıları ile birlikte normal görünümde oldukları görüldü. Bununla beraber sinir liflerinin bazılarında miyelin kılıfın normal yapısının bozulduğu ve birkaç kesitte miyelin kılıf ve aksonun dejenere oldukları gözlemlendi (Resim 7-10).



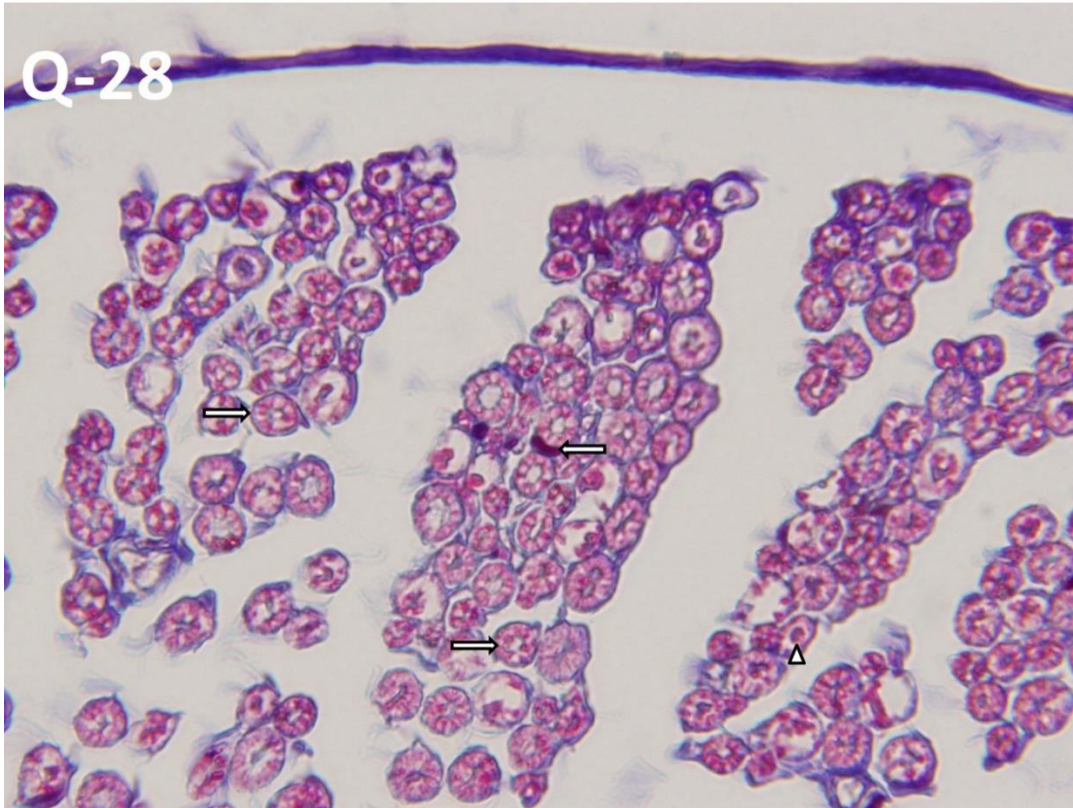
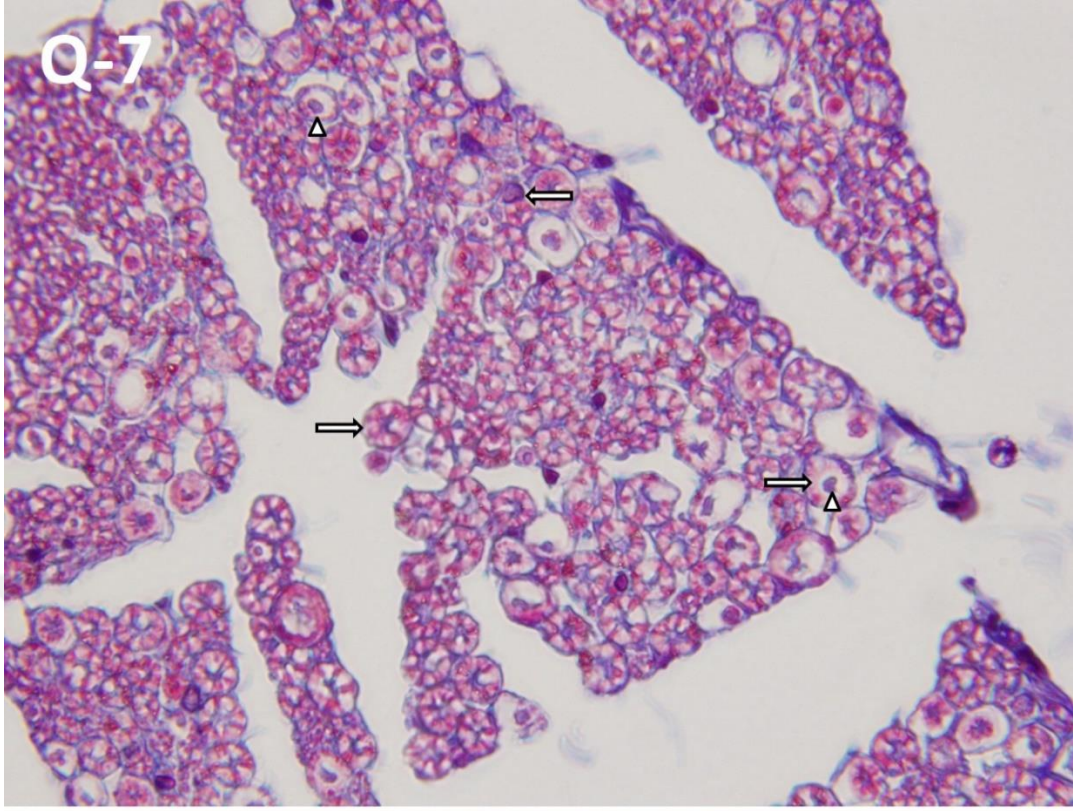
Resim 7. Q-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü. Miyelinli sinir lifi (sağ ok), akson (ok başı), miyelin kılıf dejenerasyonu (sola bükülü ok) (H&E, X40).



Resim 8. Q-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü. Epinöryum (yıldız), perinöryum (çentikli sağ ok), miyelinli sinir lifi (sağ ok), akson (ok başı), miyelin kılıf dejenerasyonu (sola bükülü ok) (H&E, X40).

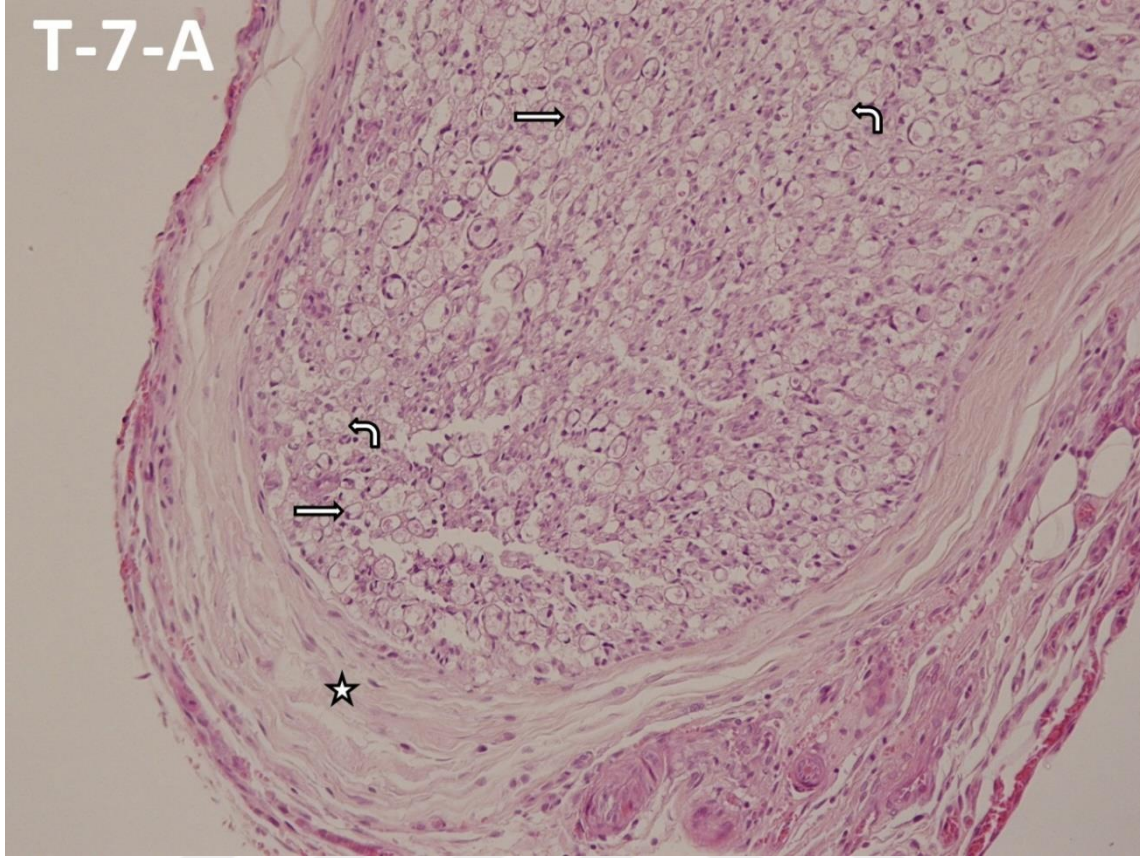


Resim 9. Q-7 ve Q-28 gruplarına ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü. Epinöryum (7-nokta yıldız), miyelinli sinir lifi (sağ ok) (Toluidine blue, X100).

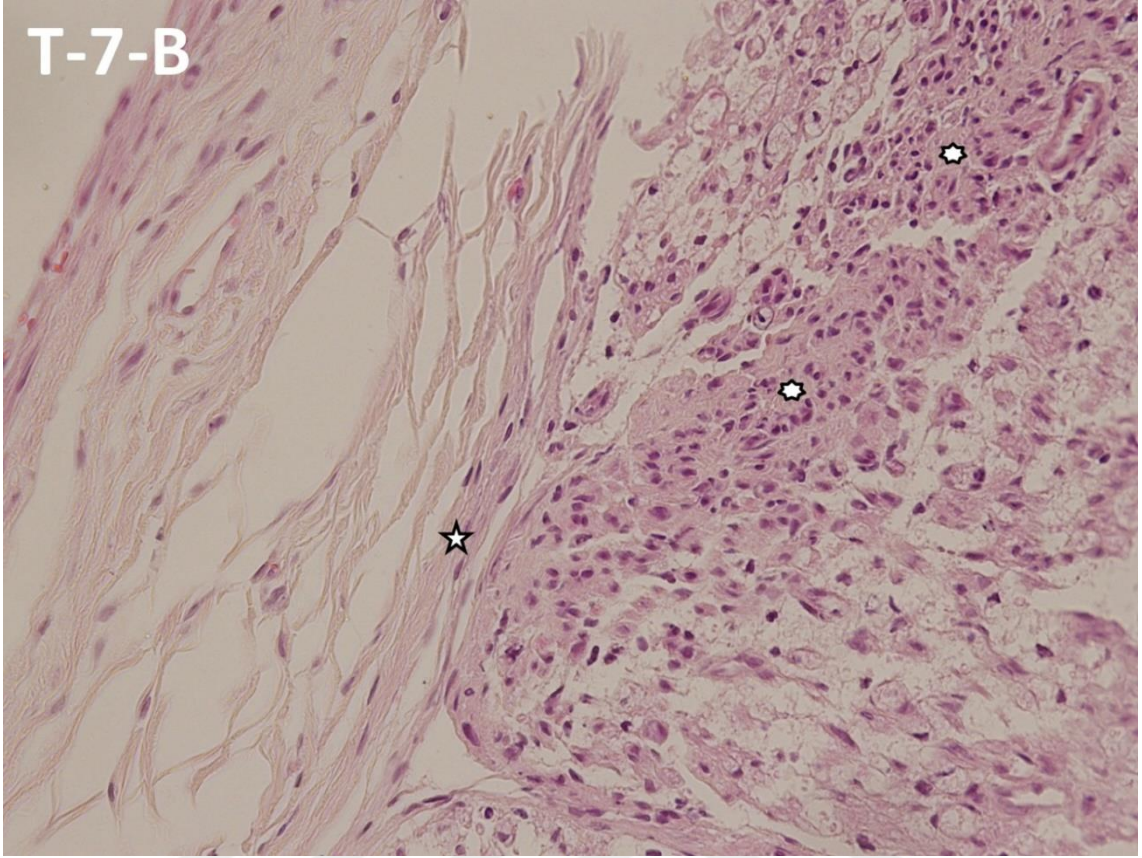


Resim 10. Q-7 ve Q-28 gruplarına ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü. Miyelinli sinir lifi (sağ ok), akson (ok başı), Schwann hücre nukleusu (sol ok) (Masson Trikrom, X100).

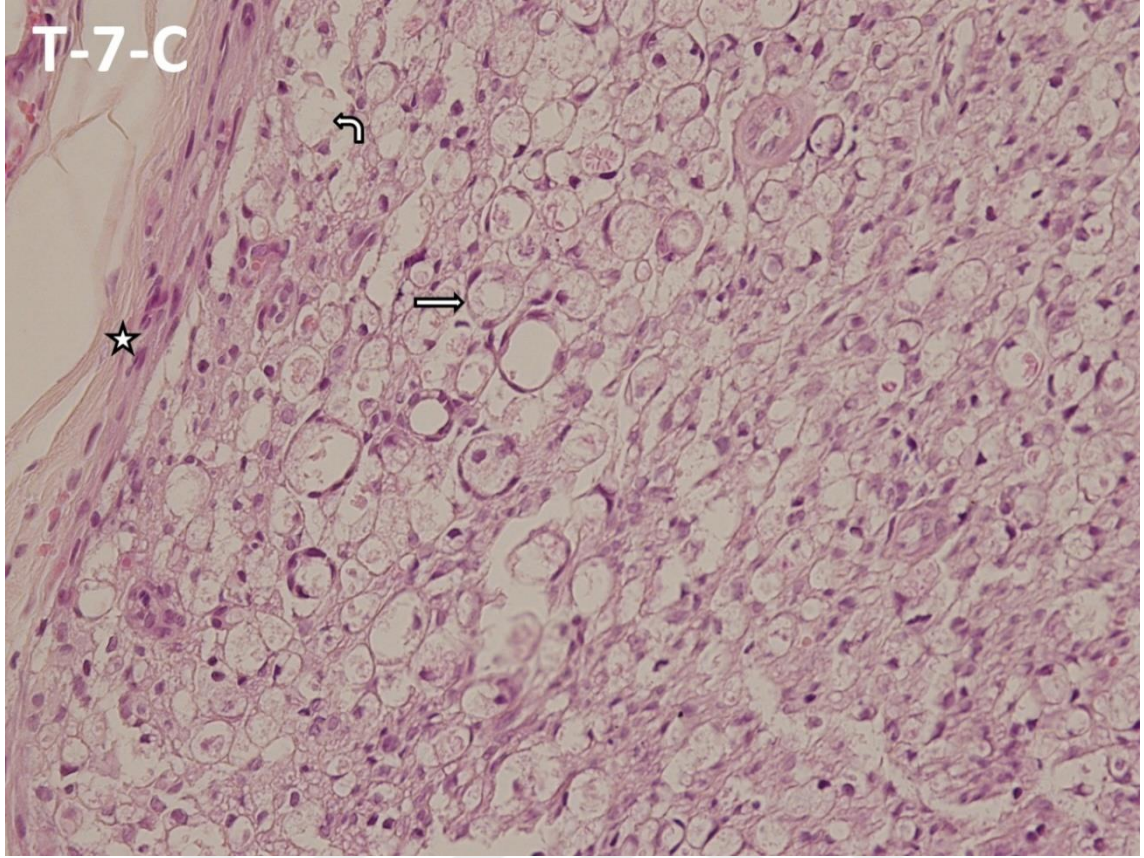
T-7 grubundan elde edilen siyatik sinir yarı ince kesitlerinin ışık mikroskobik incelenmesinde, sinirin dıştan fibröz bir bağ dokudan oluşan epinörium ile çevrili olduğu izlendi. Epinöriumun altında, içerisinde aksonların bulunduğu perinörium ile çevrili sinir fasikülü ayırt edildi. Ayrıca epinöriumun altında perinöryuma doğru invajine olan yer yer fibrotik doku oluşumu gözlemlendi. Perinöriumun yer yer bütünlüğünü kaybettiği izlendi. Büyük büyütmelelerde miyelinli aksonların çoğunluğunda aksonun ve miyelin kılıfın tamamen dejenere olduğu, miyelin kılıfın normal konsantrik lameller yapısının ciddi derecede bozulduğu ve miyelin kılıf lamellerinin birbirlerinden ayrıldıkları izlendi. Özellikle aksonal şişme dikkat çekiciydi. Akson ile miyelin kılıf arasında çeşitli büyüklüklerde vakuoller ve miyelin kılıfın yer yer akson içerisine doğru invajine olduğu, bazı aksonların tamamen dejenere olduğu dikkat çekiciydi. Miyelin kılıf dejenerasyonunun şiddetli derecede belirgin olduğu sinir liflerinde, aksonlarda da belirgin yapısal değişiklikler izlendi. Miyelinli aksonların aralarında mast hücreleri ve kapiller damarların varlığı gözlemlendi. Bu bulgular Wallerian dejenerasyonu ile uyumlu idi (Resim 11-19).



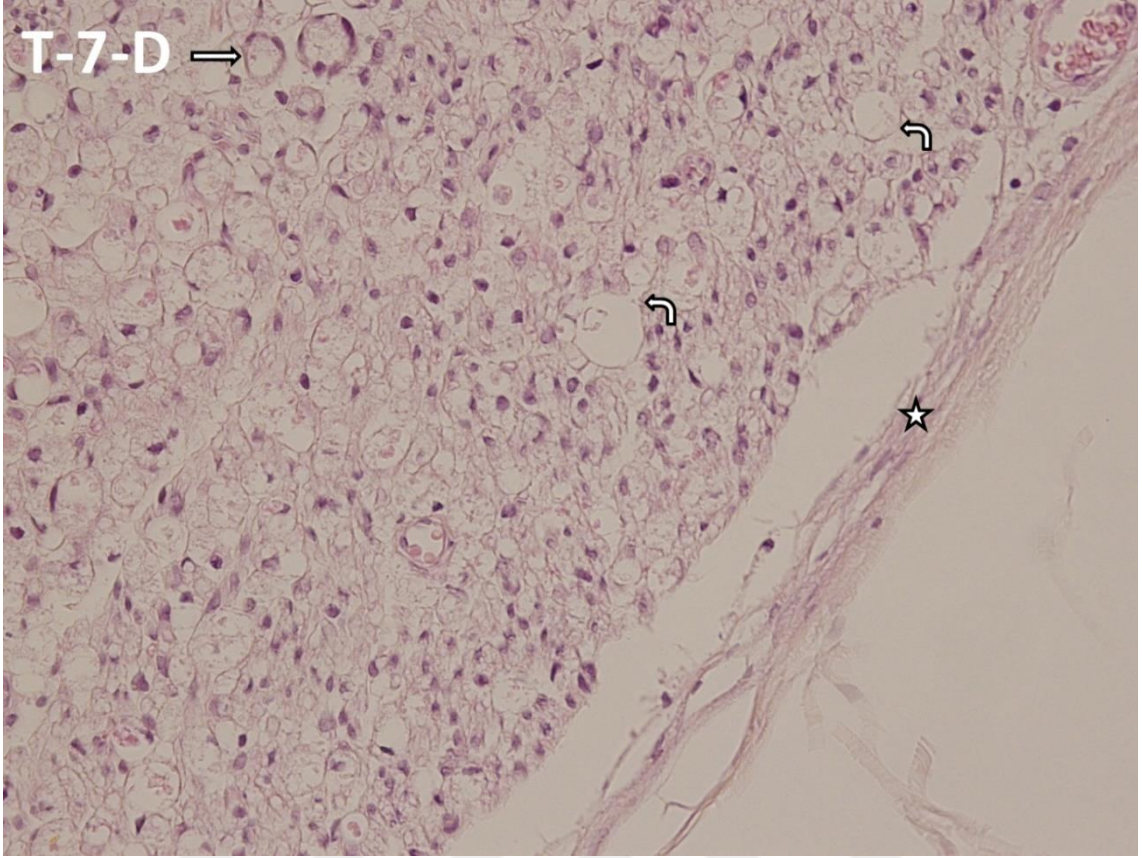
Resim 11. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A). Epinöryum (yıldız), miyelinli sinir lifi (sağ ok), miyelin kılıf dejenerasyonu (sola bükülü ok) (H&E, X40).



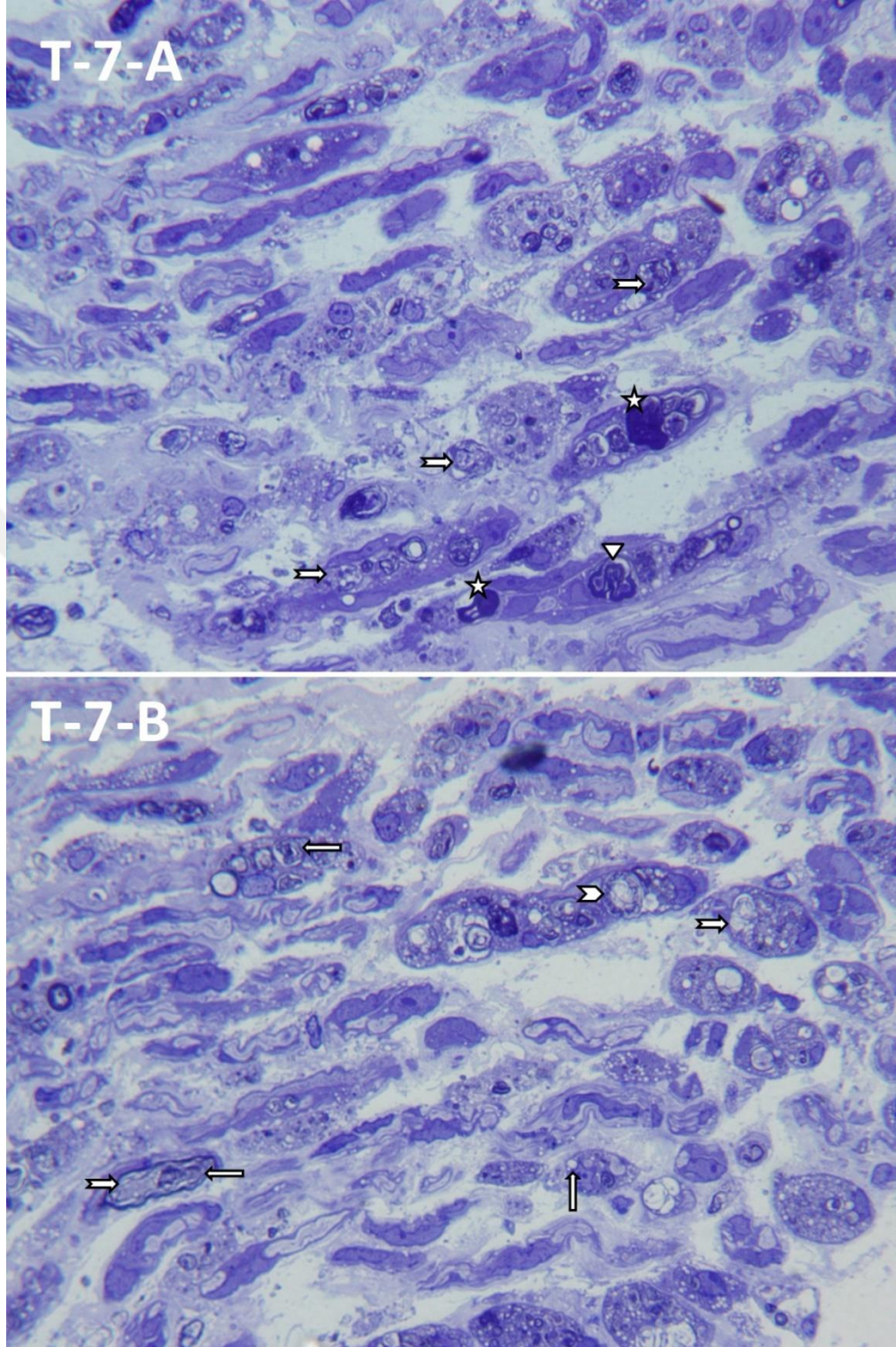
Resim 12. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (B). Epinöryum (yıldız), fibrotik doku oluşumu (7-nokta yıldız) (H&E, X40).



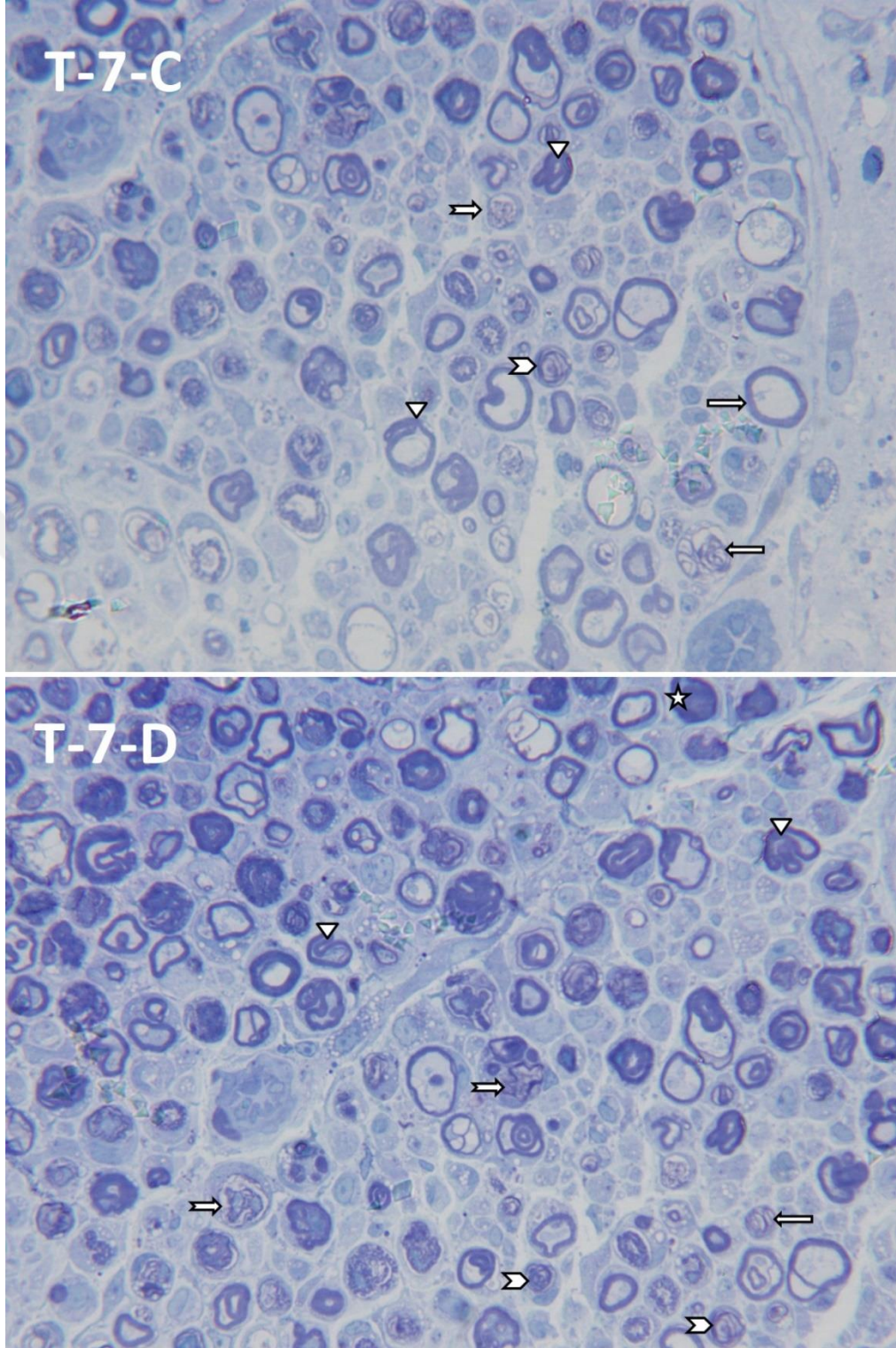
Resim 13. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (C). Epinöryum (yıldız), miyelinli sinir lifi (sağ ok), miyelin kılıf dejenerasyonu (sola bükülü ok), (H&E, X40).



