



T.C
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SİYATİK SİNİR HASARI OLUŞTURULAN OBEZ
SIÇANLARDA ADİPOZ VE BAĞ DOKUSU KÖKENLİ KÖK
HÜCRELERİN REJENERASYONA ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif KAYHAN KUŞTEPE

**Samsun
Nisan-2017**



T.C
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SİYATİK SİNİR HASARI OLUŞTURULAN OBEZ
SIÇANLARDA ADİPOZ VE BAĞ DOKUSU KÖKENLİ KÖK
HÜCRELERİN REJENERASYONA ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif KAYHAN KUŞTEPE

Danışman

Doç. Dr. B. Zuhâl ALTUNKAYNAK

Samsun

Nisan-2017

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Elif KAYHAN KUŞTEPE tarafından Doç. Dr. B. Zuhâl ALTUNKAYNAK danışmanlığında hazırlanan ‘‘Siyatik Sinir Hasarı Oluşturulan Obez Sıçanlarda Adipoz ve Bağ Dokusu Kökenli Kök Hücrelerin Rejenerasyona Etkilerinin Araştırılması’’ başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 23 /05/ 2017 tarihinde yapılan sınav ile Histoloji-Emriyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. B. Zuhâl ALTUNKAYNAK
(Ondokuz Mayıs Üniversitesi)

Üye : Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
(Ondokuz Mayıs Üniversitesi)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Tolga MERCANTEPE
(Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi)

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

.... / /

Prof. Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca harcamış olduğu emeklerden dolayı ve bu çalışmanın yapılmasında büyük katkıları olan, her basamakta bilimsel ve teknik bilgilerinden faydalandığım, başta tez danışmanım sayın Doç. Dr. B. Zuhâl ALTUNKAYNAK'a ve Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyelerinden merhum sayın Doç. Dr. M. Eyüp ALTUNKAYNAK'a;

Tez çalışmalarım sırasında, değerli görüşlerini ve hoşgörülerini esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Süleyman KAPLAN'a, yardım ve desteklerinden dolayı Histoloji-Embriyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Mehmet Emin ÖNGER'e ve Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Ebru ANNAÇ ve Yrd. Doç. Dr. Alper YALÇIN'a;

Tıp Fakültesi Çocuk İmmünoloji Allerji Anabilim Dalı laboratuvarlarını kullanımımıza açan anabilim dalı başkanı sayın Prof. Dr. Alişan YILDIRAN'a, tez çalışmaları boyunca yardımlarını esirgemeyen ve elektron mikroskobu analizleri için İtalya Cavalieri Sinirbilimleri Enstitüsü Laboratuvarlarını kullanımımıza açan sayın Prof. Dr. Stefano GEUNA'ya, tez çalışmalarımın her aşamasından desteğini esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı personeli ile tüm değerli hocalarıma özellikle cerrahi işlemleri birlikte yaptığımız Araş. Gör. Burcu DELİBAŞ, Araş. Gör. K. Kübra YURT ve doktora öğrencilerinden E. Gizem KIVRAK ile Işın A. ALKAN'a ve elektrofizyolojik kayıtların istatistik analizlerinde emeği geçen Fizyoloji Anabilim Dalı Araş. Gör. Süleyman Emre KOCACAN'a;

Tezi bitirmem için beni yüreklendiren ve yardımlarını esirgemeyen çok sevgili hocam, Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik A.D Başkanı Yrd. Doç. Dr. Celal GÜVEN'e ve tez yazım aşamamda bana moral veren arkadaşım Öğr. Gör. Sibel ATEŞOĞLU'na ve çok sevgili arkadaşım Orhan BULGAN'a;

Yaşamım boyunca her zaman yanımda olan, beni yüreklendiren, her koşulda destekleyen ve eğitimim için her imkanı sunan biricik anneme, babama ve aileme, hayatımdaki en değerli varlık olan eşim Murat'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Proje Yönetim Ofisinin PYO. TIP.1904.12.018 nolu projesi kapsamında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