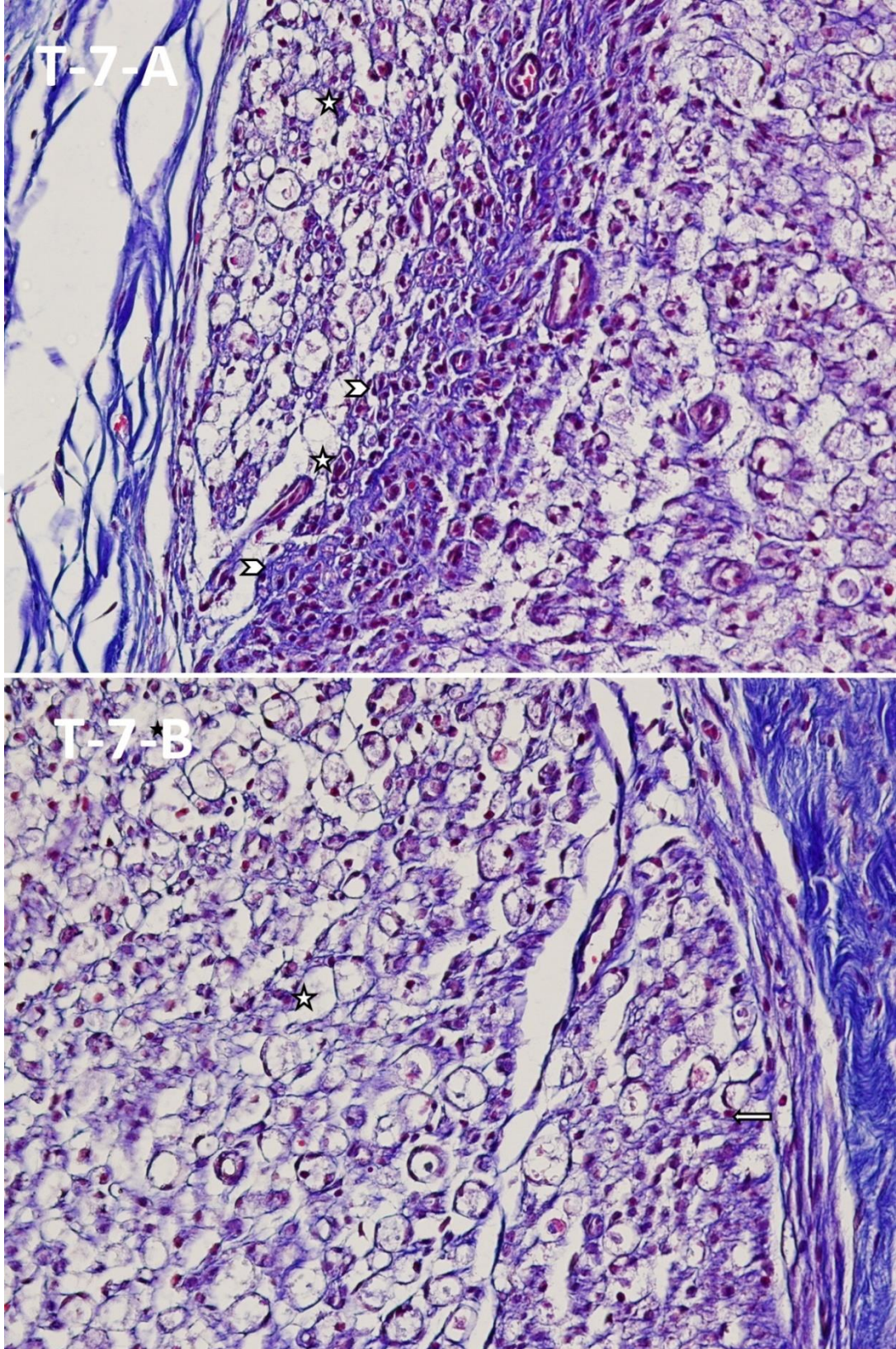
Resim 14. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (D). Epinöryum (yıldız), miyelinli sinir lifi (sağ ok), miyelin kılıf dejenerasyonu (sola bükülü ok) (H&E, X40).



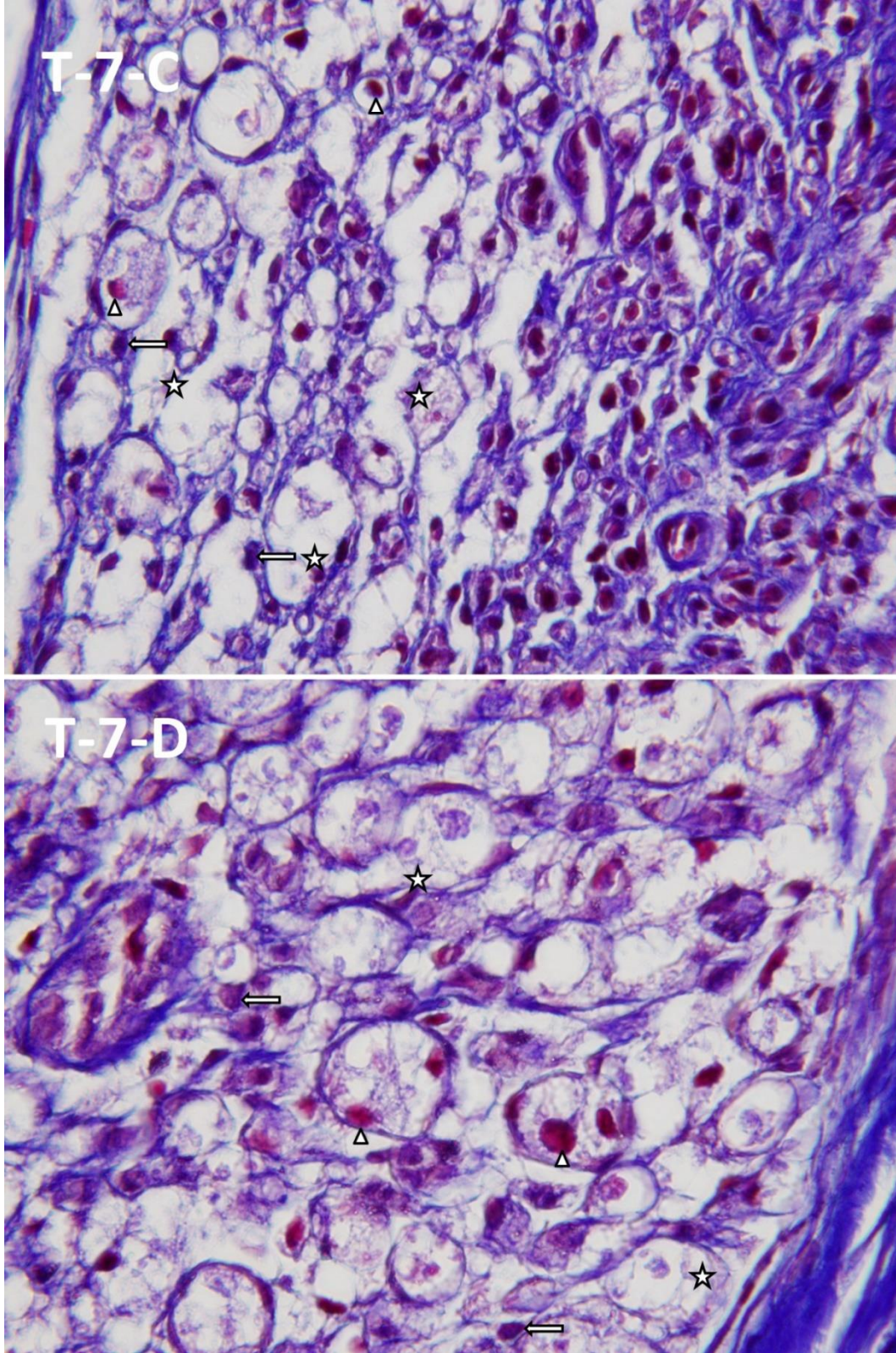
Resim 15. A, B. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B). Miyelin kılıf ve akson dejenerasyonu (sağ çentikli ok), akson şişmesi (yıldız), akson içerisine doğru invajine olan miyelin kılıf (ok başı), miyelin kılıfın konsantrik lamellar yapısında disorganizasyon (sol ok), miyelin kılıfın konsantrik lamellerinde ayrılma (köşeli çift ayıraç), vakuolizasyon (yukarı ok) (Toluidine blue, X100).



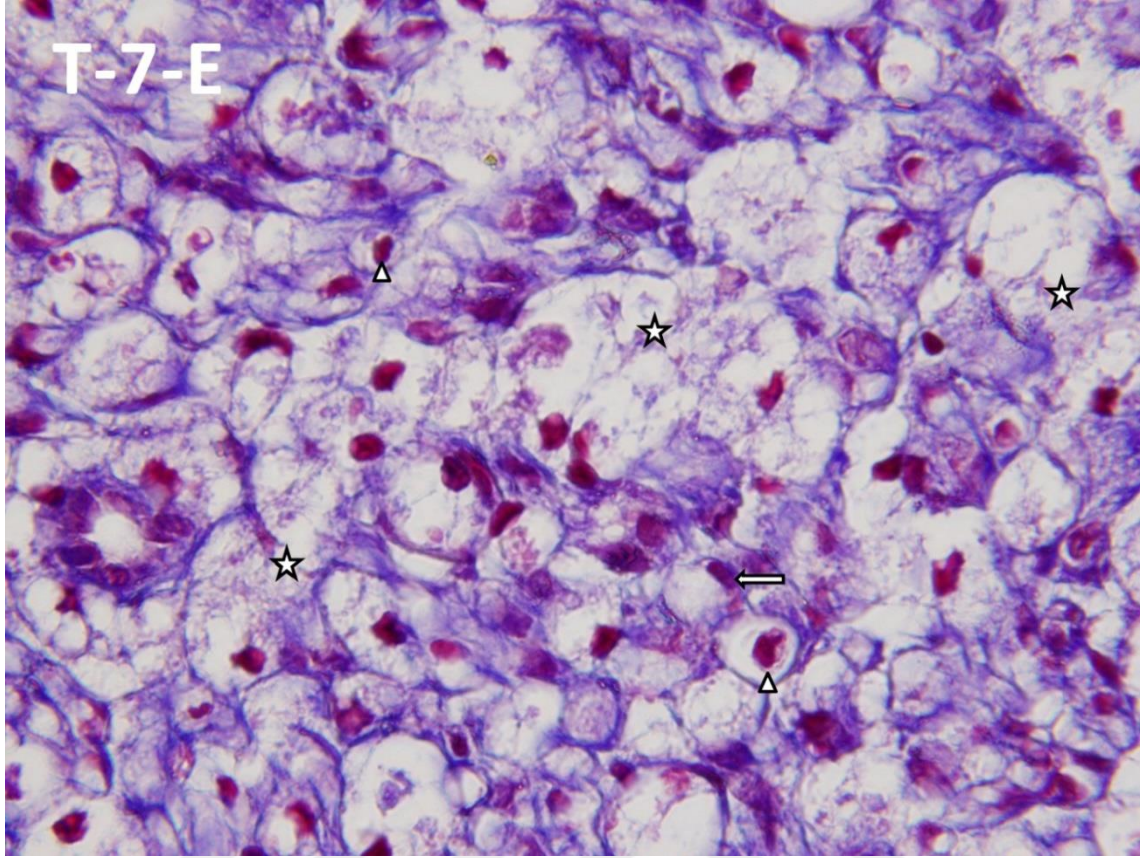
Resim 16. C, D. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (C, D). Miyelinli sinir lifi (sağ ok), akson şişmesi (yıldız), miyelin kılıf ve akson dejenerasyonu (sağ çentikli ok), miyelin kılıfın konsantrik lamellar yapısında disorganizasyon (sol ok), miyelin kılıfın konsantrik lamellerinde ayrılma (köşeli çift ayıraç), akson içerisine doğru invajine olan miyelin kılıf (ok başı) (Toluidine blue, X100).



Resim 17. A, B. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B). Miyelin kılıf dejenerasyonu (yıldız), fibrotik doku oluşumu (köşeli çift ayıraç) Schwann hücre nükleusu (sol ok) (Masson Trikrom, X40).

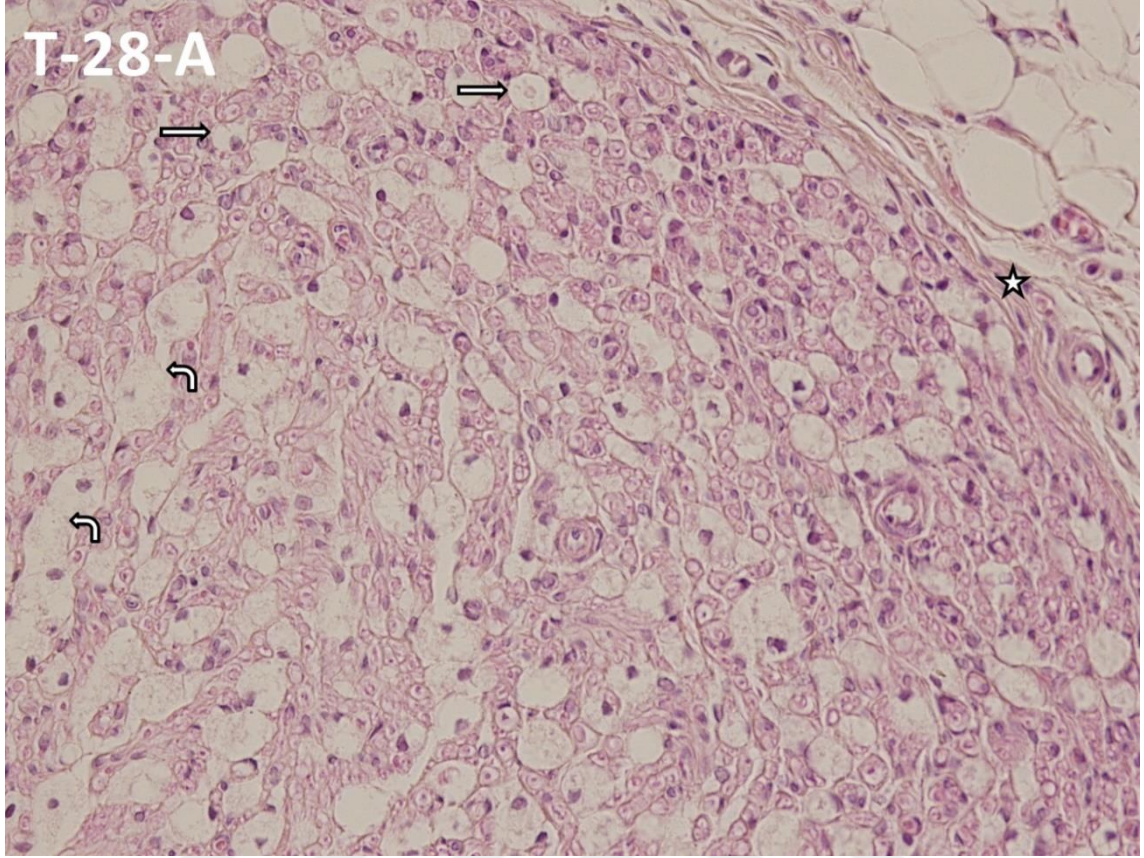


Resim 18. C, D. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (C, D). Miyelin kılıf dejenerasyonu (yıldız), Schwann hücre nukleusu (sol ok), akson (ok başı) (Masson Trikrom, X100).

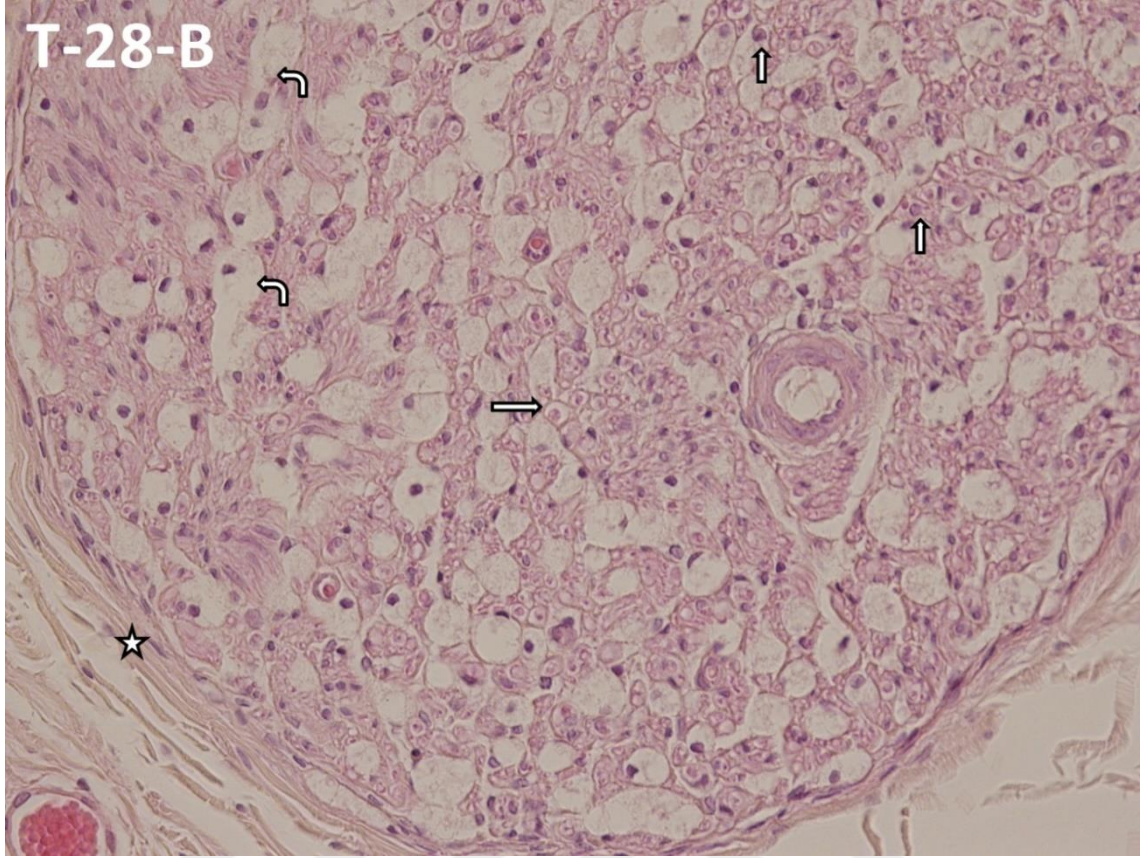


Resim 19. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (E). Miyelin kılıf dejenerasyonu (yıldız), Schwann hücre nükleusu (sol ok), akson (ok başı) (Masson Trikrom, X100).

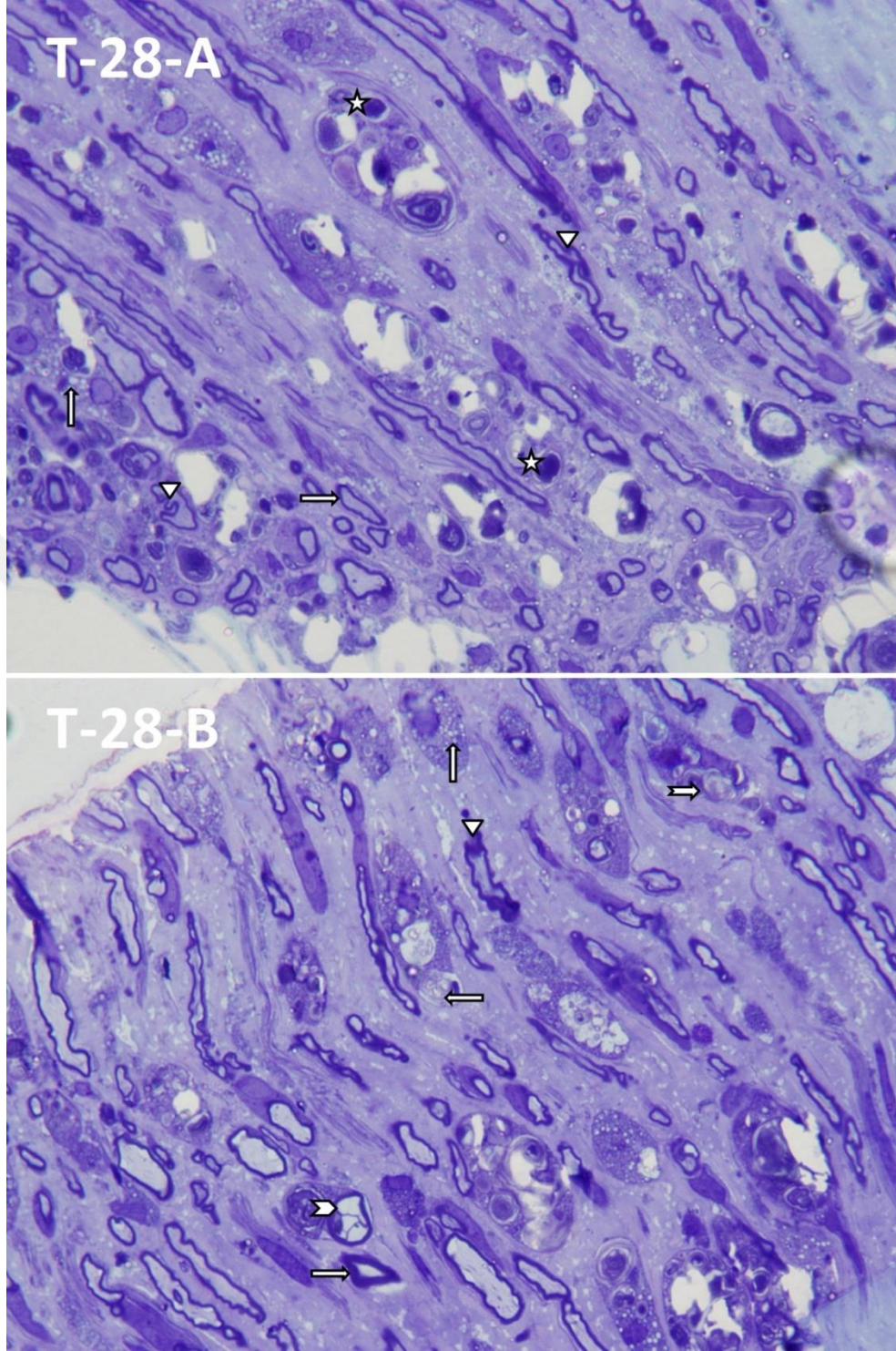
T- 28 grubunda ise sinirin dıştan fibröz bir bağ dokudan oluşan epinörium ile çevriliydi. Epinöriumun altında hafif derecede fibrotik doku oluşumu gözlemlendi. Perinöriumun yer yer bütünlüğünü kaybettiği izlendi. Miyelinli aksonların bazılarında akson ve miyelin kılıfın dejenere olduğu, miyelin kılıfın normal konsantrik lamellar yapısının bozulduğu izlendi. Yer yer aksonal şişme gözlenirken, akson ile miyelin kılıf arasında çeşitli büyüklüklerde vakuollerin meydana geldiği, miyelin kılıfın yer yer akson içerisine doğru invajine olduğu ve bazı aksonların dejenere olduğu gözlemlendi. T- 28 grubu morfolojik olarak T- 7 grubu ile karşılaştırıldığında rejenerasyon sürecinin başladığı ve miyelin üretiminin başladığı sinir liflerinin olduğu gözlemlendi (Resim 20-25).



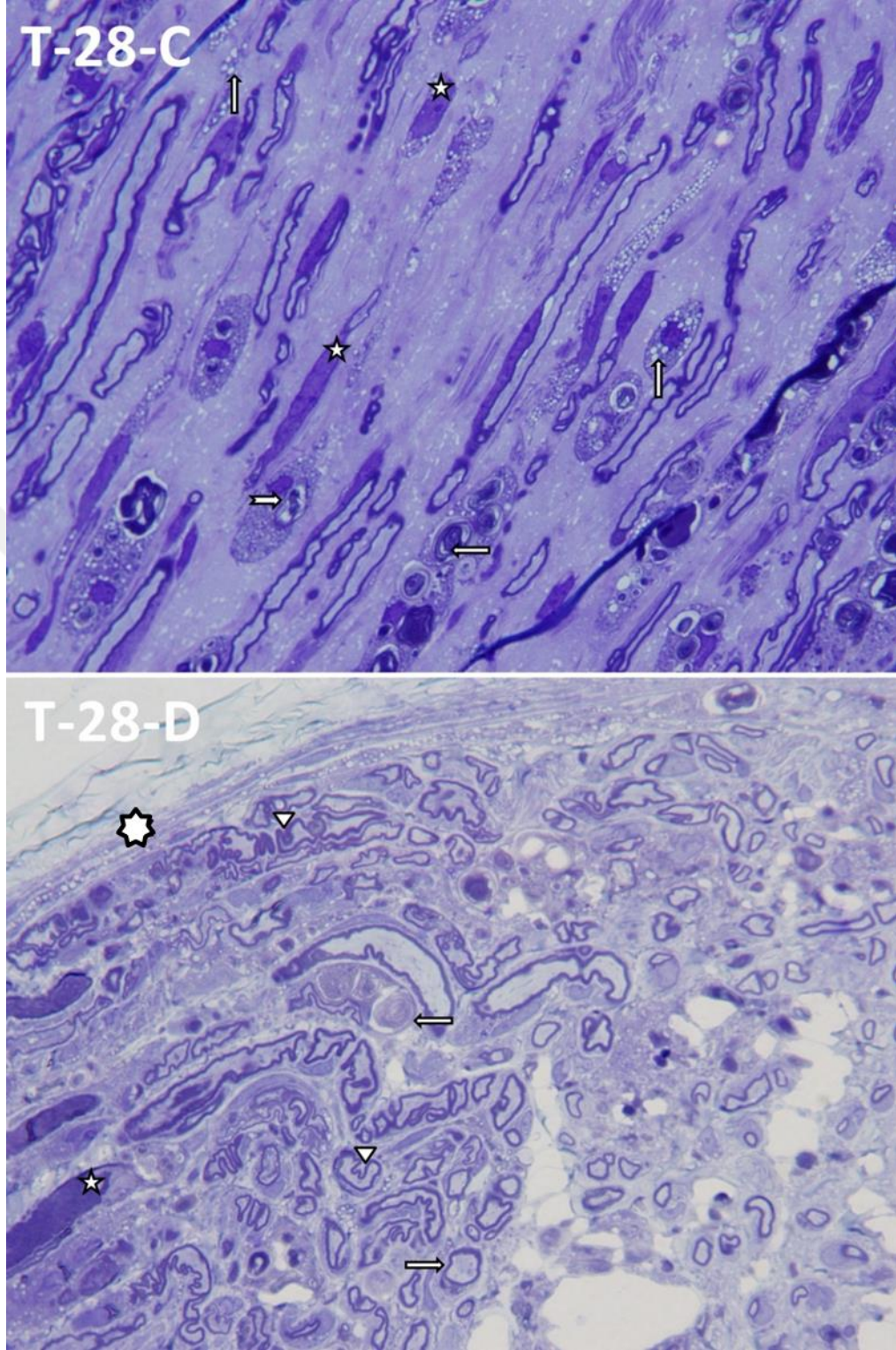
Resim 20. T-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A). Epinöryum (yıldız), miyelinli sinir lifi (sağ ok), miyelin kılıf dejenerasyonu (sola bükülü ok) (H&E, X40).



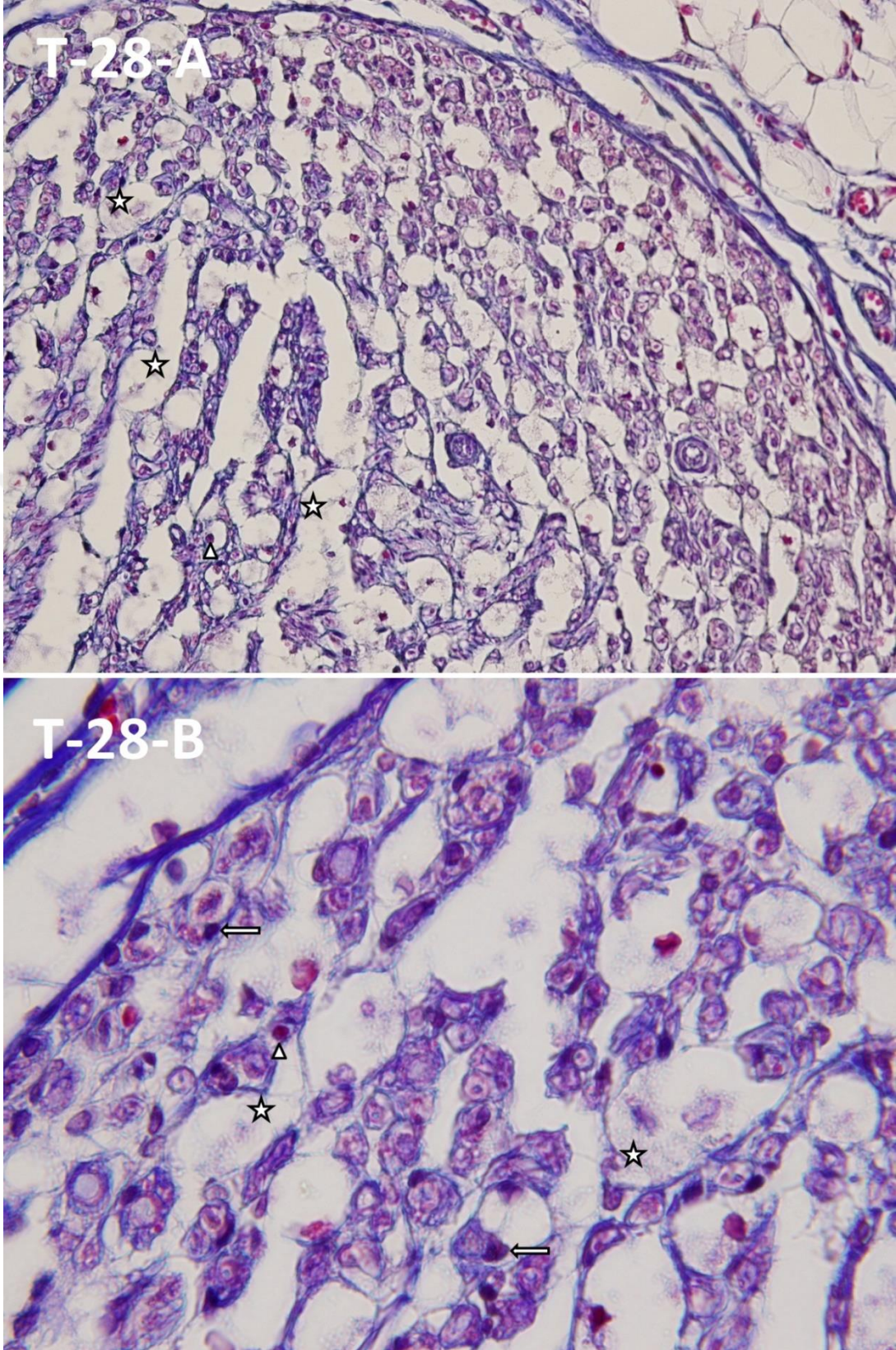
Resim 21. T-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (B). Epinöryum (yıldız), miyelinli sinir lifi (sağ ok), miyelin kılıf dejenerasyonu (sola bükülü ok), akson şişmesi (yukarı ok) (H&E, X40).



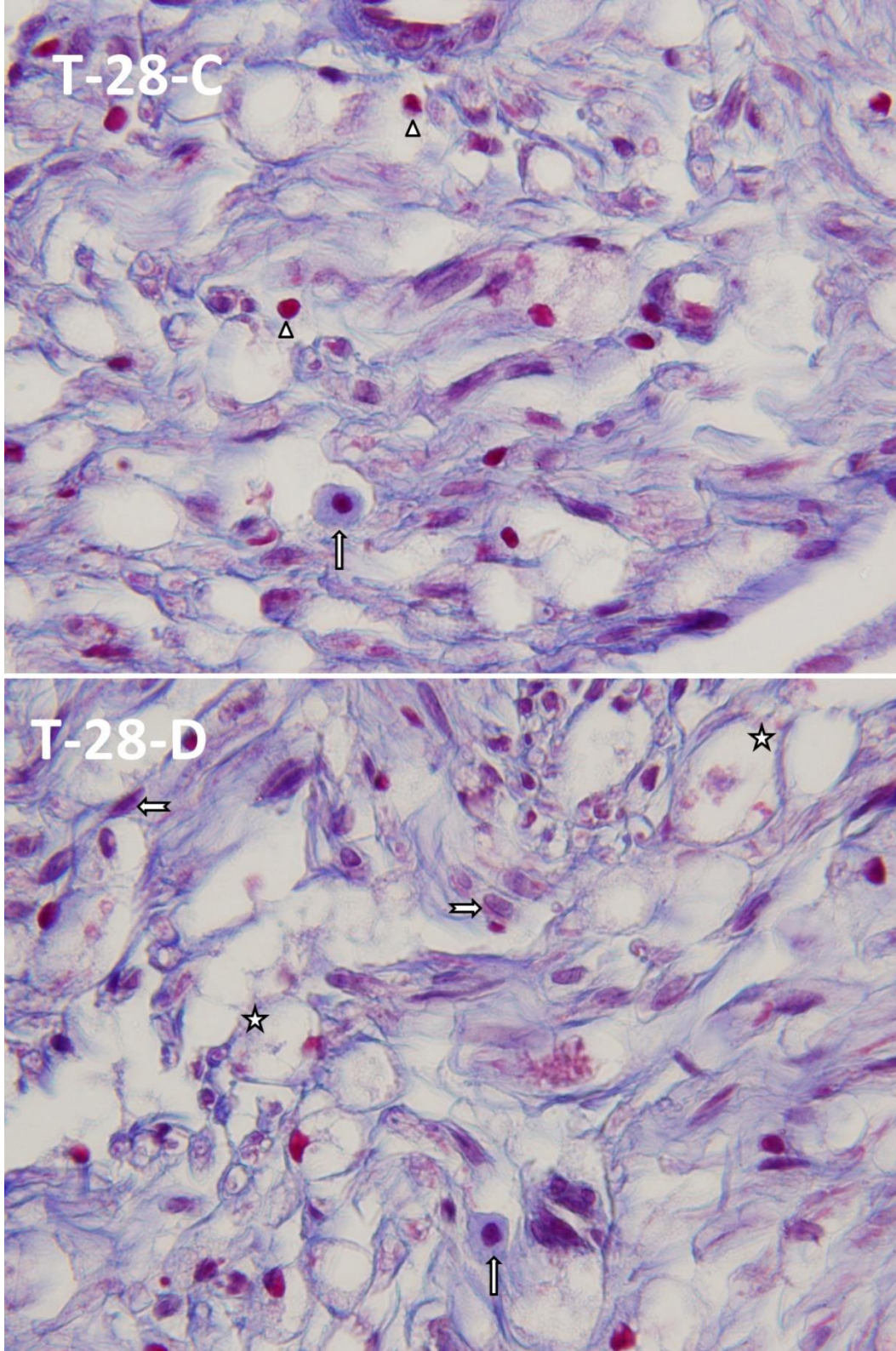
Resim 22. A, B. T-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B). Miyelinli sinir lifi (sağ ok), akson şişmesi (yıldız), akson içerisine doğru invajine olan miyelin kılıf (ok başı), vakuolizasyon (yukarı ok), miyelin kılıf ve akson dejenerasyonu (sağ çentikli ok), miyelin kılıfın konsantrik lamellar yapısında disorganizasyon (sol ok), miyelin kılıfın konsantrik lamellerinde ayrılma (köşeli çift ayıraç) (Toluidine blue, X100).



Resim 23. C, D. T-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (C, D). Miyelin kılıf ve akson dejenerasyonu (sağ çentikli ok), miyelin kılıfın konsantrik lamellar yapısında disorganizasyon (sol ok), akson şişmesi (yıldız), vakuolizasyon (yukarı ok), epinöryum (7-nokta yıldız), miyelinli sinir lifi (sağ ok), akson içerisine doğru invajine olan miyelin kılıf (ok başı) (Toluidine blue, X100).

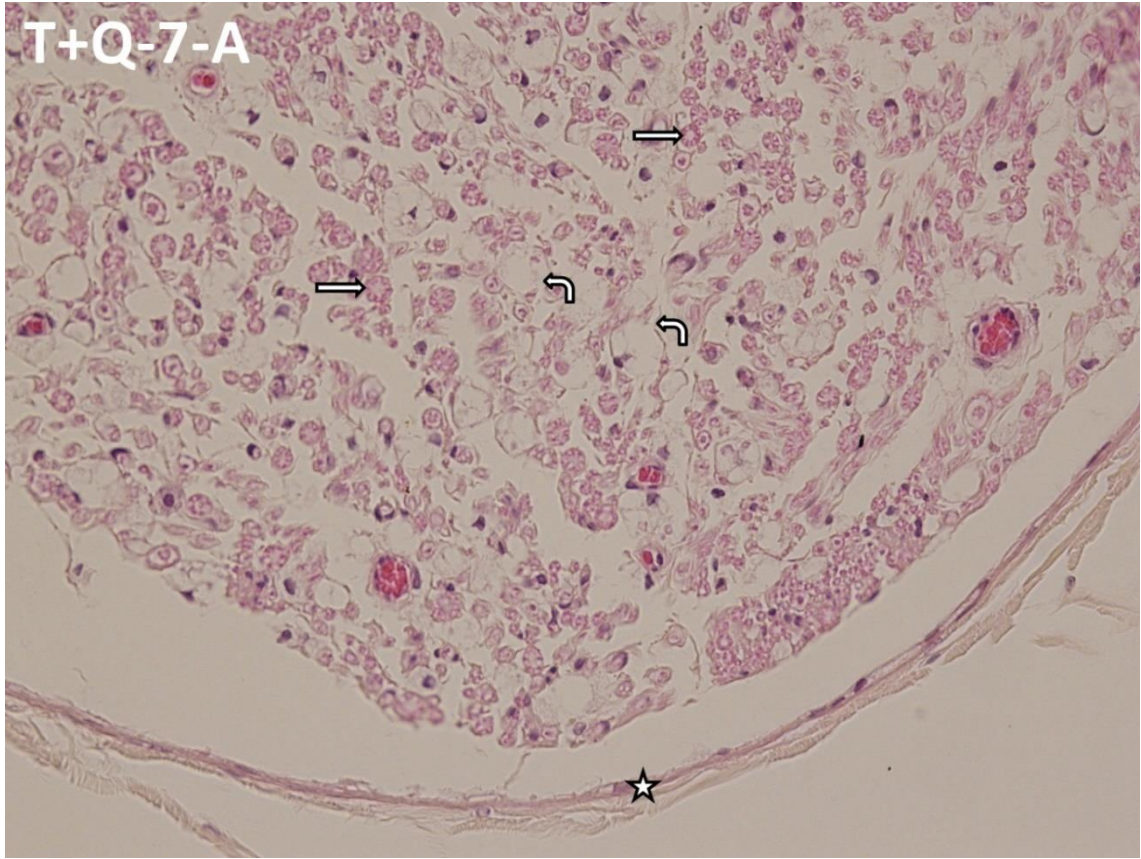


Resim 24. A, B. T-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B). Miyelin kılıf dejenerasyonu (yıldız), akson (ok başı), Schwann hücre nukleusu (sol ok) (Masson Trikrom, X40).

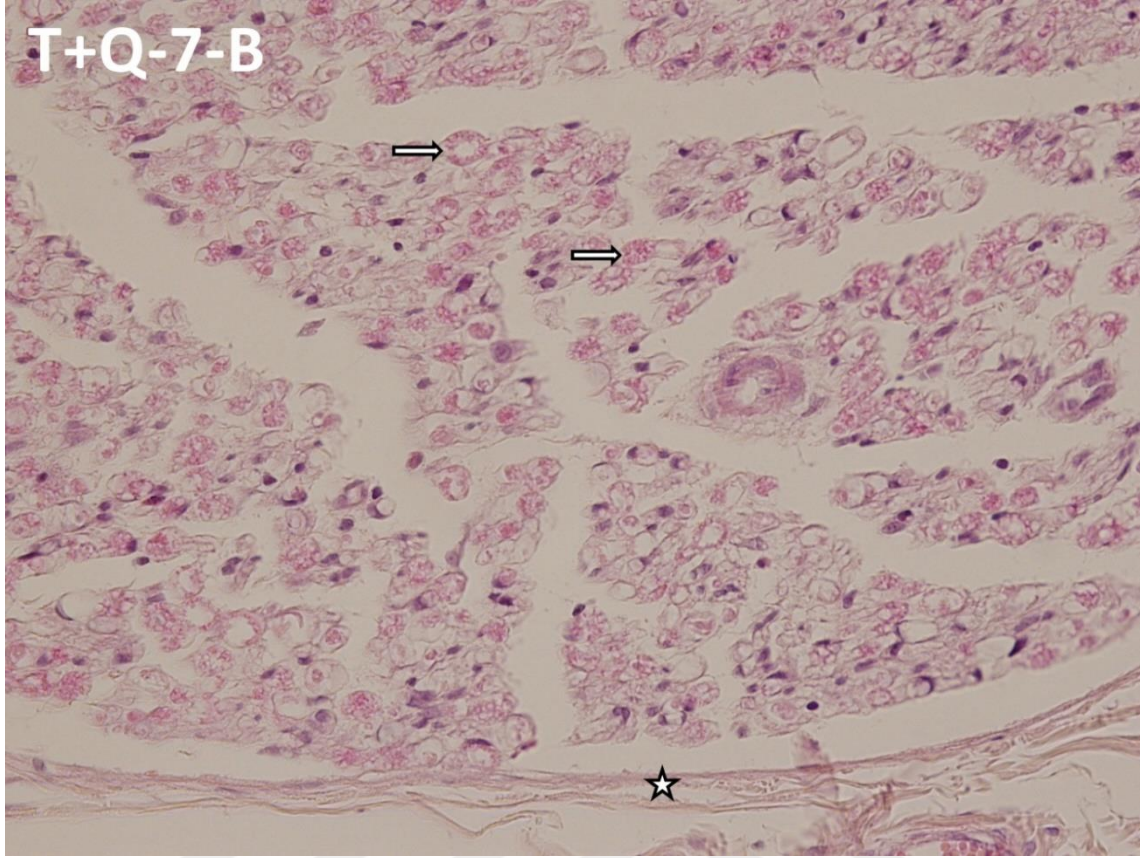


Resim 25. C, D. T-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (C, D). Akson (ok başı), mast hücresi (yukarı ok), miyelin kılıf dejenerasyonu (yıldız), mast hücresi (yukarı ok), fibroblast (sağ çentikli ok), fibrosit (sol çentikli ok) (Masson Trikrom, X100).

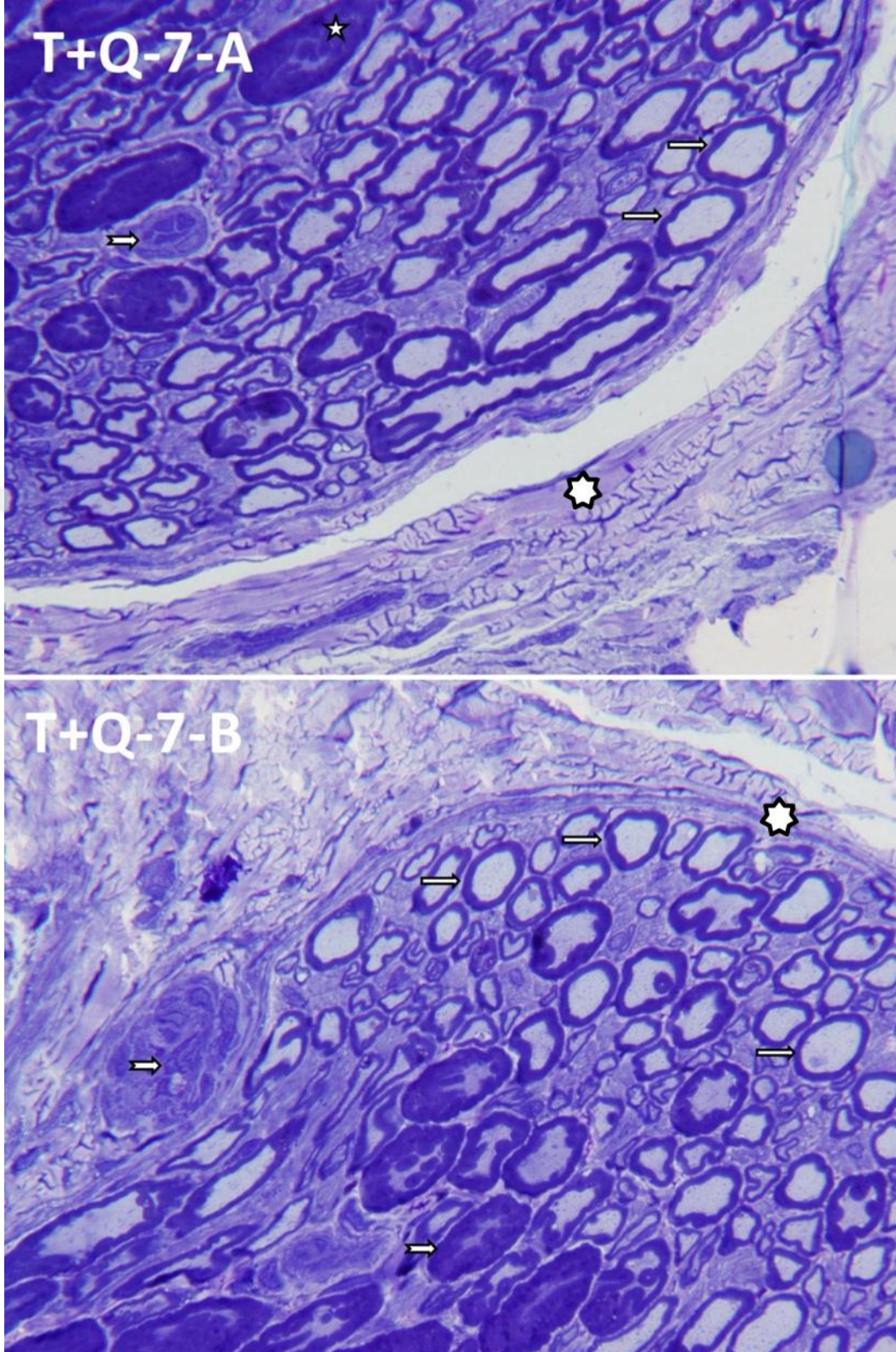
T+Q-7 grubuna ait siyatik sinirinin yarı ince kesitlerinin ışık mikroskopik incelenmesinde, sinirin, miyelinli ve miyelinsiz sinir liflerinden meydana geldiği gözlemlendi. Sinir liflerinde rejenerasyonun başladığı, akson ve miyelin kılıf yapılarının da bu sürece dahil olduğu gözlemlendi. Bununla beraber bazı miyelinli sinir liflerinde, akson etrafında yer alan miyelin kılıfının normal yapısının bozulduğu, miyelin kılıf ve aksonun dejenere halde oldukları gözlemlendi. Bu alanlara komşu fagositik hücrelerin, akson ve miyelin yıkıntılarını fagosite ettikleri dikkati çekti. Miyelinli sinir liflerinde T- 7 grubundaki yoğun olarak gözlenen dejenere yapılarının bu grupta azalmaya başladığı rejenerasyon sürecinin devam ettiği gözlemlendi (Resim 26-29).



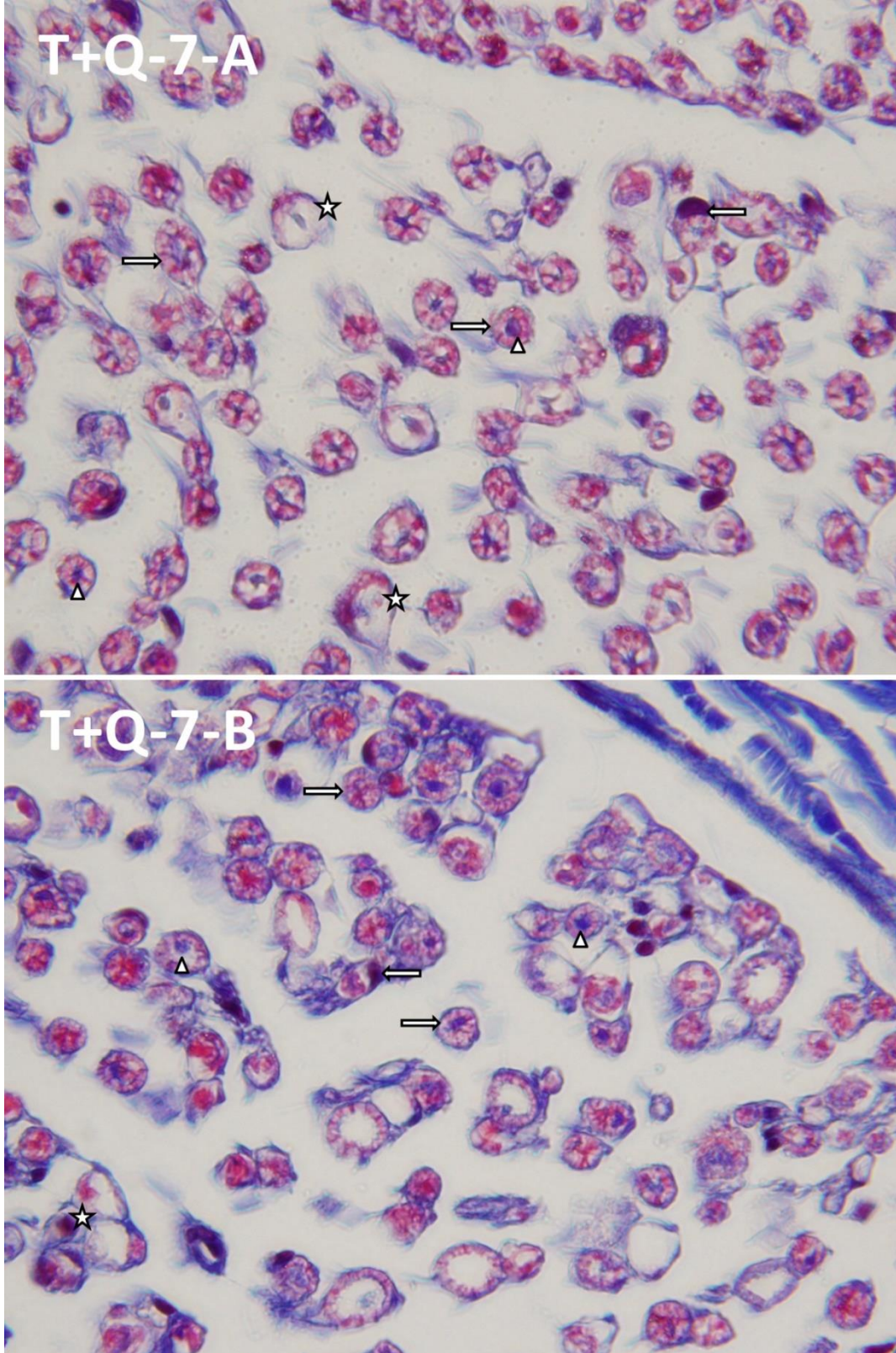
Resim 26. T+Q-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A). Epinöryum (yıldız), miyelinli sinir lifi (sağ ok), miyelin kılıf dejenerasyonu (sola bükülü ok) (H&E, X40).



Resim 27. T+Q-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (B).
Epinöryum (yıldız), miyelinli sinir lifi (sağ ok) (H&E, X40).

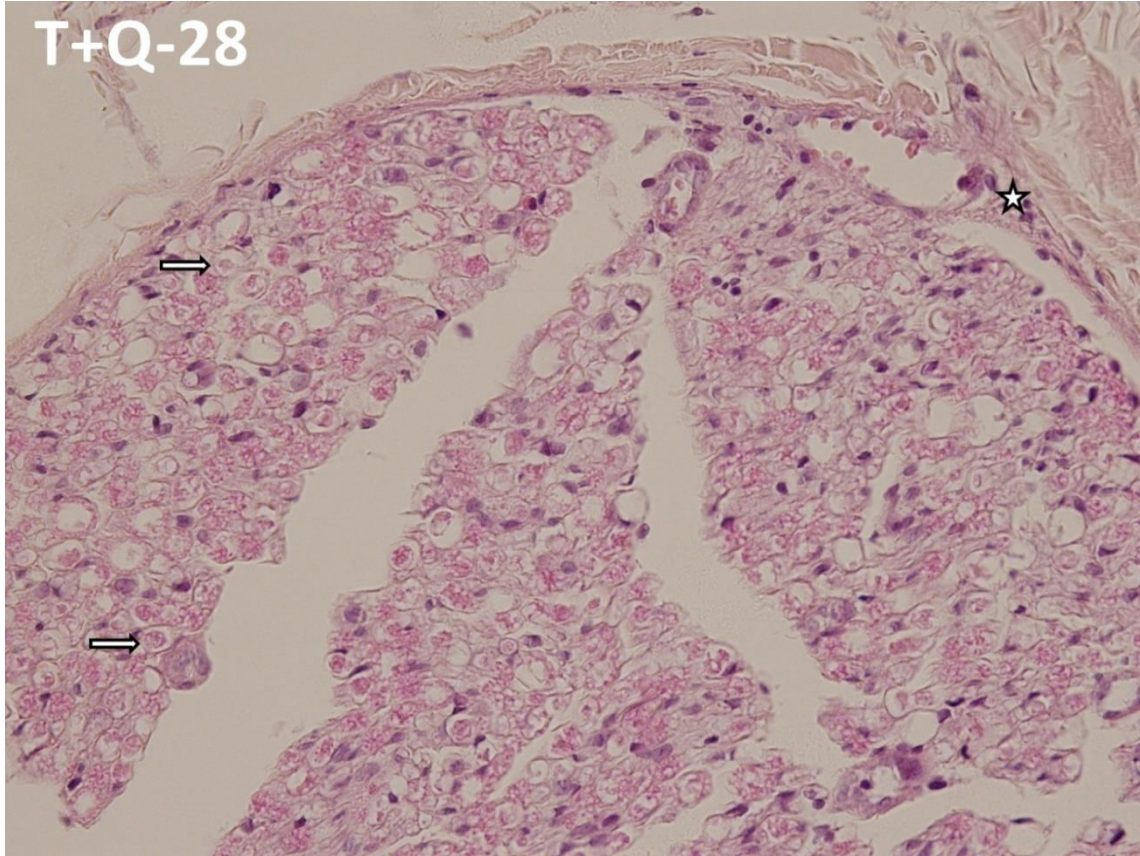


Resim 28. A, B. T+Q-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B). Epinöryum (7-nokta yıldız), miyelinli sinir lifi (sağ ok), miyelin kılıf ve akson dejenerasyonu (sağ çentikli ok), akson şişmesi (yıldız) (Toluidine blue, X100).