SİYATİK SİNİR HASARI OLUŞTURULAN OBEZ SIÇANLARDA ADİPOZ VE BAĞ DOKUSU KÖKENLİ KÖK HÜCRELERİN REJENERASYONA ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç: Bu çalışmada, deneysel obezite modelinde yağ dokusu ve periferik sinir kaynaklı kök hücrelerin periferik sinir rejenerasyonuna etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmamızda 8 haftalık 41 adet *Wistar albino* cinsi dişi sıçan kullanıldı (150–200gr). Obez modeli oluşturulacak denekler 8 hafta boyunca %40 yağ içeren özel bir diyet ile kontrol grupları ise 8 hafta boyunca standart ticari yem ile beslendi. 8. haftanın sonunda kontrol ve obez tüm deneklerde ezilme tipi sinir hasarı oluşturuldu. Tedavi grubu yağ dokusu homejenatı (n=5) ve periferik sinir homejenatı uygulanacak (n=5) sıçanlardan oluşturuldu. Hasar oluşturma işleminin hemen ardından siyatik sinirlere sinir ve yağ dokusu homejenatı enjekte edilerek iyileşme süreçleri gözlemlendi.

Bulgular: Miyelinli akson sayısı; KPS ile KY arasında ileri derecede anlamlı fark vardı ($p<0,01$) ve OPS ile OY grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). Miyelinsiz akson sayısı; KY ile KPS grubu arasında ileri derecede anlamlı fark gözlemlendi ($p<0,01$). Latans değerleri bakımından; KH ile KPS, KH ile KY grupları arasında ileri derecede anlamlı fark gözlemlenmiştir ($p<0,01$). Genel olarak obez gruplardaki CD45 ve CD34 yüzey markerleri açısından pozitif olan kök hücre sayılarının kontrol gruplara göre daha yüksek seviyede olduğu bulundu ($P<0,05$). Kontrol deneklerde ise CD90 açısından pozitif olan kök hücreler obez gruplara göre daha fazla sayıdaydı ($P<0,05$).

Sonuç: Mezenkimal kök hücrelerin, yaralı bölgede sinir rejenerasyonuna engel olabilecek fibrozis ve ödemi azalttığı, periferik sinir kökenli kök hücrelerin hem kontrollerde hem de obez deneklerde tedavide daha başarılı olabileceği; kontrol deneklerde uygulanan yağ homejenatının daha başarılı olabileceği; obez deneklerde uygulanan periferik sinir kökenli kök hücrelerin tedavide daha başarılı olabileceği görüldü. Bu nedenle sinir rejenerasyonunda bu tedavi yöntemlerinin dikkate alınabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Siyatik Sinir, Kök Hücre, Obezite, Sıçan, Rejenerasyon, E.M, ENMG.

Elif KAYHAN KUŞTEPE, Yüksek Lisans Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Nisan-2017

ABSTRACT

INVESTIGATION OF SCIATIC NERVE INJURY INDUCED OBESE RATS ADIPOSE AND CONNECTIVE TISSUE-DERIVED STEM CELLS TO REGENERATION EFFECT

Aim: In this study, we aimed to determine the effect of fat tissue and peripheral nerve stem cells on peripheral nerve regeneration in the experimental obesity model.

Material and Method: In our study, 41 *Wistar albino* female rats of 8 weeks of age (150-200 gr) were used. The obese model will be formed for 8 weeks with a special diet containing 40% fat and the control group will be fed with standard commercial feed for 8 weeks. At the end of the 8th week, crush type nerve damage was generated in all nonobese and obese subjects. The treatment group consisted of rats with fatty tissue homogenization (n=5) and peripheral nerve homogenization (n=5). Immediately after the injury, the nerve and fat tissues were injected into the sciatic nerve and the healing process was observed.