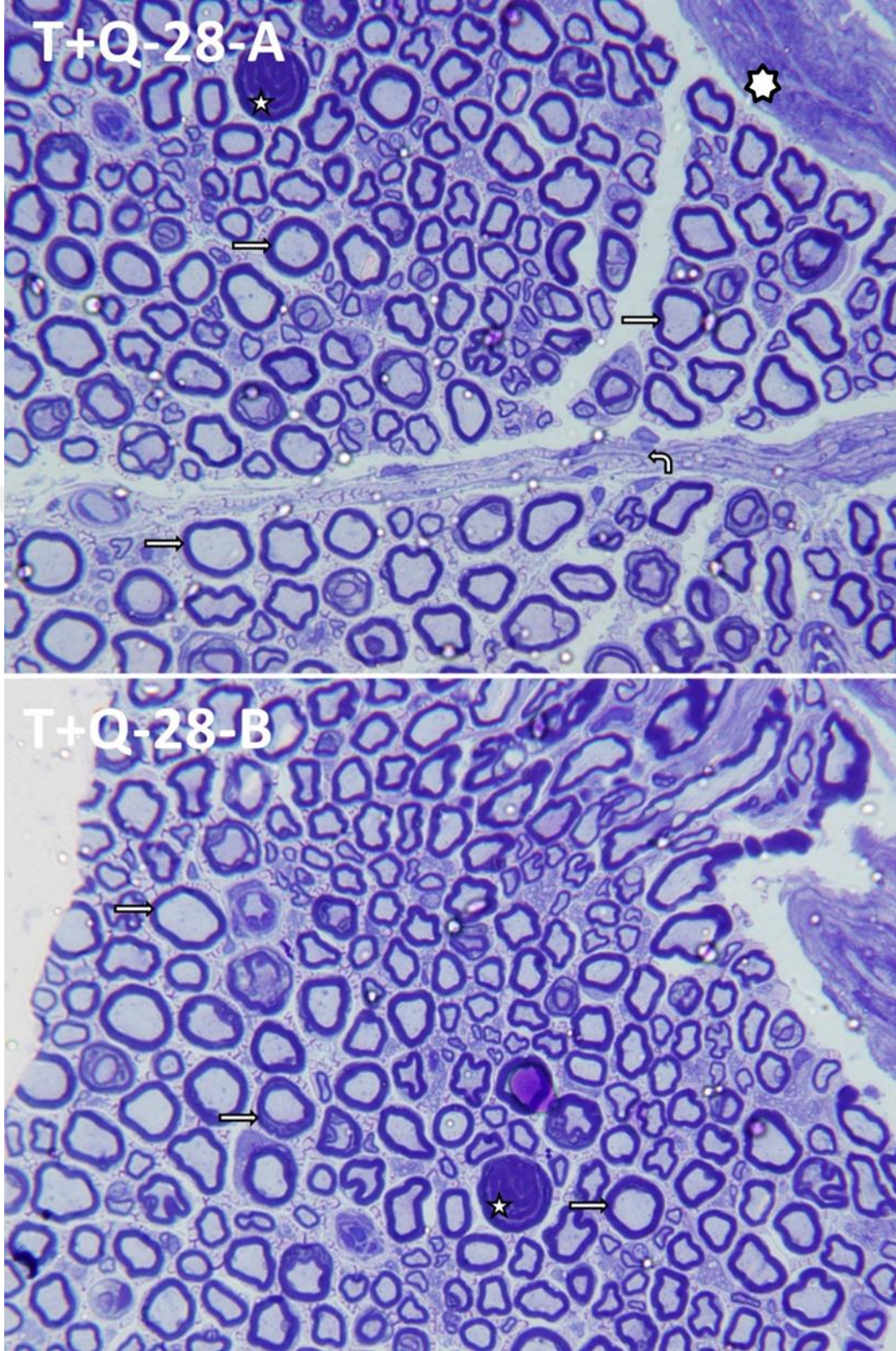


Resim 29. A, B. T+Q-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B). Miyelinli sinir lifi (sağ ok), Schwann hücre nukleusu (sol ok), akson (ok başı), miyelin kılıf dejenerasyonu (yıldız) (Masson Trikrom, X100).

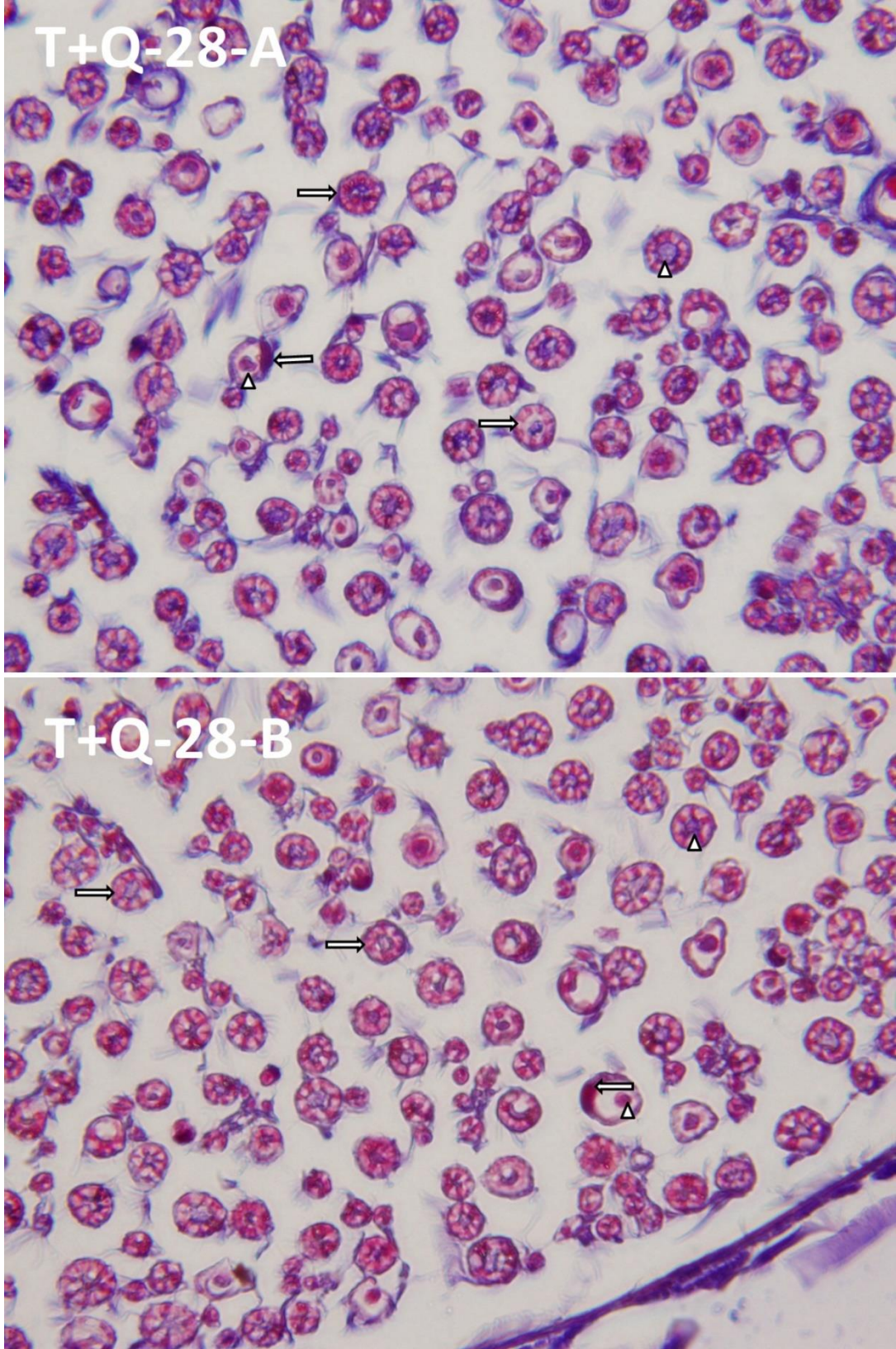
T+Q-28 grubunda ise siyatik sinir yarı ince kesitlerinin ışık mikroskopik incelenmesinde T-28 grubuna göre; miyelinli sinir lifi rejenerasyonunun gözle görülür şekilde belirginleştiği, periferden ilerleyen rejenere olmuş akson demetlerinin, aksonal yapının ve miyelin kılıfın yer yer normal yapıya dönüşmeye başladığı gözlemlendi. T+Q- 7 grubu ile karşılaştırıldığında ise akson yapısının, miyelin kılıfın ve miyelinli sinir lifi sayısının ciddi derecede rejenerasyon sürecini göstermekteydi (Resim 30-32).



Resim 30. T+Q-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü. Epinöryum (yıldız), miyelinli sinir lifi (sağ ok) (H&E, X40).



Resim 31. A, B. T+Q-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B). Epinöryum (7-nokta yıldız), perinöryum (sola bükülü ok), miyelinli sinir lifi (sağ ok), akson şişmesi (yıldız) (Toluidine blue, X100).



Resim 32. A, B. T+Q-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B). Miyelinli sinir lifi (sağ ok), Schwann hücre nukleusu (sol ok), akson (ok başı) (Masson Trikrom, X100).

6.4. Morfometrik Bulgular

Deney gruplarına ait miyelin kılıf kalınlığı, sinir lifi çapı, miyelinli sinir lifi sayısı ile ilgili morfometrik bulgular Tablo 3'te verilmiştir. Elde edilen istatistiksel verilere göre T-7 ve T-28 grupları; miyelin kılıf kalınlığı, sinir lifi çapı ve miyelinli sinir lifi sayısı açısından S-7 ve S-28 grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$). Morfometrik analizler açısından T-7 grubu ile T+Q-7 grubu istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Miyelinli sinir lifi sayısı ve sinir lifi çapı açısından T-28 grubu ile T+Q-28 grubu istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında T+Q-28 grubunda anlamlı derecede artış görüldü ($p<0.05$). T+Q-28 grubunda miyelinli sinir lifi sayısı ve sinir lifi çapı T+Q-7 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p<0.05$).

Tablo 3. Deney gruplarına ait miyelin kılıf kalınlığı, sinir lifi çapı, miyelinli sinir lifi sayısı ile ilgili morfometrik bulgular

Gruplar	Miyelin kılıf kalınlığı	Sinir lifi çapı	Miyelinli sinir lifi sayısı
S-7	2,66±0,28	7,71±0,81	75,33±7,31
S-28	2,22±0,18	7,95±0,55	89,83±11,53
Q-7	2,63±0,28	7,88±0,81	78,00±11,38
Q-28	2,68±0,19	7,19±0,70	76,00±8,50
T-7	0,92±0,22 ^a	4,08±0,83 ^a	51,66±5,08 ^a
T-28	1,13±0,30 ^b	4,06±0,85 ^b	61,66±5,92 ^b
T+Q-7	1,01±0,38	4,37±0,35	52,66±3,20
T+Q-28	1,46±0,05	6,05±0,30 ^{d,e}	73,50±12,67 ^{d,e}

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Her grupta n=6 sıçan

^a: $p<0.05$ S-7; ^b: $p<0.05$ S-28 ile karşılaştırıldığında; ^c: $p<0.05$ T-7 karşılaştırıldığında;

^d: $p<0.05$ T-28 ile karşılaştırıldığında; ^e: $p<0.05$ T+Q-7 karşılaştırıldığında; ^f: $p<0.05$ T+Q-28 karşılaştırıldığında

6.5. İmmünohistokimyasal Bulgular

Deney gruplarına ait siyatik sinir ve gastroknemius kas dokularında TUNEL tekniği ile değerlendirilen AI Tablo 4 ve Resim 33-42'de verilmiştir. Siyatik sinire ait Schwan hücrelerindeki AI, T-7 ve T-28 gruplarıda AI açısından S-7 ve S-28 grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı derecede arttı ($p<0.05$). Bununla birlikte gastroknemius kasına ait istatistiksel verilerde anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). AI açısından T-7 grubu ile T+Q-7 grubu istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında T+Q-7 grubundaki anlamlı bir azalma dikkat çekiciydi ($p<0.05$). Aynı zamanda T-28 grubu ile

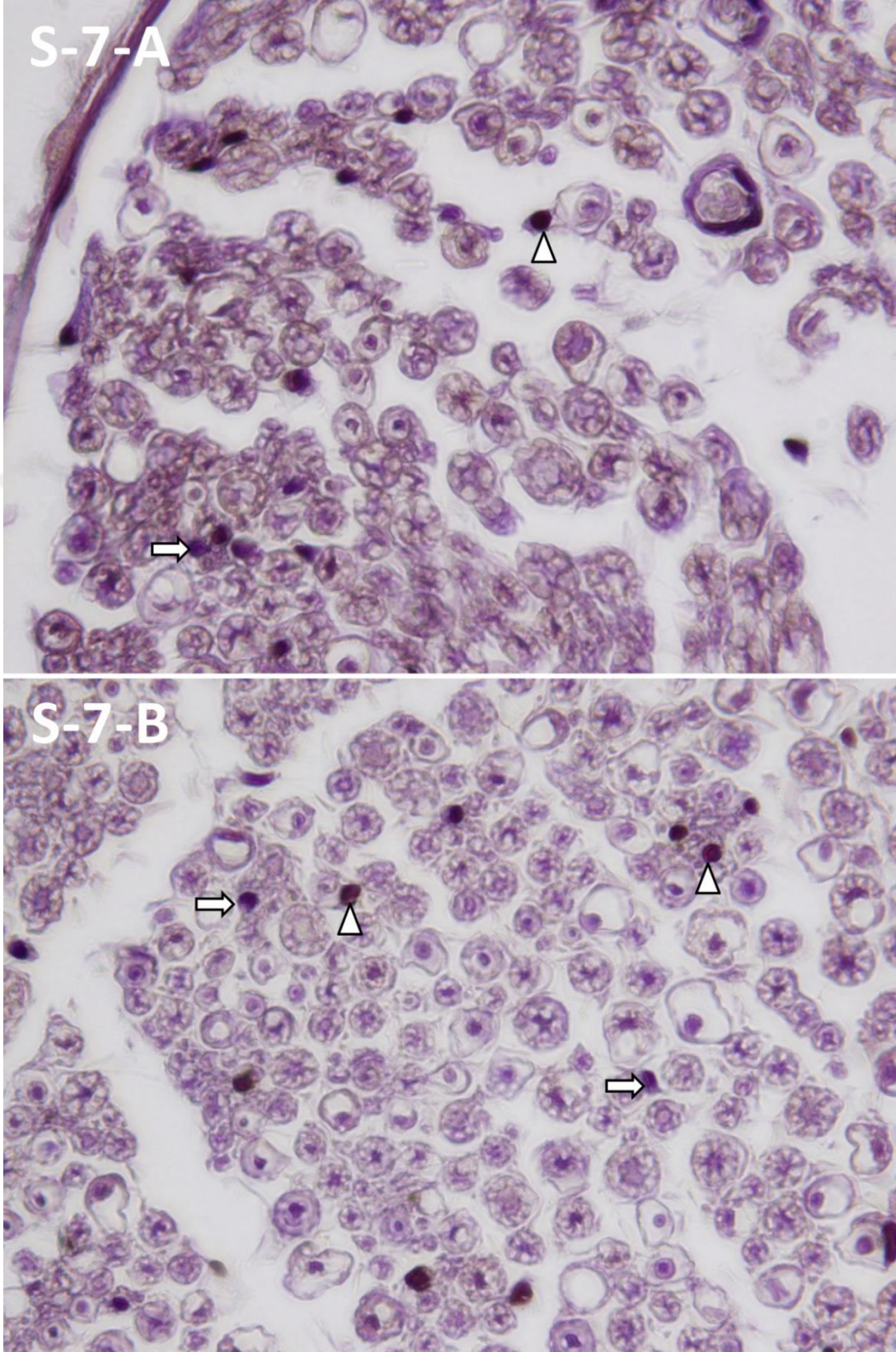
T+Q-28 grubu istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında T+Q-28 grubunda AI anlamlı derecede azaldı ($p < 0.05$). T+Q-28 grubu T+Q-7 grubu ile karşılaştırıldığında AI açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p > 0.05$). Bununla birlikte gastroknemius kasına ait istatistiksel verilerde anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p > 0.05$).

Tablo 4. Deney gruplarına ait apoptotik indeks bulguları

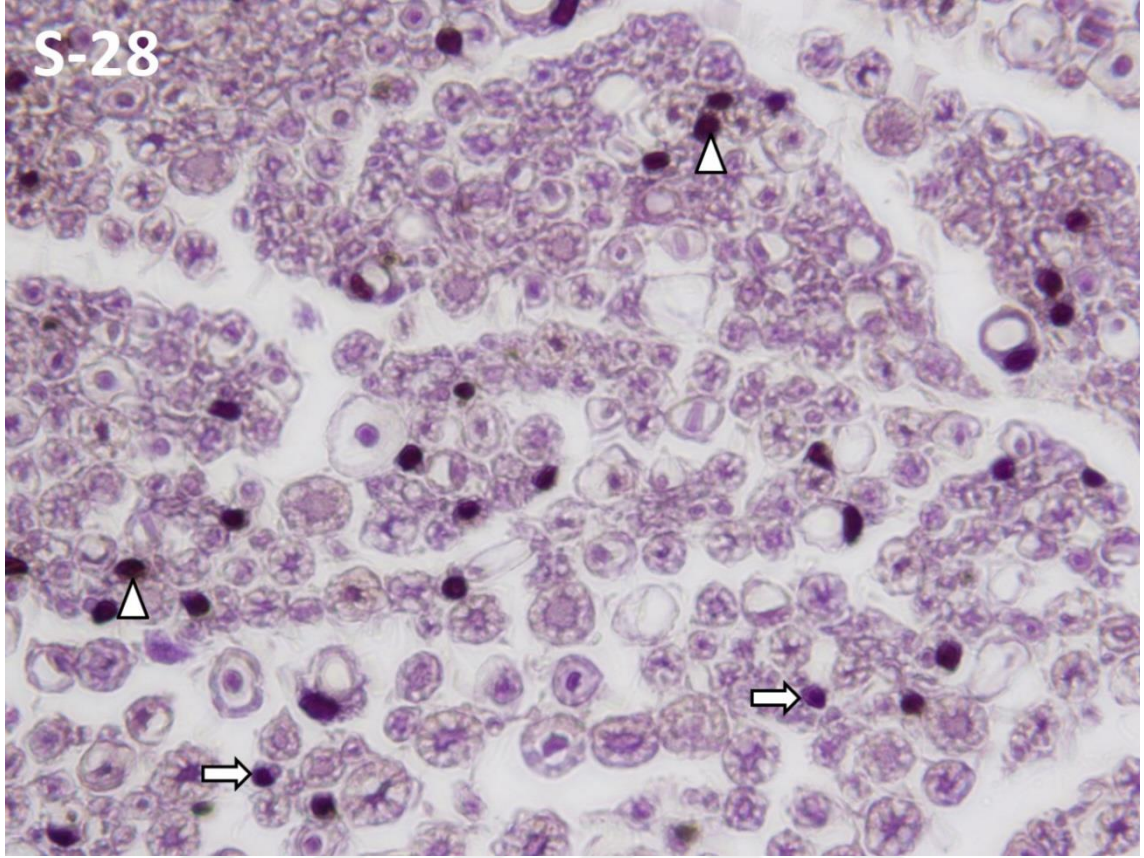
Gruplar	Siyatik sinir	Gastroknemius kası
S-7	19,28±6,65	18,93±3,56
S-28	27,69±3,75	21,68±3,37
Q-7	20,64±6,96	12,28±2,64
Q-28	26,68±4,77	16,05±2,56
T-7	71,64±10,33 ^a	22,24±5,54
T-28	53,37±9,41 ^b	24,12±4,21
T+Q-7	43,91±7,51 ^c	20,29±4,62
T+Q-28	38,14±4,43 ^d	14,85±2,32

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Her grupta n=6 sıçan

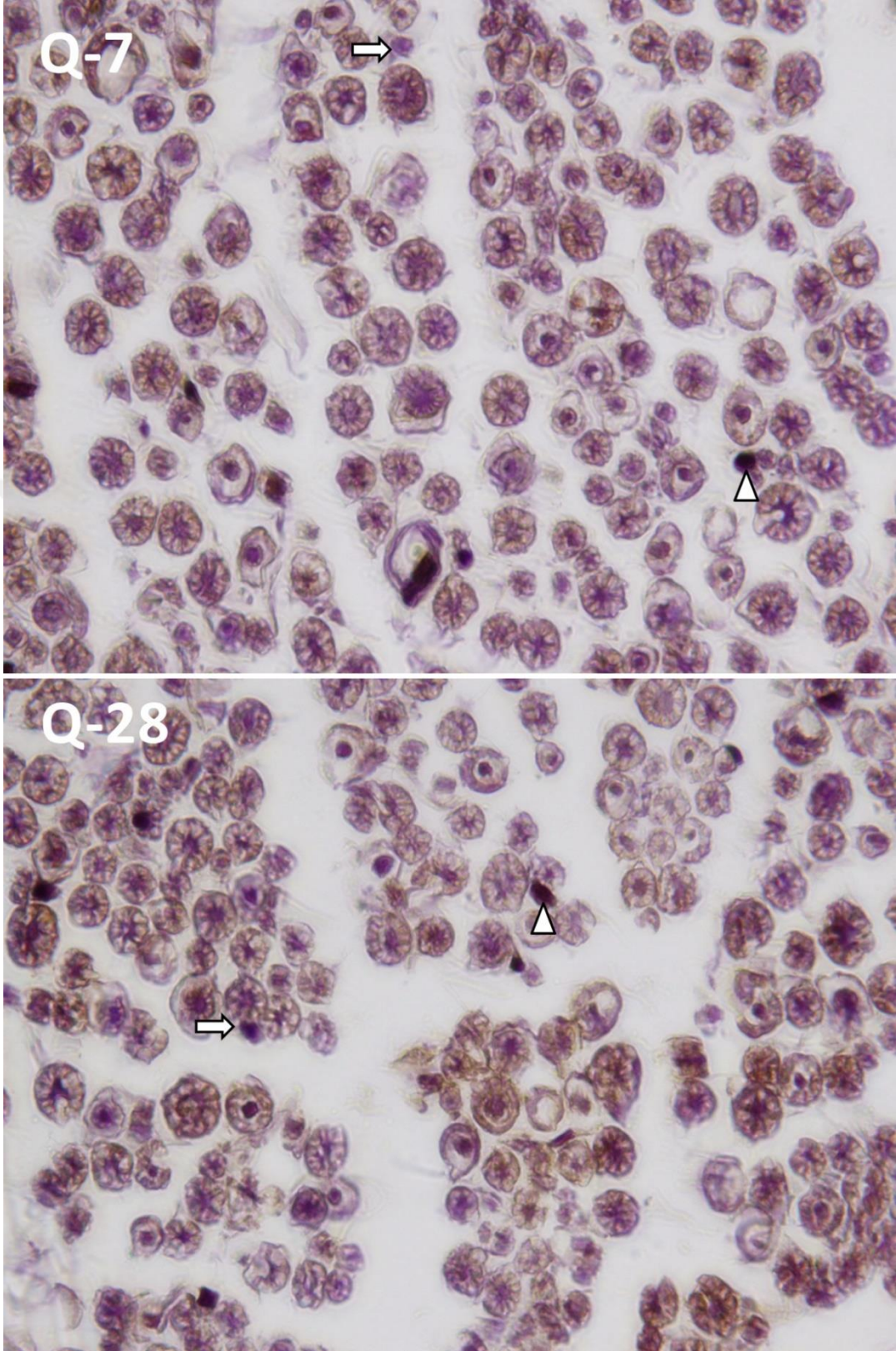
^a: $p < 0.05$ S-7; ^b: $p < 0.05$ S-28 ile karşılaştırıldığında; ^c: $p < 0.05$ T-7 karşılaştırıldığında; ^d: $p < 0.05$ T-28 ile karşılaştırıldığında; ^e: $p < 0.05$ T+Q-7 karşılaştırıldığında; ^f: $p < 0.05$ T+Q-28 karşılaştırıldığında



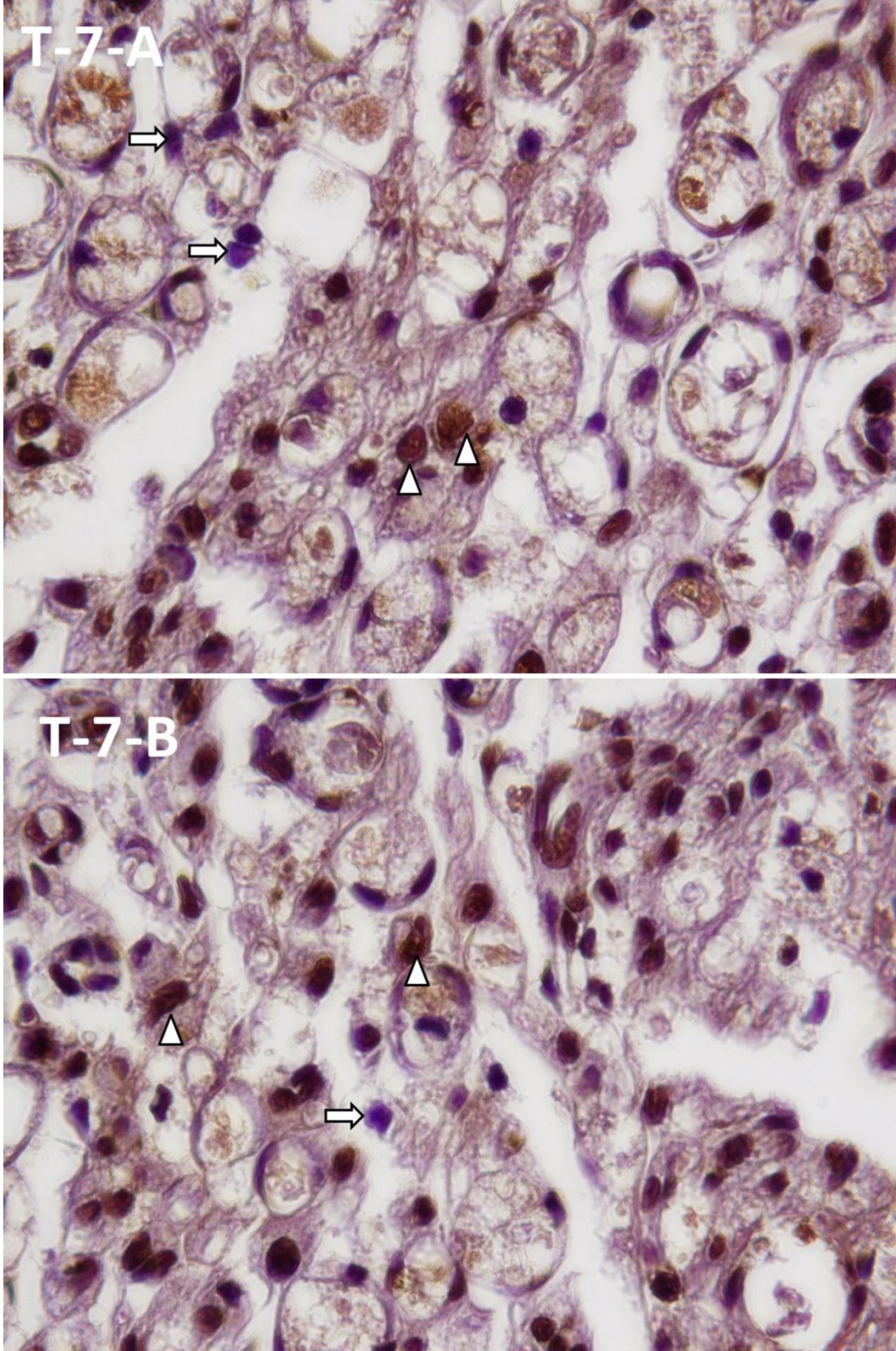
Resim 33. A, B. S-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B). Apoptotik Schwann hücre nukleusu (ok başı), normal Schwann hücre nukleusu (sağ ok) (TUNEL, X100).



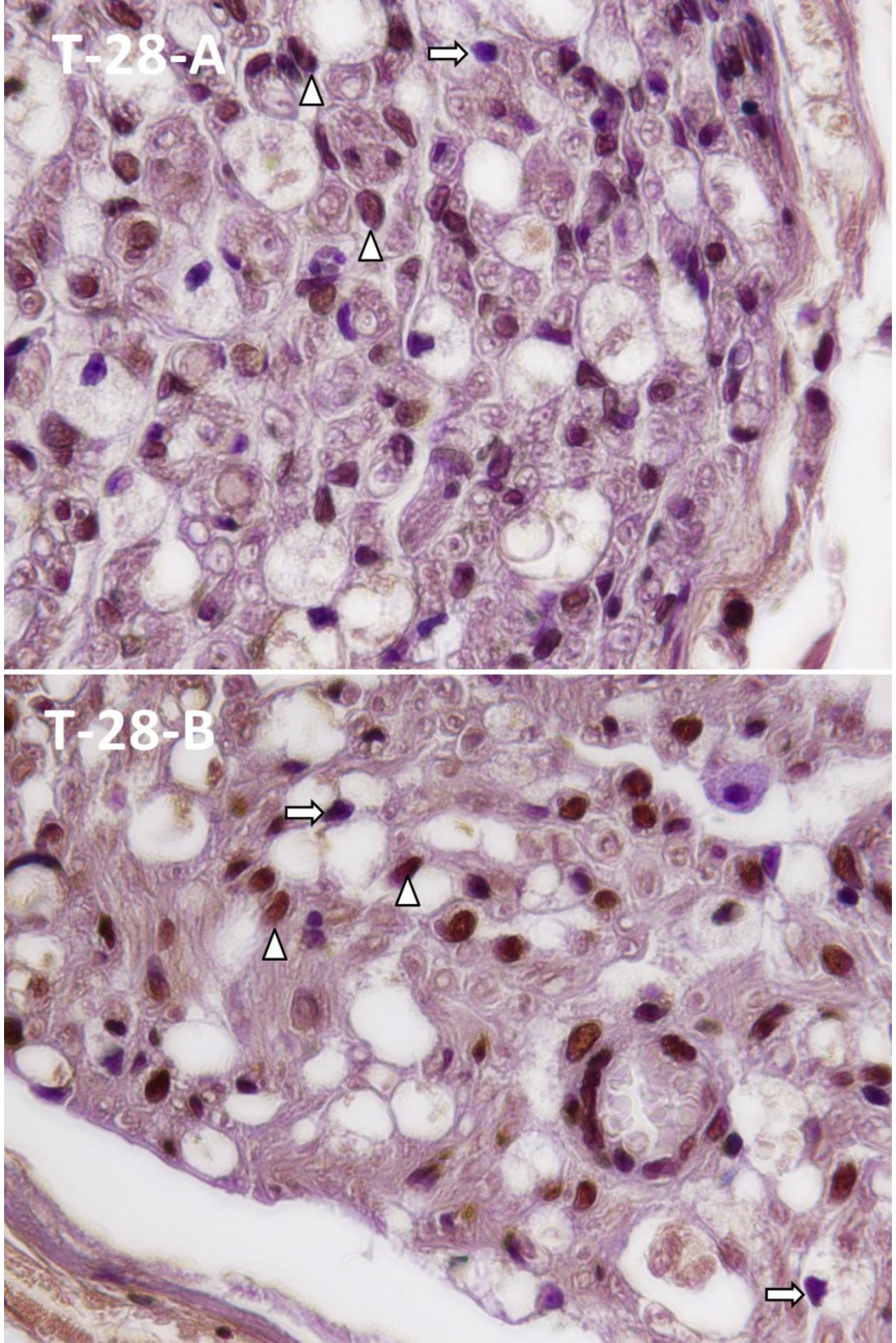
Resim 34. S-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü. Apoptotik Schwann hücre nukleusu (ok başı), normal Schwann hücre nukleusu (sağ ok) (TUNEL, X100).



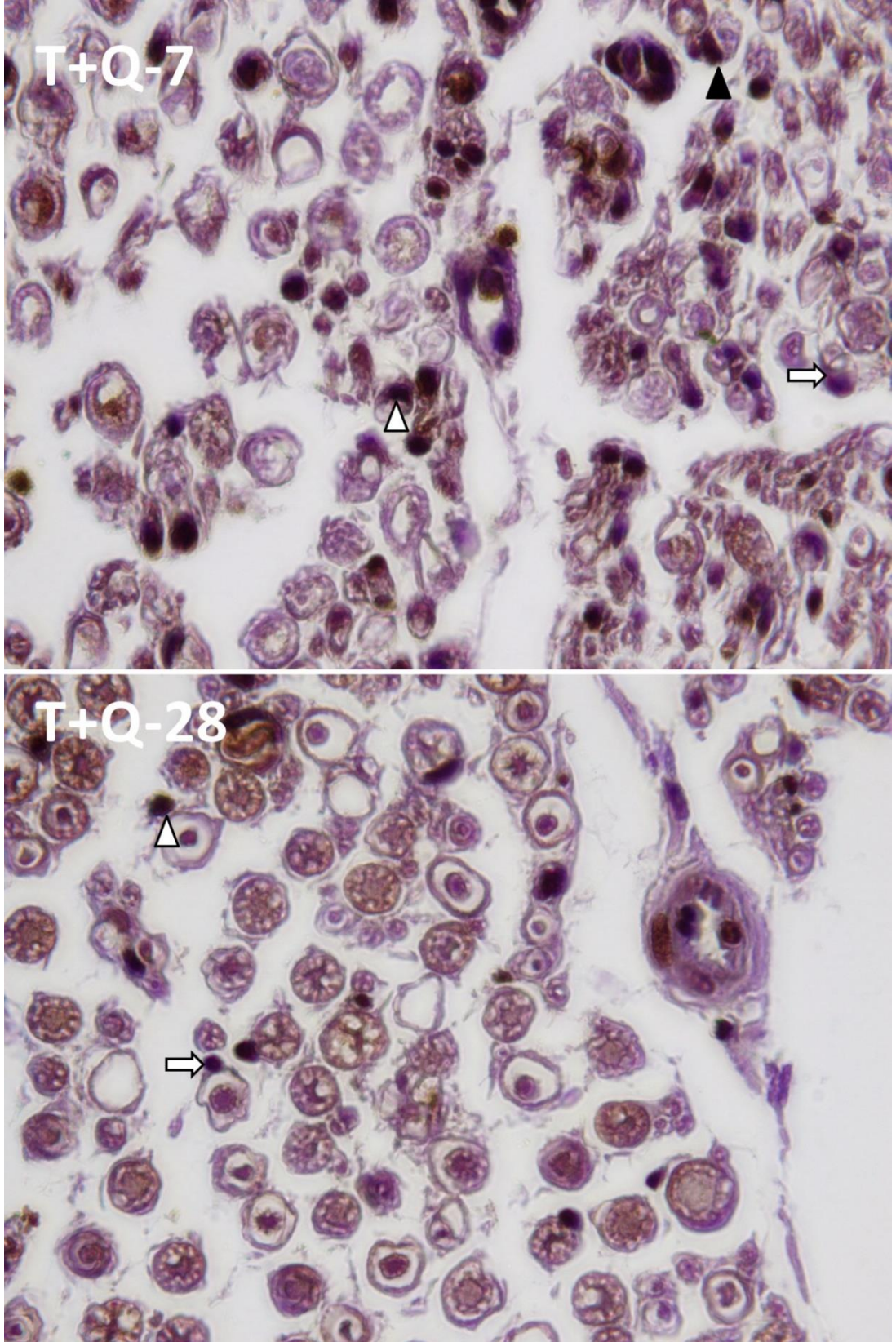
Resim 35. A, B. Q-7 ve Q-28 gruplarına ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü. Apoptotik Schwann hücre nukleusu (ok başı), normal Schwann hücre nukleusu (sağ ok) (TUNEL, X100).



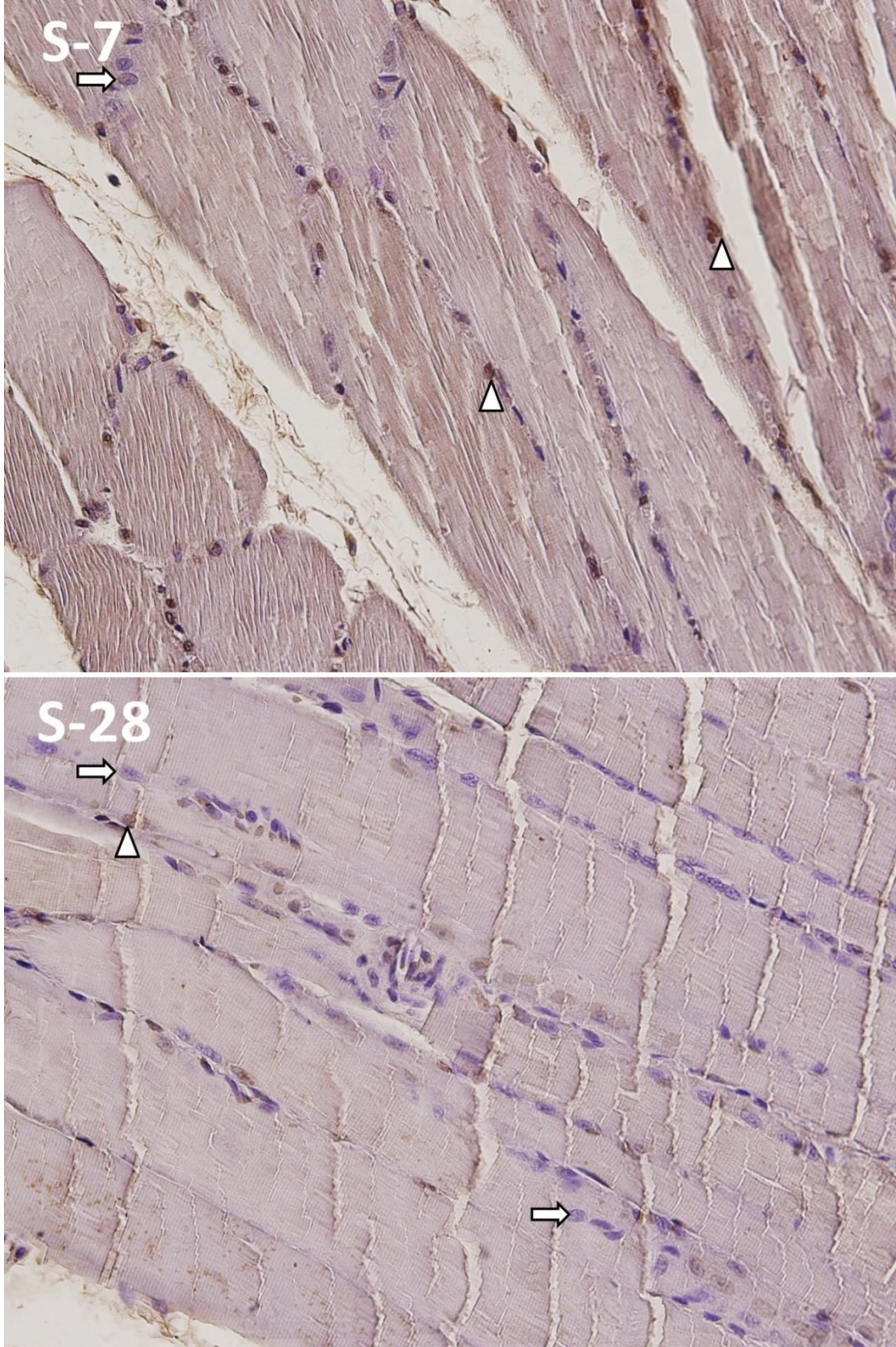
Resim 36. A, B. T-7 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B). Apoptotik Schwann hücre nükleusu (ok başı), normal Schwann hücre nükleusu (sağ ok) (TUNEL, X100).



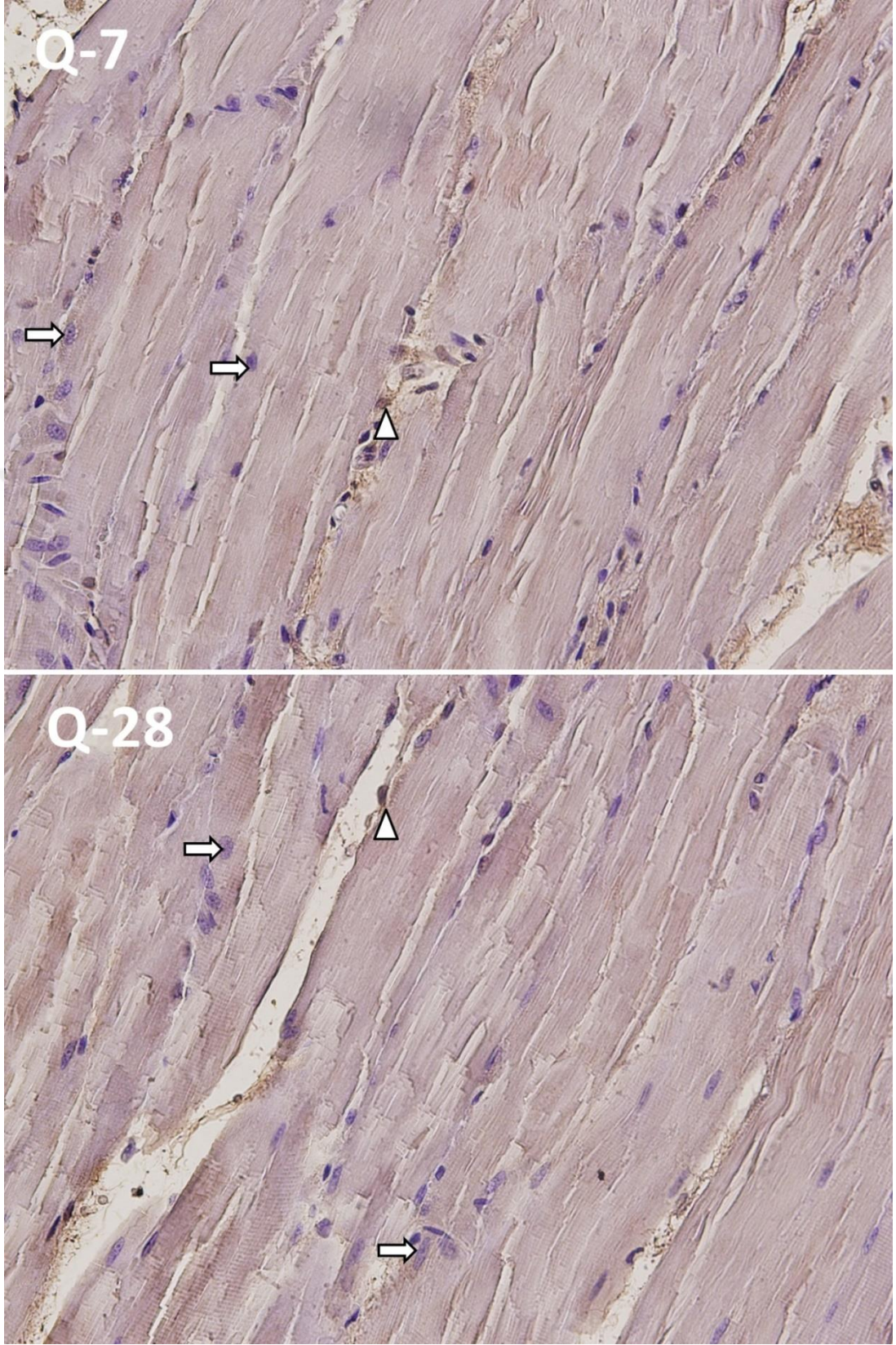
Resim 37. A, B. T-28 grubuna ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü (A, B). Apoptotik Schwann hücre nukleusu (ok başı), normal Schwann hücre nukleusu (sağ ok) (TUNEL, X100).



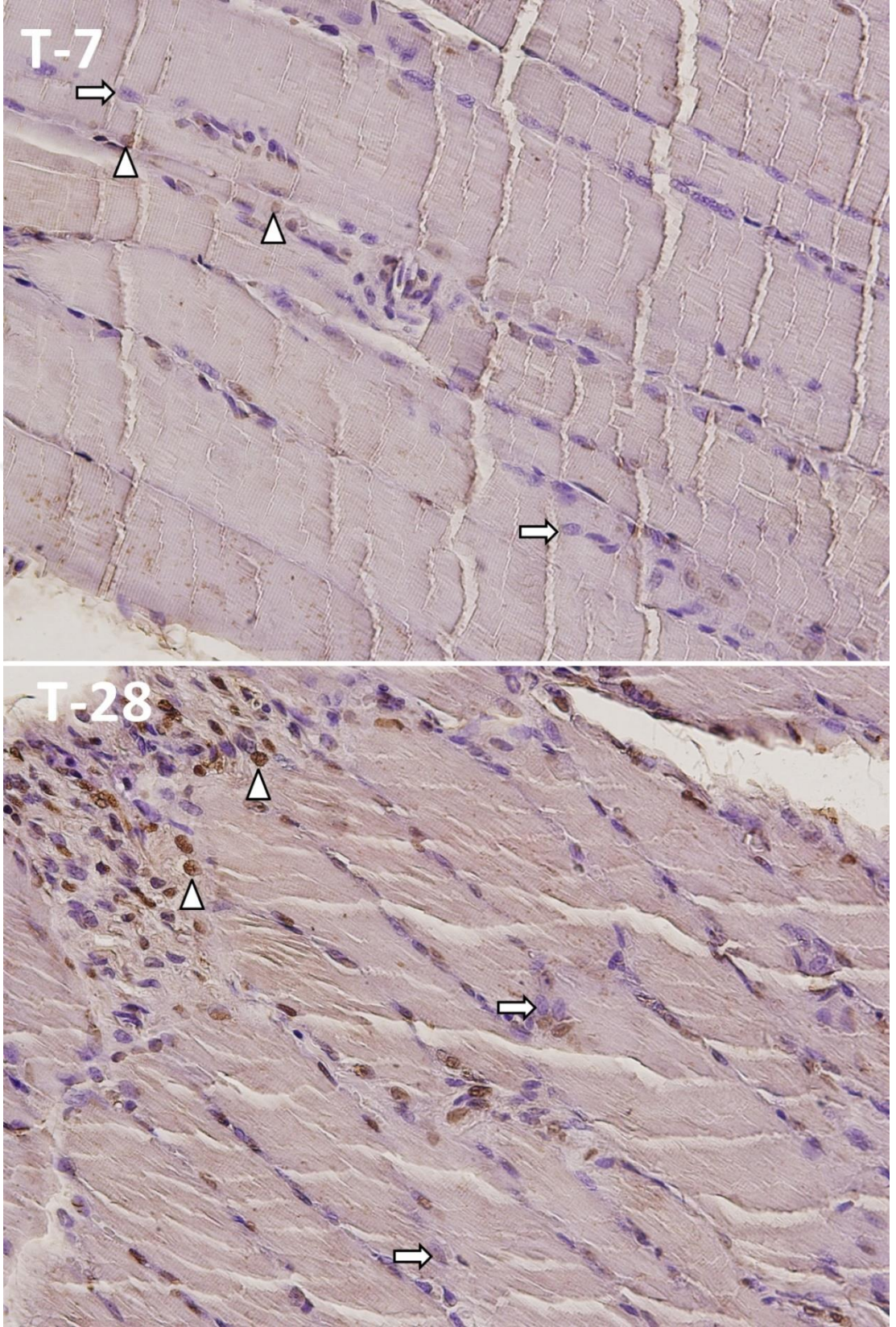
Resim 38. T+Q-7 ve T+Q-28 gruplarına ait sıçanların siyatik sinir dokusunun görüntüsü. Apoptotik Schwann hücre nukleusu (ok başı), normal Schwann hücre nukleusu (sağ ok) (TUNEL, X100).



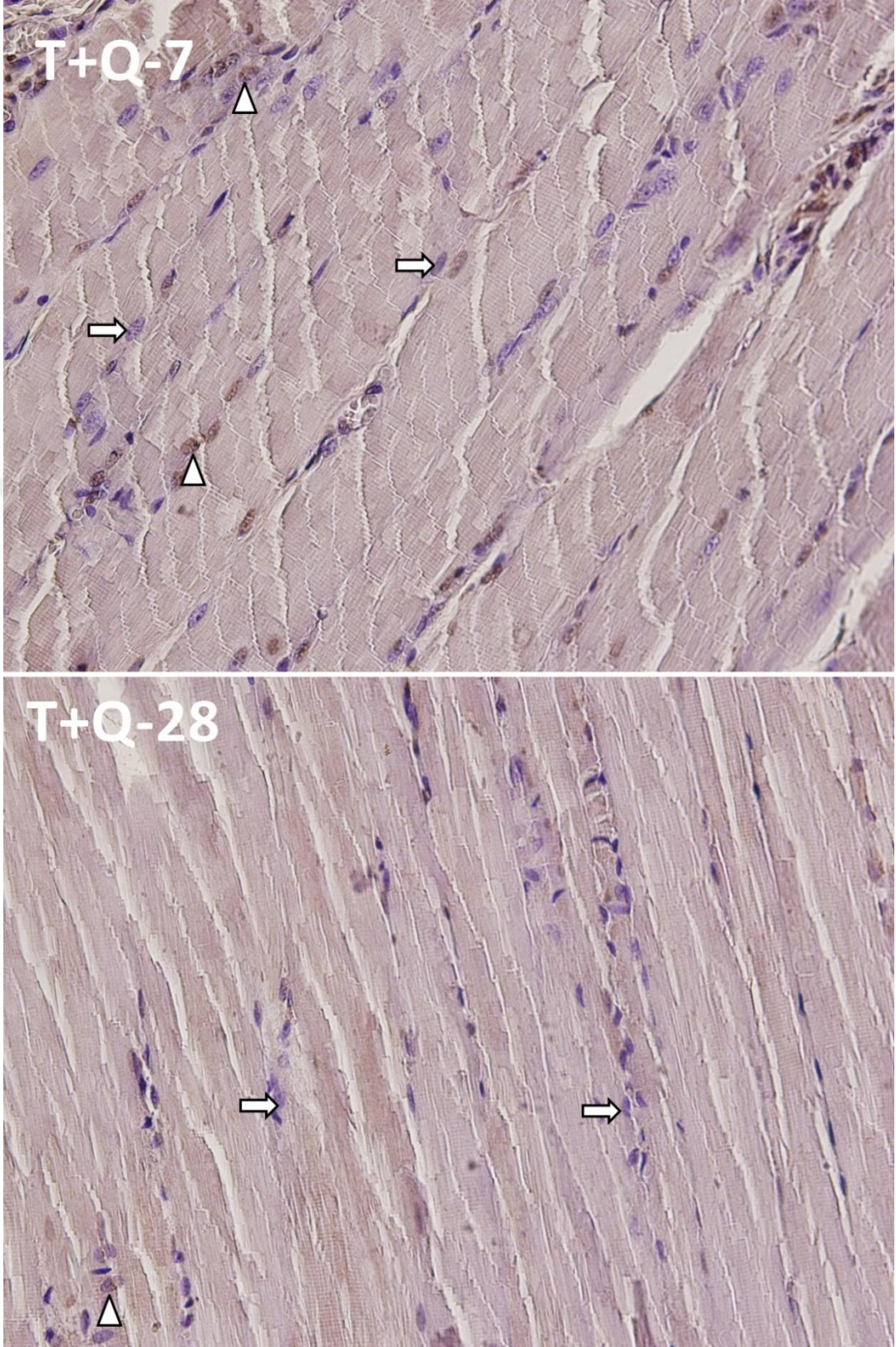
Resim 39. S-7 ve S-28 gruplarına ait sıçanların gastrocnemius kas dokusunun görüntüsü. Apoptotik hücre nükleusu (ok başı), normal hücre nükleusu (sağ ok) (TUNEL, X40).



Resim 40. Q-7 ve Q-28 gruplarına ait sıçanların gastroknemius kas dokusunun görüntüsü. Apoptotik hücre nükleusu (ok başı), normal hücre nükleusu (sağ ok) (TUNEL, X40).



Resim 41. T-7 ve T-28 gruplarına ait sıçanların gastrocnemius kas dokusunun görüntüsü. Apoptotik hücre nükleusu (ok başı), normal hücre nükleusu (sağ ok) (TUNEL, X40).



Resim 42. T+Q-7 ve T+Q28 gruplarına ait sıçanların gastroknemius kas dokusunun görüntüsü. Apoptotik hücre nükleusu (ok başı), normal hücre nükleusu (sağ ok) (TUNEL, X40).

6.6. Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulgular

Deney gruplarına ait serum-doku örneklerinde MDA, SOD, CAT ve GSH sonuçları Tablo 5 ve 6'da verilmiştir. Serum-doku MDA seviyesi açısından S-7 grubu ile T-7 grubu karşılaştırıldığında T-7 grubunda belli bir miktar artış izlense de istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). Fakat S-7 grubu ile T-28 grubu karşılaştırıldığında T-28 grubunda serum MDA seviyesi anlamlı derecede azaldı ($p<0.05$). T-7 grubu ile T+Q-7 grubu istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında doku MDA seviyesi T+Q-7 grubundaki anlamlı bir azaldı ($p<0.05$). Bununla birlikte gastrocnemius kasına ait serum-doku MDA seviyesinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$).

Siyatik sinirde; T+Q-28 grubu ile T+Q-7 grubu serum SOD aktivitesi açısından karşılaştırıldığında T+Q-28 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi ($p<0.05$). Bununla birlikte gastrocnemius kasında doku SOD aktivitesi T-7 ve T-28 gruplarında S-7 grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede artış izlendi ($p<0.05$). Siyatik sinirde; CAT aktivitesi açısından S-7 grubu ile T-28 grubu karşılaştırıldığında T-28 grubunda serum CAT seviyesi anlamlı derecede azaldı ($p<0.05$). T-7 grubu ile T+Q-7 grubu istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında serum CAT aktivitesi T+Q-7 grubunda anlamlı derecede azaldı ($p<0.05$).