Results: Number of myelinated axons; There was a significant difference between KPS and KY ($p<0,01$) and the difference between OPS and OY group was statistically significant ($p<0,05$). Number of myelinated axons; There was a significant difference between the KY and KPS groups ($p<0,01$). In terms of Latans values; A further significant difference was observed between KH and KPS, KH and KY groups ($p<0,01$). Generally, stem cell numbers positive in terms of CD45 and CD34 surface markers in obese groups were higher than in control groups ($P<0,05$). In the control subjects, CD90 positive stem cells were more frequent than obese ($P<0,05$).

Conclusion: Mesenchymal stem cells may be more successful in treatment of peripheral nerve root stem cells in both controls and obese subjects, reducing fibrosis and edema that may interfere with nerve regeneration in wounded areas; The oil homeogenate applied to control subjects may be more successful; It was observed that peripheral nerve stem cells applied in obese subjects might be more successful in the treatment. For this reason, nerve regeneration is the result of which these treatment methods can be taken into consideration.

Key Words: Sciatic Nerve, Stem Cell, Obesity, Rat, Regeneration, E.M, ENMG.

Elif KAYHAN KUŞTEPE, Master Thesis

Ondokuz Mayıs University - Samsun, April-2017

SİMGELER VE KISALTMALAR

PSS	Periferik Sinir Sistemi
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
MONICA	Kardiyovasküler Hastalıklarda Trendlerin ve Belirleyicilerin İzlenmesi
BKİ	Beden Kitle İndeksi
BKO	Bel-Kalça Oranı
VYO	Vücut Yağ Oranı
MKH	Mezenkimal Kök Hücreler
EPH	Endotel Progenitör Hücreler
HKH	Hematopoietik Kök Hücreler
PTPaz	Protein Tirozin Fosfataz
Kİ	Kemik İliği
PL	Plasenta
SEM	Standard Error of Mean
i.p	İntraperitonel
E.M	Elektron Mikroskobu
ENMG	Elektronöromiyografi
FACS	Floresan Aktive Hücre Ayırma
SF	Serum Fizyolojik
YYD	Yüksek Yağlı Diyet

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2. 1. Periferik Sinir Sistemi.....	3
2. 1. 1. Periferik Sinir Yaralanmaları.....	12
2. 1. 2. Rejenerasyon Sırasında Meydana Gelen Değişiklikler.....	14
2. 1. 3. Periferik Sinirde İleti.....	17
2. 2. Obezite	18
2. 2. 1. Obezite Ölçüm Yöntemleri.....	19
2. 2. 2. Obezitenin Etiyolojisi	20
2. 3. Erişkin Mezenkimal Kaynaklı Kök Hücreler	20
2. 3. 1. MKH' lerin İşaretlenmesi ve Transplantasyonu.....	24
2. 4. Adipoz ve Bağ Doku Kökenli Kök Hücreler	24
2. 5. Stereoloji.....	27
3. MATERYAL VE METOT	31
3. 1. Grupların Oluşturulması	32
3. 2. Cerrahi İşlemler	34
3. 3. Filow Sitometrik Analizler	39
3. 4. Elektrofizyolojik Testler	40
3. 5. Histolojik Prosedür	41
3. 5. 1. Elektron Mikroskopik Takip İşlemi.....	42
3. 5. 2. Stereolojik Analizler	45
3. 6. İstatistiksel Analiz.....	48
4. BULGULAR.....	48