Siyatik sinirde; GSH aktivitesi açısından S-7 grubu ile S-28 grubu karşılaştırıldığında S-28 grubunda serum CAT seviyesi anlamlı derecede azaldı ($p<0.05$). Diğer gruplar arasında GSH aktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo 5. Sıçan siyatik sinir dokularına ait biyokimyasal bulgular

	MDA			SOD			CAT			GSH	
	Doku (nmol/mgr)	Serum (nM)	Doku (U/g)	Doku (U/g)	Serum (nM)	Doku (kU/mg)	Serum (kU/L)	Doku (mM/gr)	Serum (mM/L)		
S-7	5,34±1,18	0,28±0,07	1181,54±427,90	1432,13±266,67	0,45±0,32	0,96±0,21	1131,04±330,50	5,70±1,32	0,02±0,007		
S-28	3,52±1,11	0,12±0,01	1432,13±266,67	1127,72±48,72	0,85±0,31	1,09±0,17	661,32±146,13	10,45±2,31	0,02±0,002 ^a		
Q-7	4,29±1,77	0,73±0,24	1127,72±48,72	3169,99±1011,12	0,39±0,15	1,08±0,19	902,44±229,16	5,61±2,22	0,01±0,008		
Q-28	1,62±0,91	0,29±0,19	3169,99±1011,12	2226,54±976,69	1,37±0,31	1,33±0,30	561,10±155,72	6,96±2,92	0,02±0,002		
T-7	6,82±2,81	0,16±0,08	2226,54±976,69	3290,18±2122,73	0,67±0,33	1,02±0,26	740,19±41,45	4,99±2,11	0,02±0,007		
T-28	4,81±2,16	0,06±0,03 ^a	3290,18±2122,73	1897,45±534,12	2,04±0,75	1,09±0,19	465,29±199,84 ^a	7,74±1,49	0,02±0,003		
T+Q-7	1,71±0,79 ^c	0,39±0,16	1897,45±534,12	2448,04±1151,05	0,27±0,25	1,16±0,14	992,43±113,96 ^c	6,54±1,63	0,02±0,003		
T+Q-28	1,78±0,58	0,40±0,14	2448,04±1151,05	1,04±0,12 ^e	1,30±0,30	1,30±0,30	990,89±227,36	6,29±1,62	0,02±0,003		

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Her grupta n=6 sıçan

^a: p < 0.05 S-7; ^b: p < 0.05 S-28 ile karşılaştırıldığında; ^c: p < 0.05 T-7 karşılaştırıldığında;

^d: p < 0.05 T-28 ile karşılaştırıldığında; ^e: p < 0.05; T+Q-7 karşılaştırıldığında; ^f: p < 0.05 T+Q-28 karşılaştırıldığında

Tablo 6. Sıçan gastroknemius kasına ait biyokimyasal bulgular

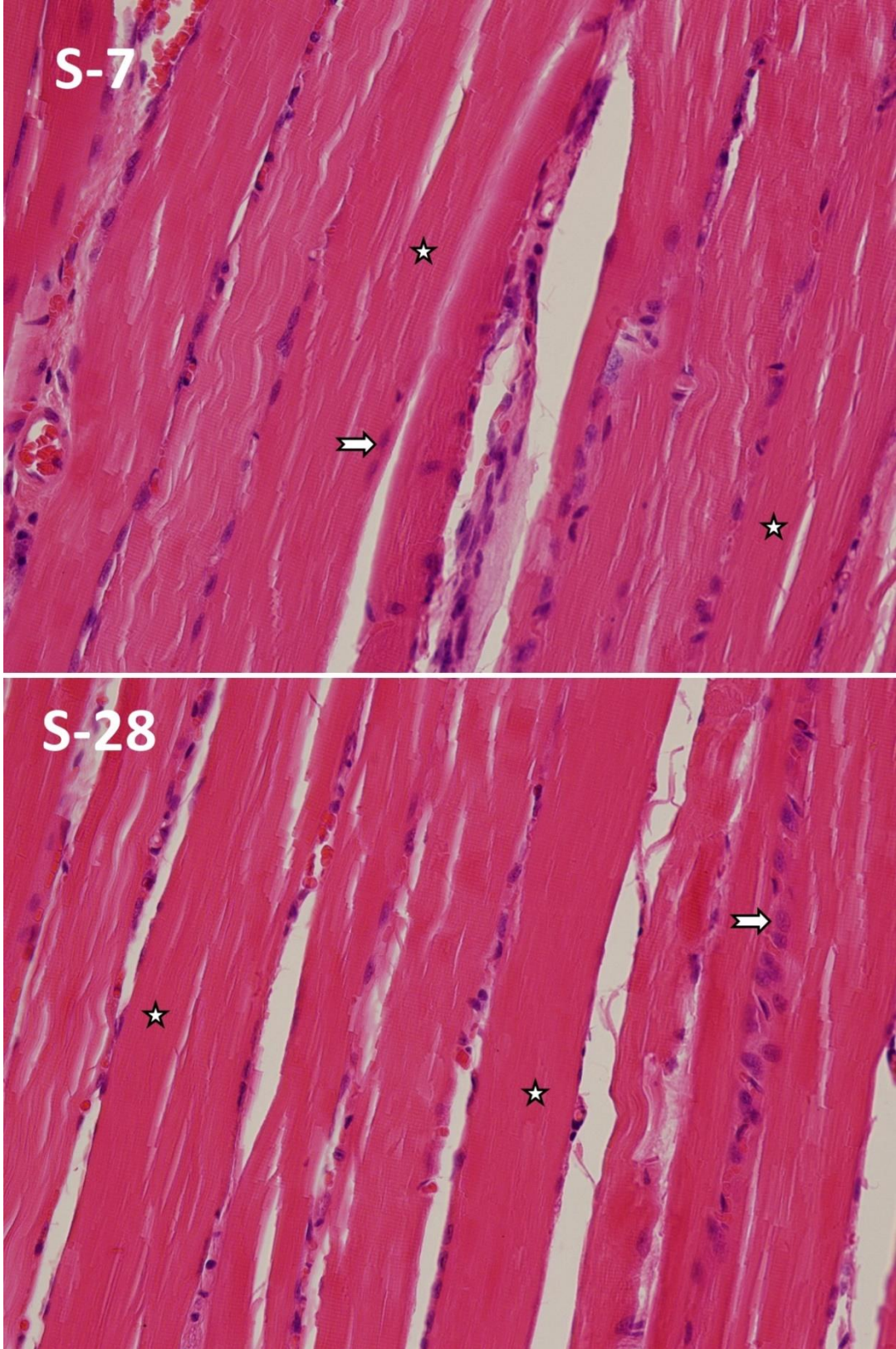
	MDA	SOD	CAT	GSH
S-7	0,36±0,17	6600,08±1264,79	51,35±10,70	1,41±0,34
S-28	0,39±0,15	10772,28±421,10	44,47±19,97	1,49±0,39
Q-7	0,56±0,16	11621,52±5212,67	44,81±29,17	1,76±0,37
Q-28	0,38±0,21	10515,49±2296,60	36,93±5,50	1,97±0,75
T-7	0,31±0,07	11224,14±6014,80 ^a	56,11±11,43	2,03±0,67
T-28	0,26±0,11	14177,77±3001,79 ^a	42,16±11,08	1,45±0,55
T+Q-7	0,32±0,16	15698,40±4930,15	64,49±6,61	2,02±1,08
T+Q-28	0,37±0,13	18321,30±3625,61	69,70±21,22	1,80±0,61

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Her grupta n=6 sıçan

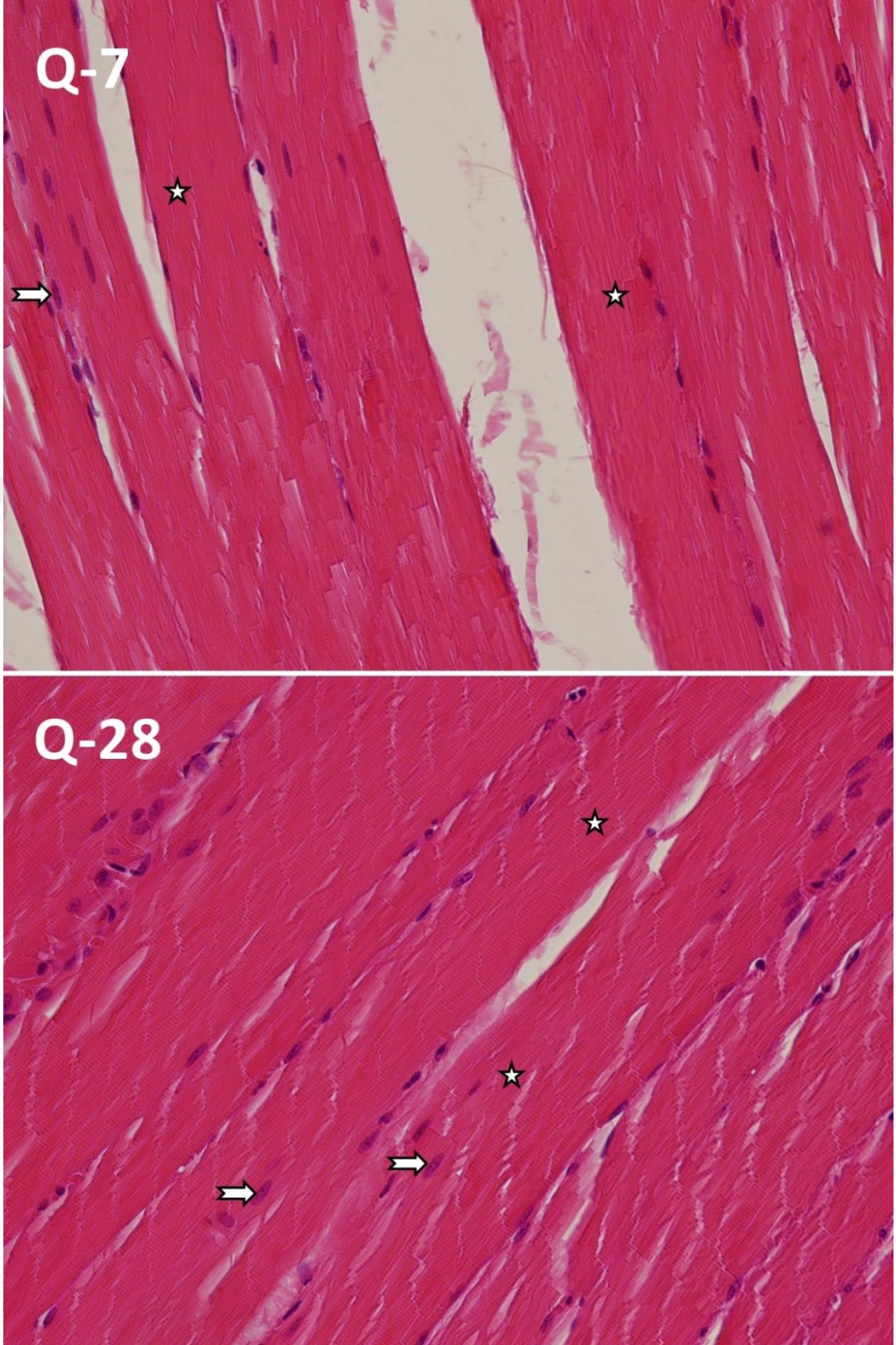
^a: p < 0.05 S-7; ^b: p < 0.05 S-28 ile karşılaştırıldığında; ^c: p < 0.05 T-7 karşılaştırıldığında; ^d: p < 0.05 T-28 ile karşılaştırıldığında; ^e: p < 0.05 T+Q-7 karşılaştırıldığında; ^f: p < 0.05 T+Q-28 karşılaştırıldığında

6.7. Gastroknemius Kasına Ait Histopatolojik Bulgular

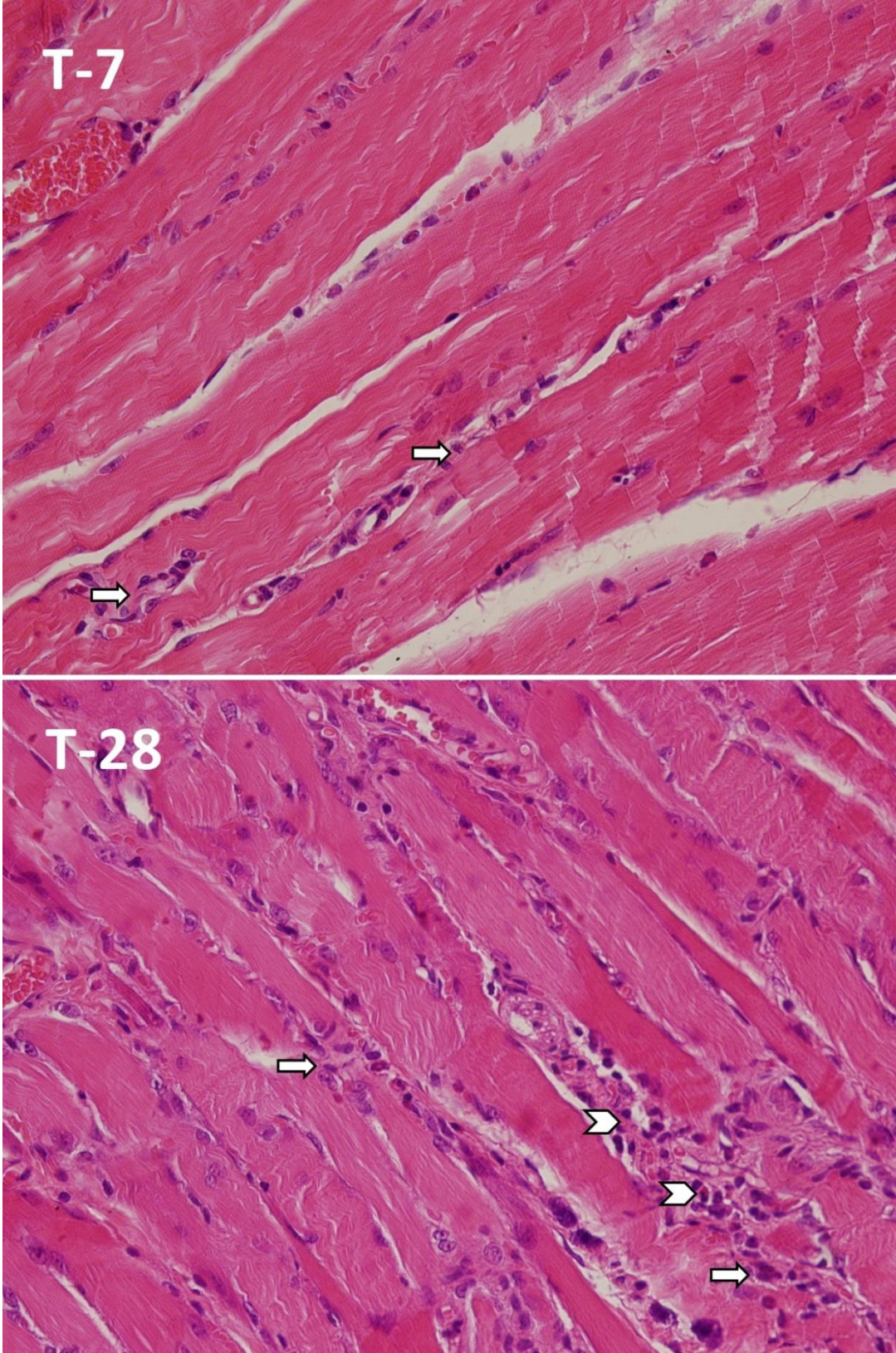
Sırasıyla S-7, S-28, Q-7, Q-28, T-7, T-28, T+Q-7 ve T+Q-28 gruplarına ait morfolojik görüntüler Resim 43-46'da gösterilmiştir. H&E boyaması yapılan kesitlerin morfolojik değerlendirmesine göre; genel olarak Sham gruplarında ve quercetin gruplarına ait gastroknemius kas dokusu preparatlarında herhangi bir patolojiye rastlanmadı. Bununla birlikte travma gruplarında kas lifleri arasında hafif disorganizasyon yapısı gözlenirken özellikle T-28 grubunda kas demetleri arasında yer yer fibrotik doku artışı olduğu gözlemlendi. T+Q-7 ve T+Q-28 gruplarında ise normal yapıya sahip kas morfolojisi izlendi.



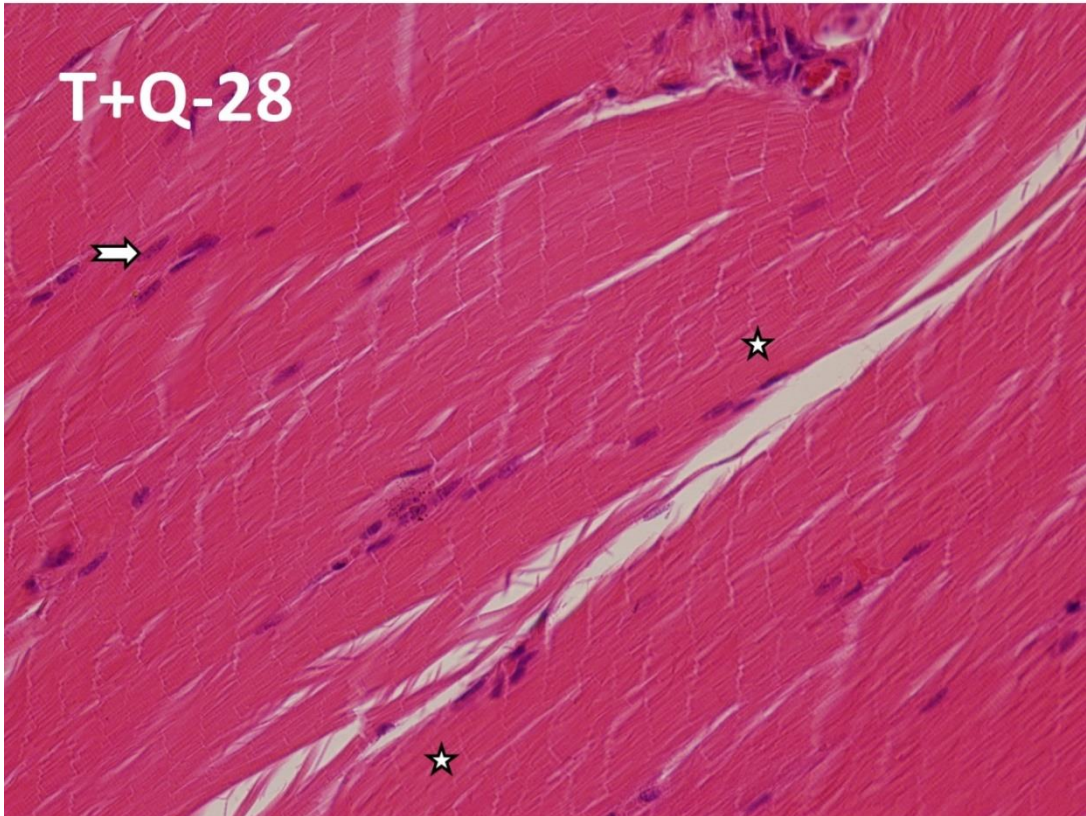
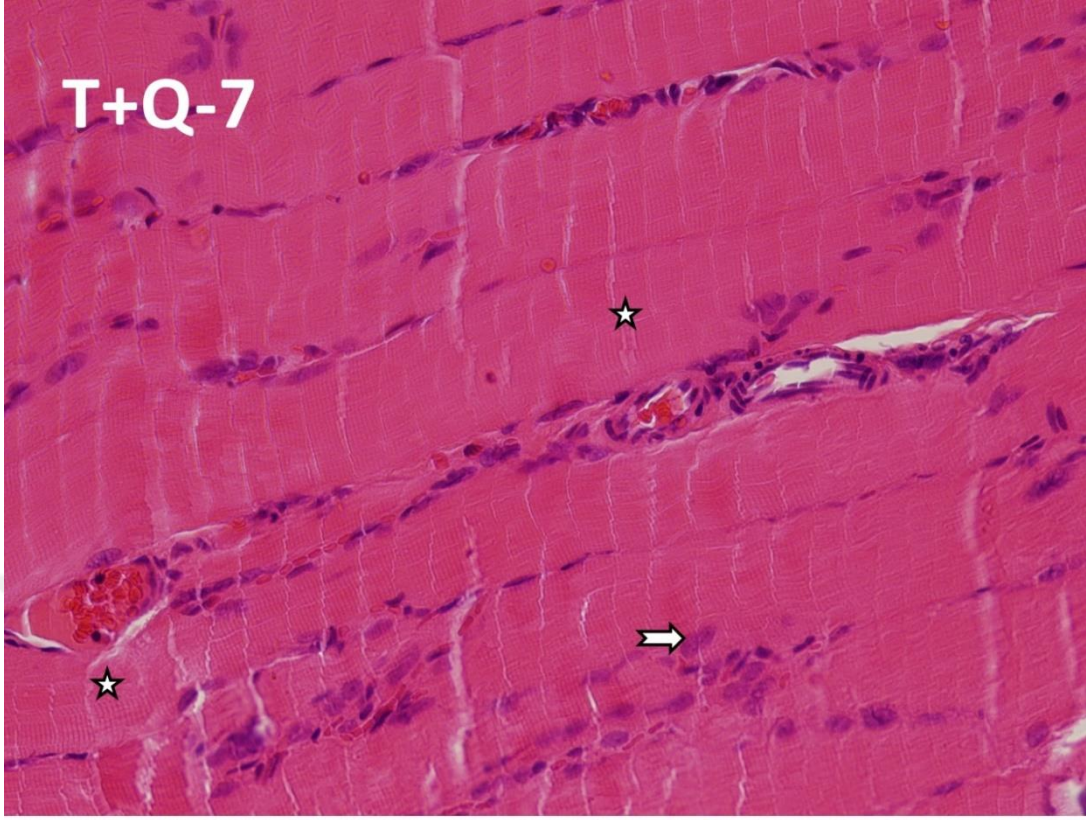
Resim 43. S-7 ve S-28 gruplarına ait sıçanların gastroknemius kas dokusunun görüntüsü. Normal kas lifi (yıldız) ve nukleus (sağ çentikli ok) organizasyonu (H&E, X40).



Resim 44. Q-7 ve Q-28 gruplarına ait sıçanların gastroknemius kas dokusunun görüntüsü. Normal kas lifi (yıldız) ve nukleus (sağ çentikli ok) organizasyonu (H&E, X40).



Resim 45. T-7 ve T-28 gruplarına ait sıçanların gastroknemius kas dokusunun görüntüsü. Kas lifleri arasında disorganizasyon (sağ ok), fibrotik doku (köşeli çift ayıraç) (H&E, X40).



Resim 46. T+Q-7 ve T+Q28 gruplarına ait sıçanların gastroknemius kas dokusunun görüntüsü. Normal kas lifi (yıldız) ve nukleus (sağ çentikli ok) organizasyonu (H&E, X40).

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Periferik sinirler çoğunlukla ezme, sıkıştırma, gerdirmе bölme gibi çeşitli hasar şekillerine maruz kalırlar. Motor nöronların bozulması sonucunda, Schwann hücreleri için hayatta kalma ortamının olmaması ve sinirin yeniden yenilenme yeteneğinin yetersiz olması nedeniyle, periferik sinir yaralanmaları ile esilen aksonlar distal sürekliliği yeniden kuramadığı için majör fonksiyonel defisitler gelişir. Sonuç olarak, periferik sinir travması önemli bir sağlık problemidir ve klinisyenler hastaların tedavisi sürecinde çok büyük mücadeleler vermektedir (122). Deneysel çalışmalarda, rejenerasyonun oldukça etkin, hızlı, kolay ve ucuza mal edilebilir olması ve insan periferik sinirine benzerlik göstermesi nedeniyle çoğunlukla rat siyatik siniri kullanılmıştır. Ayrıca rat siyatik siniri ile motor ve sensoriyel sinir fonksiyonları da değerlendirebildiğinden özellikle tercih edilmektedir (123). Bizde bu çalışmamızda; siyatik sinir travması ile oluşan hasarı araştırmak için insana en yakın deneysel model olması, kolay elde edilmeleri ve özel donanımlı laboratuvar koşullarına gereksinimleri olmamaları nedeniyle denek olarak Sprague Dawley cinsi sıçanları tercih ettik.

Siyatik sinirde klemp ile yapılan bası; önceden belirlenmiş şiddette yaralanma yapabilir (124). Klips ile sinir hasarı mekanik yaralanma yanında iskemiye de yol açar. Sinir kompresyonundan sonra gelişen fonksiyonel kaybın en önemli nedenlerinden biri, basınç nedeniyle sinirde oluşan mekanik doku ezilmesidir. İleri derecede bir bası Ranvier boğumları seviyesinde, sinir komprese bölgeden nonkomprese bölgelere doğru (proksimal ve distal yönde) kayar ve miyelin kılıfa invajine olur (125). Ezilme tipi sinir hasarlanma modeli, periferik sinir rejenerasyonunun hücresel ve moleküler mekanizmalarını araştırmak ve rejenerasyon sürecinde farklı faktörlerin rolünü değerlendirmek için kullanılan en yaygın modeldir (4, 126). Bu nedenlerden dolayı bu çalışmamızda siyatik sinir ezilmesi sonrasındaki histopatolojik, morfometrik ve biyokimyasal etkileri değerlendirmek için bu yöntemi tercih ettik.

Çalışmamızda deney grupları vücut ağırlığı değişimleri açısından değerlendirildiğinde, başlangıçtan itibaren tüm gruplarda dört hafta boyunca zamana yayılan istatistiksel olarak anlamlı bir kilo artışı görülmektedir. Bu artış gruplar arasında önemli bir değişim göstermemektedir. Vogelaar ve ark. (2004) fare ve sıçanlarda yaptıkları siyatik sinir hasarı çalışmasında, farelerin operasyon sonrası 28. güne kadar

sıçanların ise 70. güne kadar hasarlı pençelerini tam olarak kullanamadıklarını bulmuşlardır (127). Bu sonuç, travmanın bir sonucu olarak hayvanlarda bir immobilizasyon etkisi yaratmış olabileceğini, bu nedenle de daha az hareket etmeye meyilli olduklarını ve kilo artışının bu hareketsizliğe bağlı olduğunu düşündürmektedir.

Santral sinir sisteminin aksine, periferik sinirler; hasar yerinde rejenerasyon süreci başlatabilmektedir. Aksonoteksis sinirlerin ezilmesinden sonra görülebilir ve endonöral kılıfın bütünlüğüne rağmen, aksonal yıkımın yanı sıra Wallerian dejenerasyonu yaranın distalinde oluşur. Fonksiyonel sonuç, distal sinir güdüğünde spontan rejenerasyona bağlı olarak tatmin edici olabilse de, sinir hücresi ölümü ve uç organ atrofisine bağlı olarak başarısızlık gözlenebilir. Dahası, yaralanma üzerinde bulunan yara dokusu mekanik olarak aksonal uzantıyı bloke edebilir ve iyileşme sürecini olumsuz olarak etkileyebilir. Wallerian dejenerasyonunda hasar gören sinir kesitlerinin hasar bölgesinden uzaklaşması, miyelin kılıf proteinleri ve lipitleri ortadan kaldırması için makrofajların ve diğer beyaz kan hücrelerinin toplanmasına yol açar. Schwann hücreleri hızla bölünür, başlangıçta aksonal ve miyelin enkazını temizlemeye yardımcı olan dediferansiye kızı hücreleri üretir. Sonra aksonları yenilemek için yollar sağlayarak sinirsel rejenerasyona aktif olarak katılırlar (128-130). Periferik sinir sistemi rejenerasyonu, etkili olmasına rağmen her zaman tam fonksiyonel toparlanma ile sonuçlanmayabilir. Galtrey ve Fawcett (131) aksonal rejenerasyonun yaklaşık 56 gün sürdüğünü (2-3.5 mm/gün) ve 21-42 gününde fonksiyonel toparlanmanın gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Tam işlevsel iyileşmede, akson çapı ve miyelin kılıf kalınlığı normal değerlere dönmektedir. Bu çalışmada ezilme tipi siyatik sinir hasarı modeli oluşturuldu ve erken-geç dönem açısından morfolojik inceleme yapıldı. Elde edilen bulgulara göre T-7 grubundaki sıçanların siyatik sinirinde; akson ve miyelin kılıfta ciddi derecede yaygın bir dejenerasyon izlendi. Miyelin kılıfın normal konsantrik lamellar yapısının bozulduğu ve miyelin kılıf lamellerinin birbirlerinden ayrıldığı, parçalandığı görüldü. Özellikle aksonal şişme dikkat çekiciydi ve bazı aksonlar tamamen dejenere olmuştu. Bu bulgular Wallerian dejenerasyonu ile uyumlu idi. T-28 grubu sıçanlara ait siyatik sinir kesitlerinde ise miyelinli aksonların bazılarında aksonun ve miyelin kılıfın dejenere olduğu, miyelin kılıfın normal konsantrik lamellar yapısının bozulduğu ve bu dejenerasyon bulgularının yanında T-7 grubu ile karşılaştırıldığında rejenerasyon sürecinin başladığı ve miyelin üretiminin başladığı sinir liflerinin olduğu gözlemlendi.

Ayrıca miyelin kılıf kalınlığı, sinir lifi çapı ve miyelinli sinir lifi sayısında travma gruplarında sham grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı derecede azalma izlendi. Siyatik sinir hasarı sonrası miyelinli sinir lifi sayısı, miyelinli sinir lifi çapı gibi histolojik değişimler pek çok çalışmada vurgulanmıştır (132-134). Yüce ve arkadaşlarının (2015) yapmış olduğu bir çalışmada, ezilme tipi sinir hasarı yapılan grubun elektron mikroskopik incelemelerinde 1. hafta sonunda miyelinde disorganizasyon, miyelinli sinir lifi kaybı, miyelin oluşturan ovoidler ve sitoskeleton yoksunluğu dikkati çekmiştir. 4. hafta sonunda ise çok az ince miyelinli sinir liflerinin olduğu, az derecede miyelin yapımının başladığı ve miyelinsiz aksonların bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca ışık mikroskopik morfolojik incelemelerde ise miyelin kılıf kalınlığında, sinir lifi çapında ve akson çapında azalma olduğu bildirilmiştir. Bu süreç sinir dejenerasyonu sonrasında rejenerasyon evrelerini göstermekte olup, bizim çalışmamızın bulgularını da destekler niteliktedir. Noorafshan ve arkadaşlarının (2011) yaptığı bir başka çalışmada ezilme tipi sinir hasarı sonrası 28. günde ortalama miyelinli sinir lifi çapı açısından sinirin proksimalinde %30 ve distalinde %36 oranında azalma olduğu belirlenmiştir. Total miyelinli sinir lifi sayısı açısından ise sinirin proksimalinde %48, distalinde ise %56 oranında kayıp olduğu vurgulanmıştır (135). Bir başka çalışmada sinir hasarı sonrası 7. ve 28. günlerde siyatik sinirde Wallerian hasarıyla uyumlu bulgular olduğu vurgulanmıştır (136). Bizim çalışmamızda da ezilme tipi sinir hasarı sonrası gelişen morfolojik hasar bulguları literatür bilgileriyle uyumlu olup, rejenerasyon süresi ve aşamaları açısından devamında yapılacak farklı basınç oranı ve süreleri ile ilgili çalışmalara kaynak olabilecek niteliktedir.