4. 1. Oluşturulan Obezitenin Değerlendirilmesi	48
4. 2. Stereolojik Bulgular	49
4. 2. 1. Miyelinli Akson Sayısı Bulguları	49
4. 2. 2. Miyelinsiz Akson Sayısı Bulguları	51
4. 2. 3. Akson Alanı Bulguları	52
4. 2. 4. Miyelin Kılıf Kalınlığı Bulguları	54
4. 3. Elektrofizyolojik Bulgular	55
4. 3. 1. Amplitüt	55
4. 3. 2. Pozitif ve Negatif Pikler Arası Voltaj Değerleri	56
4. 3. 3. Latans	56
4. 4. Filow Sitometrik Bulgular	57
4. 5. Histolojik Bulgular	60
4. 5. 1. Kontrol Grubu (K)	60
4. 5. 2. Kontrol Hasarlı Grup (KH)	63
4. 5. 3. Obez Kontrol (OK)	69
4. 5. 4. Obez Hasarlı (OH)	74
4. 5. 5. Kontrol Hasarlı Periferik Sinir Grubu (KPS).....	78
4. 5. 6. Kontrol Hasarlı Yağ Grubu (KY)	84
4. 5. 7. Obez Hasarlı Periferik Sinir Grubu (OPS).....	95
4. 5. 8. Obez Hasarlı Yağ Grubu (OY)	100
5. TARTIŞMA	107
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	121
KAYNAKLAR	125
ÖZGEÇMİŞ.....	140

1. GİRİŞ

Periferik sinir yaralanmaları, tüm dünyada önemli ölçüde sakatlığa sebep olan durumlardan biridir. Kazalar sonucunda veya sinirde gerilme, ezilme, kesilme ve sinir liflerinde oluşan farklı derecedeki hasarlardan meydana gelmektedir. Travmatik yaralanmalar sinirin distal ve proksimalinde önemli histolojik değişiklikleri de beraberinde getirmektedir. Aksonal düzeyde meydana gelen hasar derecesi, yaralanmadan sonraki süreçte, iyileşme oranı ve süresini belirleyen en önemli faktördür. İyileşme hızı, hasarlı bölgedeki patofizyolojik duruma bağlı olarak değişiklik gösterse de aksonal bütünlük korunduğu sürece genellikle tam bir fonksiyonel iyileşme gerçekleşmektedir (Robinson, 2000; Lundborg, 2004; Allodi ve ark., 2012). Yetişkinlikte periferik sinirin yüksek rejenerasyon potansiyelini devam ettirdiği bilinmektedir. Ancak aksonal bütünlüğün korunamadığı durumlarda, iyileşme süresince rejenerasyon olan sinir liflerinin akson çapı ve miyelin kılıf kalınlığı gibi parametreler bakımından travma öncesi normal düzeye ulaşamadıkları bildirilmiştir (Muratori ve ark., 2012).

Aksonal rejenerasyon, doku onarımından önce hücre onarımının öncelikli olduğu biyolojik bir olaydır. Rejenerasyon esnasında temel amaç hücre sayısının artması değil, her bir hücrenin başlangıçtaki yani sağlıklı morfolojilerine geri dönüşümünün sağlanabilmesidir. Bu dönüşümün sağlanabilmesi için gerekli olaylar endotelial hücrelerin, fibroblastların ve Schwann hücrelerinin çoğalması gibi lokal yara iyileşme bölgelerinde meydana gelen değişikliklerden ibarettir (Lundborg, 2004). Bu açıdan bakıldığında periferik sinir hasarları sonrası özellikle aksonal bütünlüğün korunamadığı durumlarda olası aksonal rejenerasyonu artıracak tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır.

Özellikle son yıllarda moleküler ve hücre biyolojisi, biyomühendislik ve kök hücre alanındaki önemli gelişmelere paralel olarak periferik sinir rejenerasyonu hakkındaki bilgilerimiz artmaktadır. Son yıllarda periferik sinir yaralanmalarının tedavisinde kök hücrelerin kullanıldığı çalışmalarda önemli sonuçlar elde edilmiştir (Yu ve ark., 2010). Bu amaçla embriyonik, fetal ve erişkin mezenkimal kaynaklı kök hücrelerden yararlanılmaktadır. Mezenkimal kök hücreler kendini yenileyebilen ve kemik, kıkırdak, yağ, kas gibi multiple mezodermal dokulara farklılaşabilme yeteneğine sahip olan hücrelerdir. Mezenkimal kök hücrelerin (MKH) potansiyel avantajları otolog donörden temin edilebilmesi ve allojenik MKH'nin nonimmünojenik olmasıdır. MKH'lerin ayrıca in vitro ortamda nöronal morfoloji kazanmaları ve nöronal ve nöroglial marker ekspresyon etmeleri sinir sistemi

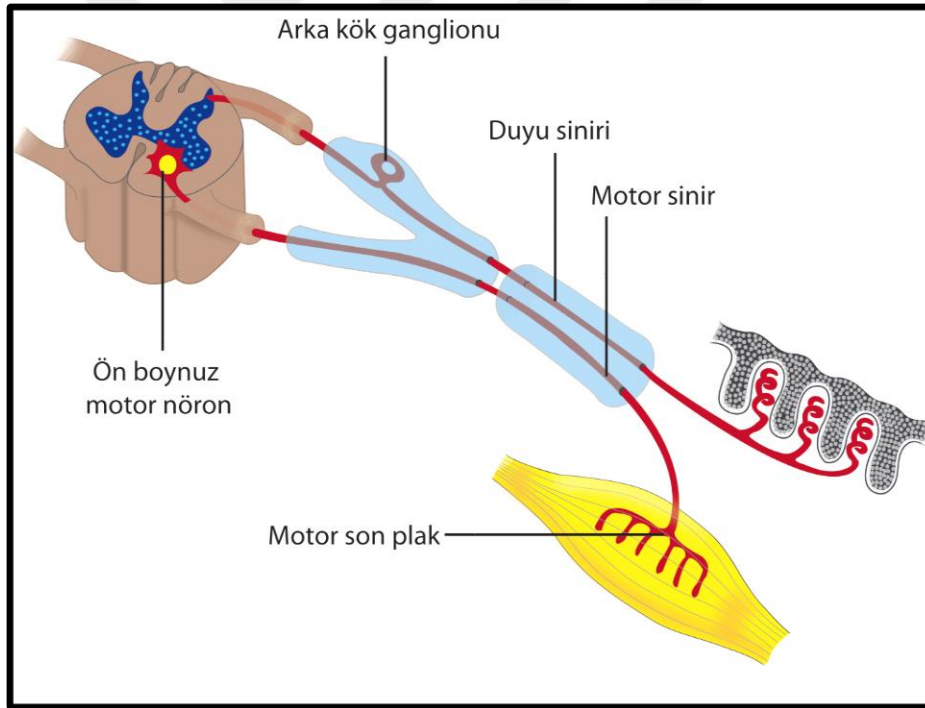
hasarındaki kullanımına olan ilgiyi arttırmaktadır. Günümüzde insanlar üzerinde mezenkimal kök hücrelerin Parkinson hastalığında, beyin hasarında, serebral infarkta ve spinal kord hasarında transplantasyonu ile ilgili çalışmalar literatürde mevcuttur (Parr ve ark., 2007; Venkataramana ve ark., 2009; Venkataramana ve ark., 2010). Farklılaşmanın yanısıra kök hücrelerin hasarlı nöronlara rejenerasyon sürecinde trofik destek sağlaması da başka bir olası mekanizmadır (Schwarz ve Schwarz, 2010). Kök hücre tedavisinin bazı durumlarda kayıp nöronların yerini almaktan çok nöronal koruma ve anti-inflamatuvar özellikleri ile tedaviye katkıda bulunduğunu gösterir bilgiler elde edilmiştir (Einstein ve ark., 2007; Vercelli ve ark., 2008). Bu yüzden bu çalışma, yüksek yağlı diyetle ilişkilendirilmiş, adipoz ve bağ dokusu kökenli kök hücrelerin rejenerasyon üzerine olabilecek muhtemel etkilerini ortaya koymak üzere planlanmıştır.