İskemik durumlarda temel amaç, reperfüzyon süresini kısaltarak kas nekrozunu önlemektir. İskemi sonrası görülen doku hasarı, genellikle reperfüzyon döneminde oluşur (137). İskelet kası iskemiye karşı diğer dokulara göre daha dayanıklıdır (138). Anatomik olarak, bacağın arka bölgesinde baldır kısmına şeklini veren M. gastrocnemius kası yer alır. Bu kas ayağa plantar fleksiyon ve dizde fleksiyon hareketini yaptırır (4). Gastrocnemius-soleus kası yürüme duruş fazında oldukça aktif olduğu için, bu yürüme tırmanışının bileşeni siyatik sinir bozukluğuna karşı çok hassastır (4, 139). Bu çalışmada ezilme modeli siyatik sinir hasarında gastrocnemius kasının morfolojik olarak değerlendirmesinde, travma gruplarında kas lifleri arasında hafif disorganizasyon yapısı gözlenirken özellikle T-28 grubunda bazı kesitlerde kas

demetleri arasında yer yer fibrotik doku artışı olduğu gözlemlendi. T+Q-7 ve T+Q-28 gruplarında ise normal yapıya sahip kas morfolojisi izlendi. Bu sonuçlara göre gastroknemius kası üzerinde bu model sinir yaralanmasının belirgin derecede etkisi olmadığı görülmüştür.

Siyatik siniri ezilme hasarından sonra vasa nervorum bozulması meydana gelir. Basınçlı iskemi yeterince uzun süre sürdürülürse yeniden akışa neden olmayabilir. Siyatik sinir ezilmesinin altında yatan patolojide, iskemi, serbest radikal üretimi (140) ve apoptoz (141, 142) gibi çeşitli moleküllerin görev aldığı yaygın görüşler arasındadır. Oksidatif stres tarafından indüklenen hücresel hasar apoptozisi tetikleyebilir. Serbest oksijen radikalleri (ROS) apoptotik ya da nekrotik hücre ölümünün başlamasına sebep olabilir (143). Çünkü ROS katalitik reaksiyonlarda LPO üretir. Bu yüzden LPO'nun önemli bir kaynağı olarak bilinir ve bir dizi antioksidan aktivite değişime neden olarak oksidatif strese yol açmaktadır (144, 145). Hücreler normal şartlarda oksidatif hasara karşı birçok mekanizma ve antioksidan moleküller tarafından korunmaktadır. Antioksidan enzimler SOD, CAT ve GP-x, hücresel antioksidan savunma mekanizmalar ise düşük molekül ağırlıklı GSH, vitamin C ve E'dir (146, 147). SOD, ROS 'a karşı birinci ve en önemli antioksidan savunma sistemlerinden biridir. SOD süperoksit anyon radikallerini hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüştürür. H_2O_2 peroksizomda CAT tarafından, sitozol ve mitokondride glutatyon peroksidaz tarafından oksijen ve suya parçalanır (148). GSH oksidatif hasara karşı ROS'un metabolik detoksifikasyonunda co-faktör ve süpürücü olarak fonksiyon gören ilk savunma sistemi olarak belirtilmektedir (143). Bir periferik sinirde hasar olursa; bir seri biyokimyasal değişiklik içeren bir cevabın başlatılması tetiklenir. Ciddi yaralanmalarda, nöronal ödem, daha yoğun nötrofil infiltrasyonu ve apoptosise yol açabilir. Artmış nötrofil infiltrasyonu, miyeloperoksidaz aktivitesi, doku MDA seviyesi ve LPO düzeyinde artışa neden olur. LPO, membran fonksiyonunu doğrudan bozabilir ve hücre bileşenlerine dolaylı olarak zarar verebilir. Yaralanmadan sonra LPO'da belirgin bir artış gözlenmiştir (3). Hall ve Braugler (149), spinal kord travmasından sonra 1, 24 ve 48 saatlerde LPO'nun zirveye çıktığını bildirmiştir (149). Oksidatif stres, yaralanmadan sonra sinir hasarının başlıca nedenlerinden biri olarak düşünülür. Bununla birlikte, antioksidan moleküllerin mRNA ekspresyonunda oluşturdıkları değişiklikler ve periferik sinir yaralanması ve rejenerasyonu sonrası meydana gelen değişiklikler çok az bilinmektedir (150). Bizim bu

çalışmamızda Serum-doku MDA seviyesi açısından S-7 grubu ile T-7 grubu karşılaştırıldığında T-7 grubunda belli bir miktar artış izlense de istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık yoktu. Fakat S-7 grubu ile T-28 grubu karşılaştırıldığında T-28 grubunda serum MDA seviyesi anlamlı derecede azaldı. T-7 grubu ile T+Q-7 grubu istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında doku MDA seviyesi T+Q-7 grubunda anlamlı derecede azaldı. Bununla birlikte gastroknemius kasına ait serum-doku MDA seviyesinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Siyatik sinirde; T+Q-28 grubu ile T+Q-7 grubu serum SOD aktivitesi açısından karşılaştırıldığında T+Q-28 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi. Bununla birlikte gastroknemius kasında doku SOD aktivitesi T-7 ve T-28 gruplarında S-7 grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede artış oldu. Genel olarak değerlendirildiğinde ise travma grupları ile sham grupları arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı gözlenirse de travma ile quercetin ile tedavi edilen grupların MDA seviyesinde azalma olduğu dikkati çekti. Siyatik sinir hasarı üzerine yapılan pek çok çalışmada LPO belirteci olan MDA seviyesinde artış olduğu ifade edilse de (3, 151, 152) bizim bulgularımız bu literatür bilgileri ile tam bir uyum sağlamamaktadır. Bu açıdan değerlendirilecek olursa, siyatik sinirde ezilme tipi yaralanmalarında iskemik ve mekanik etki ile hasar olduğu kaynaklarda belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda gözlenen ciddi histopatolojik hasarın iskemik etkiden daha çok dışarıdan oluşturulan mekanik etki sonucu olduğu ve hafif derecede iskemik hasar ile birleşince morfolojik hasarın artabileceği düşünülmektedir. Sinir hasarından sonra mekanik, iskemik ve inflamatuvar süreçler başlamakta (2) ve bu süreçlerin etkilerini azaltmak için çeşitli tedaviler kullanılabilmektedir. Sinir rejenerasyonu için pek çok çalışmada topikal steroidler (FK-506) (153, 154), lokal tiroid hormonu enjeksiyonu (155), çeşitli kimyasal bileşikler, düşük manyetik alan etkisi, ilaçlar, çeşitli antioksidan maddeler (propolis, curcumin) (2) gibi yöntemlerin etkileri değerlendirilmiş ve umut verici gelişmeler görülmüştür. Buna rağmen siyatik sinir hasarı hala klinik önemini korumakta, mekanizması üzerine net yorumlar yapılamamakta ve insanların yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir.

Doğal flavonoid polifenolik maddelerin en önemlilerinden birisi olan quercetin pek çok kronik hastalığın önlenmesinde olumlu etkilerinin çoğunun antioksidan aktivitesine bağlı olabileceği vurgulanmıştır (156). Quercetin doğrudan serbest radikalleri süpürerek bir antioksidan gibi davranmakta, demir ve bakırları kenetleyerek

ve H₂O₂'yi ve geçiş metalinin neden olduğu LPO'yu inhibe ederek dolaylı olarak etki göstermektedir (157). Antioksidan aktivitesinin yanında antikanserojenik, antiviral, antitrombotik, anti-iskemik, anti-inflamatuvar ve antialerjenik özellik gibi birçok önemli fonksiyona sahip olduğu belirtilmiştir (158). Quercetin uygulamasının antioksidan enzim düzeylerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda, SOD enzim düzeyinin beyin oksidatif stresini azalttığı ve üç hafta süreyle quercetin verilen sıçanlarda SOD düzeyinin arttığı (159) ve lipid peroksit düzeyini önemli ölçüde azalttığı da bildirilmektedir (160). Quercetin serebral iskemideki nöroprotektif mekanizması ile matriks metallo proteinaz-9'u, serbest radikal üretimini azalttığı bulunmuştur (10). Yapılan bir başka çalışmada beyinde alüminyuma dayalı davranışsal ve biyokimyasal değişimlerde quercetin nöroprotektif etkileri olduğu belirtilmiştir (11). Subseller veya moleküler nörotoksisiteyi hafifletmek için yeni stratejik çalışmalarda da kullanılmaktadır (161). Bir başka çalışmada quercetin oligodendrosit nc hücreleri, PI3K / Akt sinyal yolağının aktivasyonu yoluyla in vitro oksijen / glikoz yoksunluğu hasarından koruyabileceği belirtilmiştir (162). Ayrıca fokal serebral iske mi sıçan beyinde hücre apoptozunu azaltabileceğini ve mekanizmanın BDNF-TrkB-PI3K / Akt sinyal yolağının aktivasyonu ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (163). Quercetin santral sinir sistemi üzerine nöroprotektif etkileri çalışmalar ile değerlendirilmiş olmasına rağmen periferik sinir sistemi hasarı üzerine etkilerini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre, T-7 grubu ile T+Q-7 grubu istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında doku MDA seviyesi T+Q-7 grubundaki anlamlı derecede azaldı. Miyelin kılıf kalınlığı, sinir lifi çapı ve miyelinli sinir lifi sayısı açısından T-7 grubu ile T+Q-7 grubu istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Miyelinli sinir lifi sayısı ve sinir lifi çapı açısından T-28 grubu ile T+Q-28 grubu istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında T+Q-28 grubunda anlamlı derecede artış görüldü. Ayrıca T+Q-28 grubunda sinir lifi apı T+Q-7 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi. Bu istatistiksel veriler ile birlikte morfolojik olarak değerlendirilen tedavi grubuna ait kesitlerde T-28 grubunda normal süreç olarak işleyen rejenerasyon aşamaları başlamış olsa da akson ve miyelin hasarı belirgin derecede mevcuttur. Bununla birlikte T+Q-28 grubunda ise belirgin derecede akson- miyelin rejenerasyonu gözlenmiştir. Sham grubu sıçanlara ait normal sinir doku morfolojisine yakın olduğu izlendi. Elde edilen tüm bu bulgular

ışığında quercetin'in ezilme tipi sinir hasarında iyileşme süresinde belirgin derecede kısaltmaya neden olduğu, erken sağaltım ve verimli iş gücüne katkı sağlayabileceği bu etkilerin de kısmi antioksidan etkiler ile gerçekleşebileceğini göstermektedir. Fakat bu çalışmada biyokimyasal bulgular ile morfolojik bulgular arasında anlamlı bir korelasyon olmaması oluşan sinir hasarının dışarıdan direkt bir mekanik etki ile yaygın morfolojik hasarın oluştuğu düşüncesini kuvvetli kılmaktadır.

Schwann hücreleri Wallerian dejenerasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Yaralanma sonrası 24 saat içinde nükleer ve sitoplazmik genişleme ve mitotik hız artışı ile başlangıçta aktif hale gelirler. Bu hücreler hızla bölünerek dejenerasyon ve onarım sürecine yardımcı olması için çok sayıda molekül için gen ekspresyonunu arttıran ayırıcılığa uğramış hücreleri oluştururlar. Schwann hücresinin ilk rolü, dejenere aksonal ve miyelin enkazının çıkarılmasına ve daha sonra makrofajlara aktarılmasına yardım etmektir. Schwann hücreleri ve makrofajlar, 1 hafta ila birkaç ay gerektiren bir süreçte fagositoz ve yaralanma yerini temizlemek için birlikte çalışırlar. Ciddi sinir hasarından sonra hücre sağkalımı garanti edilemez. Aksonoteksis sonrası dorsal kök ganglion nöronlarında apoptozise bağlı hücre ölümü insidansı % 20 ila 50 arasında değişmektedir (41). Ghayour ve arkadaşlarının (2015) sinir hasarı üzerine yapmış oldukları bir çalışmada dorsal root gangliyonların da ciddi derecede apoptozis olduğu belirtilmiştir (164). Apoptozis DNA'nın parçalanması, hücre membran değişiklikleri, komşu hücrelere hasar vermeden meydana gelen programlanmış bir hücre ölümüdür (165). Apoptotik yollar genel olarak intrinsik (mitokondri aracılı) ve ekstrinsik (reseptör aracılı) olarak ifade edilir (166, 167). Pro-apoptotik proteinler (Bax, Bak, Bad) apoptozise gidişi hızlandırırken anti apoptotik proteinler apoptozu yavaşlatmaya çalışır (168). Kaspazlar ise apoptozun hem intrinsik hem de ekstrinsik yollarında görev alırlar. Bunlardan her iki yolağında ortak proteini olan ve Cellat kaspaz olarak bilinen Caspase-3 ise, kromatinlerin yoğunlaşması, DNA'nın parçalanması ve membran proteinlerinin yıkılması gibi morfolojik değişikliklerin meydana gelmesinden sorumludur (169). DNA'nın kırık uçlarına bağlanarak hasarı gösteren TUNEL yöntemi ise apoptozisi göstermede ileri yöntemlerden biridir. Quercetin apoptozu indükler, tümör gelişimini engeller, fosfolipaz A2 ve protein kinazları inhibe eder, membran akışkanlığını artırır, farelerde eritrosit membranlarını oksidatif hasara karşı korur (170). Farklı kanser hücre hatlarında apoptozu aktive ettiği, küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde hücre

proliferasyonunu güçlü bir şekilde inhibe ettiği ve servikal kanserlerde NF-kB ekspresyonunun azaltılmasıyla apoptotik hücre popülasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (101, 102). Quercetin uygulanan fare nöroblastoma hücrelerinde konsantrasyona bağlı olarak Bax protein ekspresyonu, kaspaz-3 ve kaspaz-9 aktivasyonu ile hücre döngüsünü düzenleyici bir protein olan p53 mRNA seviyeleri anlamlı derecede artmıştır (104). Bizim çalışmamızda siyatik sinir hasarı sonrasında; TUNEL yöntemi ile değerlendirilen Schwann hücrelerindeki AI, T-7 ve T-28 grupları AI açısından S-7 ve S-28 gruplarına göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede arttı. Bununla birlikte gastrocnemius kasına ait istatistiksel verilerde anlamlı bir farklılık gözlenmedi. AI açısından T-7 grubu ile T+Q-7 grubu istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında; T+Q-7 grubunda anlamlı derecede azalma olması dikkat çekiciydi. Aynı zamanda T-28 grubu ile T+Q-28 grubu istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında AI; T+Q-28 grubunda T-28 grubuna göre anlamlı derecede azaldı. Bununla birlikte gastrocnemius kasına ait istatistiksel verilerde anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Bu bulgulara göre, sinir hasarı sonrası quercetin antiapoptotik etkisinin olduğu ve sinir rejenerasyonuna olumlu etkilerinin olabileceği düşüncesi ile farklı doz ve sürelerde çalışmalar yapılarak bu görüşün desteklenmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Sonuç olarak, elde ettiğimiz bulgular quercetin sinir yaralanması sonrası ortaya çıkan Wallerian dejenerasyon sürecini kısalttığını, miyelinizasyonu hızlandırdığını, Schwann hücrelerinde apoptozisi azalttığını ve kısmi derecede oksidatif stresi azaltabileceğini göstermiştir. Bu bulguların farklı sinir hasarı modelleri ve quercetin dozları ile yapılacak olan çalışmalar ile desteklenmesi gerektiği düşüncesindeyiz.

8. SONUÇ ve ÖNERİLER

Deneyssel sinir ezilme yaralanması sonrası quercetinin nöroprotektif ve antioksidan etkilerinin olup olmadığını histomorfometrik ve biyokimyasal parametreler ile değerlendirmeyi amaçladığımız bu çalışmada;

1. Elde edilen bulgular ışığında sinir hasarı sonrası quercetinin antiapoptotik etkisinin olduğu ve sinir rejenerasyonuna olumlu etkilerinin olabileceği düşüncesi ile farklı doz ve sürelerde çalışmalar yapılarak bu görüşün desteklenmesi gerektiği;
2. Işık mikroskopik olarak yapılan histomorfolojik ve morfometrik ölçümler ile quercetinin Wallerian dejenerasyon sürecini kısalttığı ve rejeneratif bir etki olarakta miyelinizasyonu hızlandırdığını, Schwann hücrelerinde apoptozisi azalttığı, kısmi derecede oksidatif stresi azaltabileceği;
3. Fakat rejenerasyon süreleri ile ilgili kesin yorum yapabilmek ve bu olumlu etkilerin sonuçlarını klinik çalışmalara uygulayabilmek için histolojik ve biyokimyasal incelemelerle birlikte fonksiyonel, elektrofizyolojik ve dalgacık analizi ile etki mekanizmasını açıklayacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

9. KAYNAKLAR

1. Wang W, Li D, Li Q, Wang L, Bai G, Yang T, Li Q, Zhu Z, Sun H (2015). Erythropoietin promotes peripheral nerve regeneration in rats by upregulating expression of insulin-like growth factor-1. *Arch Med Sci* 11: 433-437.
2. Yüce S, Cemal GE, Işıkdemir A, Koç ER, Cemil DB, Gökçe A, Sargon MF (2015). An experimental comparison of the effects of propolis, curcumin, and methylprednisolone on crush injuries of the sciatic nerve. *Ann Plast Surg* 74: 684-692.
3. Yildirim AE, Dalgic A, Divanlioglu D, Akdag R, Cetinalp NE, Alagoz F, Helvacioğlu F, Take G, Guvenc Y, Koksall I, Belen AD (2015). Biochemical and histopathological effects of catechin on experimental peripheral nerve injuries. *Türk Neurosurg* 25: 453-460.
4. Luís AL, Amado S, Geuna S, Rodrigues JM, Simões MJ, Santos JD, Fregnan F, Raimondo S, Veloso AP, Ferreira AJ, Armada-da-Silva PA, Varejão AS, Maurício AC (2007). Long-term functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. *J Neurosci Methods* 163: 92-104.
5. Roglio I, Bianchi R, Gotti S, Scurati S, Giatti S, Pesaresi M, Caruso D, Panzica GC, Melcangi RC (2008). Neuroprotective effects of dihydroprogesterone and progesterone in an experimental model of nerve crush injury. *Neuroscience* 155: 673-685.
6. Ozturk O, Tezcan AH, Adali Y, Yıldırım CH, Aksoy O, Yagmurdu H, Bilge A (2016). Effect of ozone and methylprednisolone treatment following crush type sciatic nerve injury. *Acta Cir Bras* 31: 730-735.
7. Waseem M, Parvez S (2015). Neuroprotective activities of curcumin and Quercetin with potential relevance to mitochondrial dysfunction induced by oxaliplatin. *Protoplasma* doi: 10.1007/s00709-015-0821-6
8. Kumar B, Gupta SK, Nag TC, Srivastava S, Saxena R, Jha KA, Srinivasan BP (2014). Retinal neuroprotective effects of quercetin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Exp Eye Res* 125: 193-202.

9. Arian S, Ersan I, Karaca T, Kara S, Gencer B, Karaboga I, Hasan Ali T (2015). Quercetin protects the retina by reducing apoptosis due to ischemia-reperfusion injury in a rat model. *Arq Bras Of talmol* 78: 100-104.
10. Yao RQ, Qi DS, Yu HL, Liu J, Yang LH, Wu XX (2012). Quercetin attenuates cell apoptosis in focal cerebral ischemia rat brain via activation of BDNF-TrkB-PI3K/Akt signaling pathway. *Neurochem Res* 37: 2777-2786.
11. Sharma DR, Wani WY, Sunkaria A, Kandimalla RJ, Verma D, Cameotra SS, Gill KD (2013). Quercetin protects against chronic aluminum-induced oxidative stress and ensuing biochemical, cholinergic, and neuro behavioral impairments in rats. *Neurotox Res* 23: 336-357.
12. Kadioğlu HH (2004). Injection-Induced Sciatic Nerve Injury: Is it a Complication? *AÜTD* 36: 65-70.
13. Terzis JK, Sun DD, Thanos PK (1997). Historical and basic science review: Past, Present, and Future of Nerve Repair. *J Reconstr Microsurg* 13: 215-225.
14. Arıncı K, Elhan A (2001). *Anatomi. 3. Baskı, 2. Cilt. Güneş Kitabevi, Ankara.*
15. Moore KL, Dalley AF (2007). *Kliniğe Yönelik Anatomi. 4. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.*
16. Snell RS (2004). *Klinik Anatomi. 6. Baskı, Tavaslı Matbaacılık, İstanbul.*
17. Çınar Ö (2008). *Ratlarda Oluşturulan Siyatik Sinir Travma Modelinde Ketorolak Trometamin'in Etkileri. Uzmanlık tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İzmir.*
18. Sadler TW (1995). *Central Nervous System. Sadler TW ed. Langman's Medical Embriology. 7'th Ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 351-395.*
19. Kaufmann W (2000). *Developmental Neurotoxicity. In: Krinke GJ. (Eds). The laboratory rat. Academic Press San Diego, San Francisco, New York; 227-250.*
20. Kayalı H, Satrioğlu G, Tasyürekli P (1992). *Sinir Sistemi Gelişimi. Kayalı H, ed. İnsan embriyolojisi 7. Baskı, Alfa Basım Yayım Dağıtım, İstanbul; 228- 246.*
21. Song A, Tracey DJ, Ashwell KW (1999). *Development of the rat phrenic nerve and the terminal distribution of phrenic afferents in the cervical cord. Anat Embryol* 200:625-643.
22. Waxman SG (2002). *Sinir Dokusu: Korrelatif Nöroanatomi. 24. Baskıdan çeviri. Yıldırım M (Ed) Nobel Tıp Kitapevleri Ltd Sti, İstanbul; 8-19.*

23. Dahlin LB (2004). The biology of nerve injury and repair. *J Am Soc Surg Hand* 4: 143- 155.
24. Thomas MB (1999). Nerve Repair and Grafting. In: Green DP, Hotchkiss RN, Pederson WC, eds. *Green's Operative Hand Surgery*. Philadelphia Churchill Livingstone; 1381-1404.
25. Koçbeker A, Oğuz H (1995). Periferik sinir anatomi ve fizyolojisi. In: Oğuz H (Eds). *Tıbbi rehabilitasyon*, Tayf Ofset, İstanbul; 71-72.
26. Garbay B, Heape AM, Sargueil F (2000). Myelin synthesis in peripheral nervous system. *Prog Neurobiol* 61: 267-304.
27. Kline DG, Hudson AR (1995). Vertebral artery compression. *J Neurosurg* 83:759.
28. Hunt CG (2002). Peripheral Nerve Biomechanics: Application to neuromobilization approaches. *Phys Ther* 7: 111-121.
29. Lundborg G, Dahlin LB (1991). Structure and function of peripheral nerve. In: Richard H. Gelbermann, ed. *Operative Nerve Repair and Reconstruction*. 6 th ed. JB Lippincott Company, Philadelphia; 1: 3-14.
30. Avcı G, Akan M, Yıldırım S (2002). Sinir onarımı ve greftleme. *T Klin J Med Sci* 22: 428- 437.
31. Brushart MT (1999). Peripheral nerve biology. In: Light TR. *Hand surgery up date 2*. 1 th ed. Rosemont: The American Society for Surgery of the Hand; 171-200.
32. Rydevik B, Holm S, Brown MD (1990). Diffusion from the cerebrospinal fluid as a nutritional pathway for spinal nerve roots. *Acta Scan Physiol* 138: 247-248.
33. Gerhart DZ (1990). Glucose transports at the blood nerve barrier associated with perineural cells and endoneural micro vessels. *Brain Res* 508: 46-50.
34. Hunter DA, Moradzadeh A, Whitlock EL, Brenner MJ, Myckatyn TM, Wei CH, Tung TH, Mackinnon SE (2007). Binary imaging analysis for comprehensive quantitative histomorphometry of peripheral nerve. *J Neurosci Methods* 166:116-124.
35. Mills SE (2007). *Histology for pathologists*, 3rd edition. Lippincott Williams & Wilkins; 244-246.
36. Keskin İ. Nonsteroidal Antiinflatuar İlaç Prenatal Maruz Kalmanın Periferik Sinir Gelişimi Üzerindeki Olumsuz Etkilerine Karşı Melatoninin Nöroprotektif

Etkinliğinin Morfolojik Olarak Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

37. Schmalbruch H (1986). Fiber composition of the rat sciatic nerve. *Anat Rec* 215: 71-81.
38. Lundborg G, Dahlin L (1992). The pathophysiology of nerve compression. *Review. Hand Clin* 8: 215-227.
39. Lundborg G, Dahlin L (1996). Anatomy, function, and pathophysiology of peripheral nerves and nerve compression. *Review. Hand Clin* 12: 185-193.
40. Robinson LR (2000). Traumatic injury to peripheral nerves. *Muscle & Nerve* 23: 863-873.
41. Burnett MG, Zager EL (2004). Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus* 16: 1-7.
42. Seddon HJ (1943). Three types of nerve injury. *Brain* 66: 237-288.
43. Thomas PK, Berthold CH, Ochoa J (1993). Microscopic anatomy of the peripheral nervous system. *Peripheral Neuropathy*. 3rd edition. editor: Dyck P. WB Saunders, Philadelphia; 28-80.
44. Mackinnon SE (1989). New directions in peripheral nerve surgery. *Ann Plast Surg* 22: 257-258.
45. Sarı H (2007). Periferik sinir yaralanmaları. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 3:8-18.
46. Kazuho H, Masaru K (2002). Myelin phagocytosis by macrophages and nonmacrophages during wallerian degeneration. *Microscopy Research and Technique* 57: 541-547.
47. Mirajullah M, Xinya S (2002). Schwann cells: Leader of nervenkitt. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 14: 30-33.
48. Lieberman AR (1971). The Axon reaction: a review of the principal features of perikaryal responses to axon injury. *International Review of Neurobiology* 14:49-124.
49. Zochodne DW (2000). The microenvironment of injured and regenerating peripheral nerves. *Muscle Nerve Supplement* 9: 33-38.

50. Fernandez E, Pallini R, Lauretti L, Scogna A (1997). Neurosurgery of the peripheral nervous system: injuries, degeneration and regeneration of the peripheral nerves. *Surg Neurol* 48: 446-447.
51. Stoll G, Jander S, Myers RR (2002). Degeneration and regeneration of the peripheral nervous system: From Augustus Waller's observations to neuro inflammation. *J Peripheral Nervous System* 27: 13-27.
52. Varlı K (2005). Periferik sinir yaralanmalarında elektronöromiyografi. *Türk Nöroşirürji Dergisi* 15: 202-205.
53. Dam-Hieu P, Lacroix C, Said G (2005). Reduction of postoperative perineural adhesions by hyaloglidle gel: An experimental study in the rat sciatic nerve. *Neurosurg* 56: 425-433.
54. Fukagawa NK (1999). Aging: Is Oxidative Stress a Marker or Is It Causal? DOI:10.1046/j.1525-1373.
55. Fearon IM, Faux SP (2009). Oxidative stress and cardiovascular disease: novel tools give (free) radical insight. *J Mol Cell Cardiol* 47: 372-381.
56. Maher P, Schubert D (2000). Signaling by reactive oxygen species in the nervous system. *Cell Mol Life Sci* 57: 1287-1305.
57. Gutteridge Jmc, Halliwell B(1991). *Free Radicals in Biology and Medicine*. 2nd Ed, Clarendon Press, Oxford; 1-276.
58. Sies H (1993). Strategies of antioxidant defense. Review, *Eur. J Biochem* 215; 213-219.
59. Akkuş İ (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları*, Konya; 3-93.
60. Wei YH, Lee HC (2002). Oxidative stress, mitochondrial. DNA mutation, and impairment of antioxidant enzymes in aging. *Exp Biol Med* 227: 671-682.
61. Skrzydlewska E, Sulkowski S, Koda M, Zalewski B, Kanczuga-Koda L, Sulkowska M (2005). Lipid peroxidation and antioxidant status in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 11: 403-406.
62. Jackson P, Loughrey CM, Lightbody JH, McNamee PT, Young IS (1995). Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. *Clin Chem* 41: 1135-1138.

63. Sharma RK, Pasqualotto FF, Nelson DR, Thomas AJ Jr, Agarwal A (1999). The reactive oxygen species - total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility. *Hum Reprod* 14: 2801-2807.
64. Altuntaş A (2008). Sıçanlarda Deneysel Amfoterisin B Nefrotoksisitesinde Oksidatif Stresin Rolünün Ve Olası Oksidatif Stres Üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester'in Etkisinin Araştırılması. Uzmanlık tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta.
65. Erenel, G, Erbaş D, Arıcıoğlu A (1992). Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler. *Gazi Tıp Dergisi* 3: 243-250.
66. Altan N, Dinçel AS, Koca C (2006). Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. Review, *Türk Biyokimya Dergisi*, 31: 51-56.
67. Memişoğulları R (2005). Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 3: 30-39
68. Machlin LJ, Bendich A (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *The FASEB Journal* 1: 441-445.
69. Kayış T (2010). Diazinon'un Subletal Konsantrasyonlarının Pimpla Turionellae L.'nin Eşey Oranı ve Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Adana.
70. Türedi S (2012). Sıçanlarda Doksorubisin ile Oluşturulmuş Deneysel Testis Hasarı Üzerine Resveratrolün Etkileri. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Trabzon.
71. Karadag R, Böhmer H (2001). Dyes in History and Archaeology 16: 106.
72. Moskaug JO, Carlsen H, Myhrstad M (2004). Blomhoff R. Molecular imaging of the biological effects of Quercetin and quercetin-rich foods. *Mech Ageing Dev* 125: 315-324.
73. The Merck Index (2001). Thirteenth Edition, Merck & Co Inc., White House Station, New Jersey; 737: 123.
74. Elliott AJ, Scheiber SA, Thomas C, Pardini R (1992). Inhibition of glutathione reductase by flavonoids. A structure-activity study. *Biochem Pharmacol* 44: 1603-1608.

75. Kelly GS (2011). Quercetin. Monograph. *Altern Med Rev* 16: 172-94.
76. Harnly JM, Doherty RF, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Bhagwat S, Gebhardt S (2006). Flavonoid content of U.S. fruits, vegetables, and nuts. *J Agric Food Chem* 54: 9966-9977.
77. Graefe EU, Derendorf H, Veit M (1999). Pharmacokinetics and bioavailability of the flavonol quercetin in humans. *Int J Clin Pharmacol Ther* 5: 219-233.
78. Bokkenheuser VD, Shackleton CH, Winter J (1987). Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal *Bacteroides* from humans. *Biochem J* 3: 953-956.
79. Young JF, Nielsen SE, Haraldsdóttir J, Daneshvar B, Lauridsen ST, Knuthsen P, Crozier A, Sandström B, Dragsted LO (1999). Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. *Am J Clin Nutr* 69: 87-94.
80. Harwood M, Danielewska-Nikiel B, Borzelleca JF, Flamm GW, Williams GM, Lines TC (2007). A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. *Food and Chem. Toxicol* 45: 2179-2205.
81. Ristow M, Zarse K, Oberbach A, Klötting N, Birringer M, Kiehnopf M, Stumvoll M, Kahn CR, Blüher M (2009). Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 8665-8670.
82. Jin F, Nieman DC, Shanely RA, Knab AM, Austin MD, Sha W (2010). The variable plasma quercetin response to 12-week quercetin supplementation in humans. *Eur J Clin Nutr* 64: 692-697.
83. Pawlikowska-Pawlega B, Gruszecki WI, Misiak LE, Gawron A (2003). The study of the quercetin action on human erythrocyte membranes. *Biochem Pharmacol* 66: 605-612.
84. İkizler M, Erkasap N, Dernek S, Kural T, Kaygisiz Z (2007). Dietary polyphenol quercetin protects rat hearts during reperfusion: enhanced antioxidant capacity with chronic treatment. *Anadolu Kardiyol Dergisi* 7: 404-410.
85. Robaszkiewicz A, Balcerzyk A, Bartosz G (2007). Antioxidative and prooxidative effects of quercetin on A549 cells. *Cell Biol Int* 31: 1245-1250.

86. Chaudhary A, Pechan T, Willett KL (2007). Differential protein expression of peroxiredoxin I and II by benzo(a)pyrene and quercetin treatment in 22Rv1 and PrEC prostate cell lines. *Toxicol Appl Pharmacol* 220: 197-210.
87. Liu S, Hou W, Yao P, Zhang B, Sun S, Nüssler AK, Liu L (2010). Quercetin protects against ethanol-induced oxidative damage in rat primary hepatocytes. *Toxicol In Vitro* 24: 516-522.
88. Choi EJ, Lee BH, Lee K, Chee K (2005). Long-term combined administration of quercetin and daidzein inhibits quercetin-induced suppression of glutathione antioxidant defenses. *Food Chem Toxicol* 43: 793-798.
89. Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res* 51: 117-123.
90. Comalada M, Camuesco D, Sierra S, Ballester I, Xaus J, Gálvez J, Zarzuelo A (2005). In vivo quercitrin anti-inflammatory effect involves release of quercetin, which inhibits inflammation through down-regulation of the NF-kappaB pathway. *Eur J Immunol* 35: 584-592.
91. Davis JM, Murphy EA, Carmichael MD, Davis B (2009). Quercetin increases brain and muscle mitochondrial biogenesis and exercise tolerance. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 296: 1071-1077.
92. Nieman DC, Henson DA, Davis JM, Dumke CL, Gross SJ, Jenkins DP, Murphy EA, Carmichael MD, Quindry JC, McAnulty SR, McAnulty LS, Utter AC, Mayer EP (2007). Quercetin ingestion does not alter cytokine changes in athletes competing in the Western States Endurance Run. *J Interferon Cytokine Res* 27: 1003-1011.
93. Shanely RA, Knab AM, Nieman DC, JIN F, McAnulty SR, Landram MJ (2010). Quercetin supplementation does not alter antioxidant status in humans. *Free Radic Res* 44: 224-231.
94. Robert JN, Els N, Danny ECH, Petra GB, Klaske N, Leeuwen AMP (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 74: 418-443.
95. Friesenecker B, Tsai AG, Allegra C, Intaglietta M (1994). Oral administration of purified micronized flavonoid fraction suppresses leukocyte adhesion in ischemia-

- reperfusion injury: in vivo observations in the hamster skin fold. *Int J Microcirc Clin Exp* 14: 50-55.
96. Kaneuchi M¹, Sasaki M, Tanaka Y, Sakuragi N, Fujimoto S, Dahiya R (2003). Quercetin regulates growth of Ishikawa cells through the suppression of EGF and cyclin D1. *Int J Oncol* 22: 159-164.
 97. Aggarwal BB (2000). Tumour necrosis factors receptor associated signalling molecules and their role in activation of apoptosis, JNK and NF-kappaB. *Ann Rheum Dis* 1: i6-16.
 98. Rigano D, Formisano C, Basile A, Lavitola A, Senatore F, Rosselli S, Bruno M (2007). Antibacterial activity of flavonoids and phenylpropanoids from *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum*. *Phytother Res* 21: 395-397.
 99. Costantino L, Rastelli G, Gamberini MC, Vinson JA, Bose P, Iannone A, Staffieri M, Antolini L, Del Corso A, Mura U, Albasini A (1999). 1-Benzopyran-4-one antioxidants as aldose reductase inhibitors. *J Med Chem* 42: 1881-1893.
 100. Singh A, Naidu PS, Kulkarni SK (2003). Reversal of aging and chronic ethanol-induced cognitive dysfunction by quercetin a bioflavonoid. *Free Radic Res* 37: 1245-1252.
 101. Youn H, Jeong JC, Jeong YS, Kim EJ, Um SJ (2013). Quercetin potentiates apoptosis by inhibiting nuclear factor-kappaB signaling in H460 lung cancer cells. *Biol Pharm Bull* 36: 944-951.
 102. Vidya PR, Senthil MR, Maitreyi S, Ramalingam K, Karunakaran D, Nagini S (2010). The flavonoid quercetin induces cell cycle arrest and mitochondria-mediated apoptosis in human cervical cancer (HeLa) cells through p53 induction and NF-kB inhibition. *Eur J Pharmacol* 649: 84-91.
 103. Bishayee K, Ghosh S, Mukherjee A, Sadhukhan R, Mondal J, Khuda-Bukhsh AR (2013). Quercetin induces cytochrome-c release and ROS accumulation to promote apoptosis and arrest the cell cycle in G2/M, in cervical carcinoma: signal cascade and drug-DNA interaction. *Cell Prolif* 46: 153-163.
 104. Sugantha PE, Selvakumar K, Bavithra S, Elumalai P, Arunkumar R, Raja SP, Brindha MA, Arunakaran J (2014). Anti-cancer activity of quercetin in neuroblastoma: an in vitro approach. *Neurol Sci* 35: 163-170.

105. Chien SY, Wu YC, Chung JG, Yang JS, Lu HF, Tsou MF, Wood WG, Kuo SJ, Chen DR (2009). Quercetin-induced apoptosis acts through mitochondrial and caspase-3 dependent pathways in human breast cancer MDA-MB-231 cells. *Hum Exp Toxicol* 28: 493-503.
106. Mak T (2003). The E. Donnall Thomas Lecture-apoptosis: this death that makes life live. *Biol. Blood Marrow Transplant* 9: 483-488.
107. Öztürk F (2002). Apoptozis. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 9: 143-148.
108. Squier M K, Miller A C, Malkinson A M, Cohen J J (1994). Calpain activation in apoptosis. *J Cell Physiol* 159: 229-237.
109. Cummings MC, Winterfold CM, Walker NI (1997). Apoptosis. *Am J SurgPathol* 21: 88-101.
110. Bortner CD, Oldenburg NB, Cidlowski JA (1995). The role of DNA fragmentation in apoptosis. *Trends Cell Biol* 5: 21-26.
111. Güleş Ö, Eren Ü (2008). Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. *Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi* 2: 73-78.
112. Barut T (2008). Farklı Deneysel Testis İskemilerinin Apoptozis İle Histolojik İlişkisi. Yüksek lisans tezi. Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilimdalı, Manisa.
113. Tasdemir E, Galluzzi L, Maiuri MC, Criollo A, Vitale I, Hangen E, Modjtahedi N, Kroemer G (2008). Methods for assessing autophagy and autophagic cell death. *Methods Mol Biol* 445: 29- 76.
114. Ferreira PE, Lopes CR, Alves AM, Alves ÉP, Linden DR, Zanoni JN, Buttow NC (2013). Diabetic neuropathy: an evaluation of the use of quercetin in the cecum of rats. *World J Gastroenterol* 19: 6416-6126.
115. Di Scipio F, Raimondo S, Tos P, Geuna S (2008). A simple protocol for paraffin-embedded myelin sheath staining with osmium tetroxide for light microscope observation. *Microsc Res Tech* 71: 497-502.
116. Bancroft JD, Gamble M (2002). *Theory and Practice of Histological Techniques*. Fifth Edition. Churchill Livingstone, Elsevier.
117. Sun Y, Oberley LW, Li Y (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 34: 497-500.

118. Goth L (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta* 196: 143-151.
119. Elman, G.L. (1959). Tissue sulphydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 82: 70–77.
120. Mihara M, Uchiyama M (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 86: 271-278.
121. Yagi K (1994). Lipid peroxides a related radicals in clinical medicine free radicals in diagnostic medicine. Plenum Press, New York;1-15.
122. Karşıdağ S, Özcan A, Şahin Ş, Karşıdağ S, Kabukçuoğlu F, Uğurlu K, Baş L (2008). Electrophysiologic and Histopathologic Evaluation of Peripheral Nerve Regeneration at Different nerve segments and with different repair techniques. *Acta Orthop Traumatol Turc* 42: 278-283.
123. Varejão AS, Meek MF, Ferreira AJ, Patrício JA, Cabrita AM (2001). Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis. *J Neurosci Methods* 108: 1-9.
124. Shokouhi G, Tubbs RS, Shoja MM, Hadidchi S, Ghorbanihaghjo A, Roshangar L, Farahani RM, Mesgari M, Oakes WJ (2007). Neuroprotective effects of high-dose vs low-dose melatonin after blunt sciatic nerve injury. *Childs Nerv Syst* [Epub ahead of print]
125. Schmelzer JD, Zochodne DW, Low PA (1989) Ischemic and reperfusion injury of rat peripheral nerve. *Proc Natl Acad Sci USA*; 86: 1639-1642.
126. Tos P, Ronchi G, Papalia I, Sallen V, Legagneux J, Geuna S, Giacobini-Robecchi M (2009). Methods and protocols in peripheral nerve regeneration experimental research: Part I- Experimental models. *Int J Neurosci* 87: 47-79.
127. Vogelaar CF, Vrinten DH, Hoekman MF, Brakkee JH, Burbach JP, Hamers FP (2004). Sciatic nerve regeneration in mice and rats: recovery of sensory innervation is followed by a slowly retreating neuropathic pain-like syndrome. *Brain Res* 1027: 67-72.
128. Glenn TD, Talbot WS (2013). Signals regulating myelination in peripheral nerves and the Schwann cell response to injury. *Curr Opin Neurobiol* 23: 1041-1048.
129. Li R, Wu J, Lin Z, Nangle MR, Li Y, Cai P, Liu D, Ye L, Xiao Z, He C, Ye J, Zhang H, Zhao Y, Wang J, Li X, He Y, Ye Q, Xiao J (2017). Single injection of

- a novel nerve growth factor coacervate improves structural and functional regeneration after sciatic nerve injury in adult rats. *Exp Neurol* 288: 1-10.
130. Wang Y, Shan Q, Meng Y, Pan J, Yi S (2017). Mrp 110 and Tbp Are Suitable Reference Genes for Peripheral Nerve Crush Injury. *Int J Mol Sci* 18: E263.
 131. Galtrey CM, Fawcett JW (2007). The role of chondroitin sulfate proteoglycans in regeneration and plasticity in the central nervous system. *Brain Res Rev* 54: 1-18.
 132. Yin ZS, ZhangH, BoW, GaoW (2010). Erythropoietin promotes functional recovery and enhances nerve regeneration after peripheral nerve injury in rats, *AJNR Am J Neuroradiol* 31: 509-515.
 133. Gigo-Benato D, Russo TL, Tanaka EH, Assis L, Salvini TF, Parizotto NA (2010). Effects of 660 and 780 nm low-level laser therapy on neuromuscular recovery after crush injury in rat sciatic nerve. *Lasers Surg Med* 42: 673-682.
 134. Gjurasin M, Miklic P, Zupancic B, Perovic D, Zarkovic K, Brcic L (2010). Peptide therapy with pentadecapeptide BPC 157 in traumatic nerve injury. *Regul Pept* 160: 33-41.
 135. Noorafshan A, Omid A, Karbalay-Doust S (2011). Curcumin protects the dorsal root ganglion and sciatic nerve after crush in rat. *Pathol Res Pract* 207: 577-582.
 136. Jiang X, Ma J, Wei Q, Feng X, Qiao L, Liu L, Zhang B, Yu W (2016). Effect of Frankincense Extract on Nerve Recovery in the Rat Sciatic Nerve Damage Model. *Evid Based Complement Alternat Med* doi: 10.1155/2016/3617216
 137. Toledo-Pereyra LH, Lopez-Neblina F, Toledo AH (2004). Reactive oxygen species and molecular biology of ischemia/reperfusion. *Ann Transplant* 9: 81-83.
 138. Klenerman L, Biswas M, Hulands GH, Rhodes AM (1980). Systemic and local effects of the application of a tourniquet. *J Bone Joint Surg [Br]* 62: 385-388.
 139. Howard CS, Blakeney D, Medige J, Moy OJ (2000). Functional assessment in the rat by ground reaction forces. *J Biomech* 33: 751-757.
 140. Morani AS, Bodhankar SL (2008). Neuroprotective effect of vitamin E acetate in models of mononeuropathy in rats. *Neuroanatomy* 7: 33-37.
 141. Smith D, Tweed C, Fernyhough P, Glazner GW (2009). Nuclear factor-kappa B activation in axons and Schwann cells in experimental sciatic nerve injury and its

- role in modulating axon regeneration: studies with etanercept. *J Neuropathol Exp Neurol* 68: 691-700.
142. Maeda T, Kiguchi N, Kobayashi Y, Ozaki M, Kishioka S (2008). Pioglitazone attenuates tactile allodynia and thermal hyperalgesia in mice subjected to peripheral nerve injury. *J Pharmacol Sci* 108: 341-347.
 143. Goraca A, Ciejka E, Piechota A (2010). Effects of extremely low frequency magnetic field on the parameters of oxidative stress in heart. *J Physiol Pharmacol* 61: 333-338.
 144. Ragy MM (2015). Effect of exposure and withdrawal of 900-MHz electromagnetic waves on brain, kidney and liver oxidative stress and some biochemical parameters in male rats. *Electromagn Biol Med*. 34: 279-284.
 145. Yurekli AI, Ozkan M, Kalkan T, Saybasili H, Tuncel H, Atukeren P, Gumustas K, Seker S (2006). GSM base station electromagnetic radiation and oxidative stress in rats. *Electromagn Biol Med* 5: 177-188.
 146. Tkalec M, Stambuk A, Srut M, Malarić K, Klobučar GI (2013). Oxidative and genotoxic effects of 900 MHz electromagnetic fields in the earth worm *Eisenia fetida*. *Ecotoxicol Environ Saf* 90: 7-12.
 147. Meral I, Mert H, Mert N, Deger Y, Yoruk I, Yetkin A, Keskin S (2007). Effects of 900-MHz electromagnetic field emitted from cellular phone on brain oxidative stress and some vitamin levels of guinea pigs. *Brain Res* 1169: 120-124.
 148. Celino FT, Yamaguchi S, Miura C, Ohta T, Tozawa Y, Iwai T, Miura T (2011). Tolerance of spermatogonia to oxidative stress is due to high levels of Zn and Cu/Zn superoxide dismutase. *PLoS One* doi: 10.1371/journal.pone.0016938.
 149. Hall ED, Braughler M (1982). Effects of intravenous methyl prednisolone on spinal cord lipid peroxidation and Na-K ATPase activity. *J Neurosurg* 57: 247-253.
 150. Lanza C, Raimondo S, Vergani L, Catena N, Sénès F, Tos P, Geuna S (2012). Expression of antioxidant molecules after peripheral nerve injury and regeneration. *J Neurosci Res* 90: 842-848.
 151. Ozturk O, Tezcan AH, Adali Y, Yıldırım CH, Aksoy O, Yagmurdu H, Bilge A (2016). Effect of ozone and methylprednisolone treatment following crush type sciatic nerve injury. *Acta Cir Bras* 31: 730-735.

152. Gutteridge JMC (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 41: 1819-1828.
153. Galloway EB 3rd, Jensen RL, Dailey AT, Thompson BG, Shelton C (2000). Role of topical steroids in reducing dysfunction after nerve injury. *Laryngoscope* 110: 1907Y1910.
154. Lee M, Doolabh VB, Mackinnon SE, Jost S (2000). FK506 promotes functional recovery in crushed rat sciatic nerve. *Muscle Nerve* 23: 633Y640.
155. Voinesco F, Glauser L, Kraftsik R, Barakat-Walter I (1998). Local administration of thyroid hormones in silicone chamber increases regeneration of rat transected sciatic nerve. *Exp Neurol* 150: 69Y81.
156. Halliwell B, Gutteridge JM (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* 186: 1-85.
157. da Silva EL, Piskula MK, Yamamoto N, Moon J, Terao J (1998). Quercetin metabolites inhibit copper-ion-induced lipid peroxidation in rat plasma. *FEBS Letters* 430: 405-408.
158. Elik M, Serdaroğlu G, Özkan R (2007). Mirisetin ve quercetin bileşiklerinin antioksidan etkinliklerinin DFT yöntemiyle incelenmesi. *CÜ Fen Bil Dergisi* 28: 53-65.
159. Hu QH, Wang C, Li JM, Zhang DM, Kong LD (2009). Allopurinol, rutin, and Quercetin attenuate hyperuricemia and renal dysfunction in rats induced by fructose intake: renal organicion transporter involvement. *AM J Physiol Renal Physiol* 297: doi: 10.1152/ajprenal.90767.2008.
160. Raju TA, Lakshmi AN, Anand T, Rao LV, Sharma G (2000). Protective effects of Quercetin during influenza virus-induced oxidative stress. *Asia Pacific J Clin Nutr* 9: 314-317.
161. Waseem M, Parvez S (2016). Neuroprotective activities of curcumin and quercetin with potential relevance to mitochondrial dysfunction induced by oxalipatin. *Protoplasma* 253: 417-430.
162. Wang XQ, Yao RQ, Liu X, Huang JJ, Qi DS, Yang LH (2011). Oligodendrocyte precursor cells from oxygen/glucose deprivation injury in vitro via the activation of PI3K/Akt signaling pathway. *Brain Res Bull* 86: 277-284.

163. Yao RQ, Qi DS, Yu HL, Liu J, Yang LH, Wu XX (2012). Quercetin attenuates cell apoptosis in focal cerebral ischemia rat brain via activation of BDNF-TrkB-PI3K/Akt signaling pathway. *Neurochem Res* 37: 2777-2786.
164. Ghayour MB, Abdolmaleki A, Behnam-Rassouli M (2016). The Effect of Memantine on Functional Recovery of the Sciatic Nerve Crush Injury in Rat. *TurkNeurosurg* doi: 10.5137/1019-5149.JTN.16792-15.1.
165. Saraste A, Pulkki K (2000). Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. *Cardiovasc Res* 45: 528-537.
166. Friedlander MR (2003). Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases. *N Engl J Med* 348: 1365-1375.
167. Fulda S, Debatin KM (2006). Resveratrol modulation of signal transduction in apoptosis and cell survival: a mini-review. *Cancer Detect Prev* 30: 217-223.
168. Tao W, Kurschner C, Morgan JI (1997). Modulation of cell death in yeast by the Bcl-2 family of proteins. *J Biol Chem* 272: 15547-15552.
169. D'Amelio M, Cavallucci V, Cecconi F (2010). Neuronal caspase-3 signaling: not only cell death. *Cell Death Differ* 17: 1104-1114.
170. Pawlikowska-Pawlega B, Gruszecki WI, Misiak LE, Gawron A (2003). The study of the Quercetin action on human erythrocyte membranes. *Biochem Pharmacol* 66: 605-612.

10. ETİK KURUL ONAYI

T.C. KARADENİZ
TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL
BAŞKANLIĞI



KARADENİZ
TECHNICAL UNIVERSITY
ANIMAL CARE AND ETHICS
COMMITTEE

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL ONAY BELGESİ

Çalışmasının Adı : “Sıçanlarda Deneysel Siyatik Sinir Hasarı Üzerine Quarcetin’in Etkilerinin Morfolojik, Fonksiyonel ve Biyokimyasal Olarak Değerlendirilmesi”
Çalışmacılar : Prof.Dr.Esin YULUĞ, Arş.Gör.Sibel TÜREDİ, Prof.Dr.Mehmet YILDIRIM, Prof.Dr.Ahmet ALVER
Anabilim Dalı : Histoloji ve Embriyoloji

Etik Kurul Dosya No 2015/ 30	Etik Kurul Toplantı Tarihi 30/06/2015	Etik Kurul Toplantı No 2015-11	Etik Kurul Karar No 4
--	---	--	-------------------------------------

Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Tıp Fakültesi Dekanlığı Toplantı Salonu’nda Prof.Dr.Etem ALHAN’ın başkanlığında toplanıp; “Sıçanlarda Deneysel Siyatik Sinir Hasarı Üzerine Quarcetin’in Etkilerinin Morfolojik, Fonksiyonel ve Biyokimyasal Olarak Değerlendirilmesi” başlığını taşıyan tez çalışmanın, Karadeniz Teknik Üniversitesi’nde yürütülmesinin mümkün olduğuna; çalışmacıların bu çalışmayı yürütülebilecek kalifikasyonda olduklarına; araştırmanın dosyada belirtilen haliyle tıbbi etik açıdan uygun olduğuna; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir. (30.06.2015)

Prof. Dr. Etem ALHAN
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı



T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
KTÜ HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI

Sayı : 53488718 - 272
Konu:

12/05/2016

Sayın; Prof.Dr.Esin YULUĞ
Histoloji ve Embriyoloji ABD.

Sorumluluğunuzda yürütülen “Sıçanlarda Deneysel Siyatik Sinir Hasarı Üzerine Quercetin’in Etkilerinin Morfolojik , Fonksiyonel ve Biyokimyasal Olarak Değerlendirilmesi” başlıklı 2015/30 no.lu daha önce onay almış olan doktora tez çalışması ile ilgili etik kurula sunmuş olduğunuz 10/05/2016 Tarihli dilekçede belirttiğiniz (...proje araştırmacılarından Prof.Dr.Mehmet YILDIRIM’ın çalışmadan ayrılması ve çalışmanın materyal-metod kısmından fizyolojik testlerle ilgili olan parametrelerin çıkarılması ve bu nedenle çalışma başlığının “Sıçanlarda Deneysel Siyatik Sinir Hasarı Üzerine Quercetin’in Etkilerinin Morfolojik ve Biyokimyasal Olarak Değerlendirilmesi” olarak değiştirilmesi....) konu hakkında etik kurul bilgilendirildi. Uygun olduğuna karar verildi.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Bilal KUTRUP
Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı

11. ÖZGEÇMİŞ

ÖZGEÇMİŞ ve KİŞİSEL BİLGİLER

T.C. Kimlik/Pasaport No

Soyadı, Adı : TÜREDİ Sibel
Uyruğu : T.C
Doğum tarihi ve yeri : Anamur-12/07/1983
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 462 3775616
Faks : -
E-Posta : sibelturedi3361@hotmail.com
Yazışma adresi : KTÜ Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora	: KTÜ Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	2012- Halen
Yüksek Lisans	: KTÜ Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	2010- 2012
Lisans	: Çanakkale On sekiz Mart Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu	2004
Lise	: Anamur Lisesi	2000

AKADEMİK/ MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
--------	-------	-----------------

-

YABANCI DİL

İngilizce

UZMANLIK ALANI

YAYINLAR/BİLDİRİLER

Yuluğ E, Türedi S. , Alver A, Türedi S, Kahraman C.	Effects of resveratrol on methotrexate-induced testicular damage in rats.	The Scientific World Journal	28:489659	2013
Yuluğ E, Türedi S. , Alver A, Kutlu Ö, Karagüzel E, Kahraman C.	Effects Of Resveratrol On Testis Damage In Streptozotocin Induced Diabetic Rats.	Journal Of Animal And Veterinary Advances	747-753	2013
Türedi S. , Hancı H, Topal Z, Unal D, Mercantepe T, Bozkurt I, et al.	The effects of prenatal exposure to a 900-MHz electromagnetic field on the 21-day-old male rat heart.	Electromagnetic Biology and Medicine	1-8	2014

Yuluğ E, <u>Türedi S.</u> , Karagüzel E, Kutlu O, Mentşe A, Alver A.	The short term effects of resveratrol on ischemia-reperfusion injury in rat testis.	Journal of Pediatric Surgery	49(3):484-9.	2014
Odacı E, Ünal D, Mercantepe T, Topal Z, Hancı H, <u>Türedi S.</u> et al.	Pathological effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on the 21-day-old male rat kidney.	Biotechnic & Histochemistry	90(2):93-101.	2015
<u>Türedi S.</u> , Yuluğ E, Alver A, Kutlu Ö, Kahraman C.	Effects of resveratrol on doxorubicin induced testicular damage in rats.	Experimental and Toxicologic Pathology	67(3):229-35.	2015
Hancı H, <u>Türedi S.</u> , Topal Z, Mercantepe T, Bozkurt I, Kaya H, et al.	Can prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field affect the morphology of the spleen and thymus, and alter biomarkers of oxidative damage in 21-day-old male rats?	Biotechnic & Histochemistry	19:1-9.	2015
Yuluğ E, <u>Türedi S.</u> , Alver A, Türedi S, Kahraman C.	Effects of resveratrol on methotrexate-induced intestinal injury in rats	Bratislava Medical Journal	Doi: 10.4149	2015
<u>Türedi S.</u> , Hancı H, Çolakoğlu S, Kaya H, Odacı E.	Disruption of the ovarian follicle reservoir of prepubertal rats following prenatal exposure to a continuous 900-MHz electromagnetic field.	International Journal of Radiation Biology	Doi: 10.3109	2016
Odacı E, Hancı H, Yuluğ E, <u>Türedi S.</u> , Aliyazıcıoğlu Y, Kaya H, Çolakoğlu S .	Effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on 60-day-old rat testis and epididymal sperm quality.	Biotechnic & Histochemistry	Doi: 10.3109	2016

ÖDÜLLER/TEŞVİKLER/BURSLAR

HOBİLER