Obezite besinlerle alınan enerji miktarının metabolizma ve fiziksel aktivite ile tüketilen enerji miktarından daha fazla olduğu durumlarda ortaya çıkan ve vücutta fazla miktarda yağ birikmesiyle oluşan, tedavi edilmesi gereken ciddi bir hastalıktır (Altunkaynak ve Özbek, 2007). Enerji alınması ve harcanması arasındaki dengenin bozulmasından kaynaklanan ihtiyaç fazlası kaloringin organizmada depolanmasının sonucu meydana gelen obezitenin etiyolojisinde daha çok yüksek kalorili diyet ve hareket azlığı gibi faktörler rol oynamaktadır (Uzun, 2011). Son yıllarda prevelansındaki korkutucu artışla birlikte obezite tüm dünyada toplumsal bir sağlık krizi haline dönüşmüştür (Wang ve ark., 2013). Özellikle metabolik-hormonal komplikasyonlar, kardiyovasküler sistem hastalıkları, solunum ve sindirim sistemi hastalıkları ve kanser gibi morbidite ve mortalitesi yüksek sağlık sorunlarına yol açmaktadır. Obezite prevelansının artması beraberinde obeziteye bağlı hastalıkların da sıklığının artmasına neden olmaktadır (Kalan ve Yeşil, 2010). Bununla birlikte obezite ile ilişkilendirilmiş kök hücre tedavisinin özellikle periferik sinir sistemi (PSS) üzerine olan olası etkileri hakkında bir çalışmaya literatür kayıtlarında rastlanılmamıştır. Sunulan çalışmada yüksek yağlı diyet uygulaması sonucu oluşturulan obezite modelinde, adipoz ve bağ dokusu kökenli kök hücrelerin vücuttaki en büyük ve tek parçalı periferik sinir olan siyatik sinirin rejenerasyonuna olan olası etkileri stereolojik, elektrofizyolojik, flow sitometrik, histopatolojik ve elektron mikroskopik yöntemlerle araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

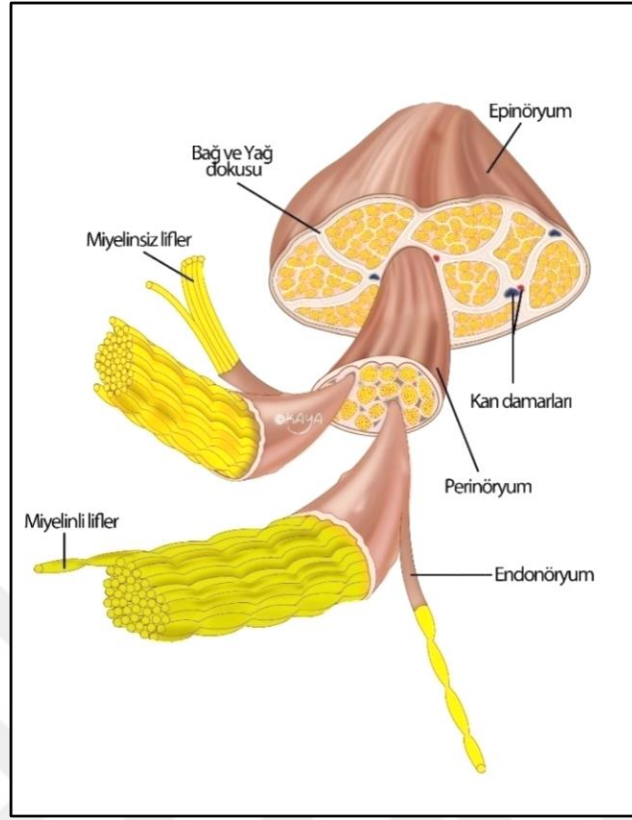
2. 1. Periferik Sinir Sistemi

PSS, merkezi sinir sistemi (MSS) ile organlar arasında iletimi sağlayan böylece motor, duyu ve otonomik fonksiyonların düzenlenmesinde görev alan bir sistemdir. Üç tip periferik sinir bulunmaktadır, bunlar; motor, duyu ve otonom sinirlerdir. Motor sinirlerin hücre gövdeleri medulla spinalis ön boynuzunda, duyu sinirlerinin hücre gövdeleri ise arka kök gangliyonu içerisindedir. Duyusal ve motor lifler içeren periferik sinirler, dorsal ve ventral spinal köklerin birleşmesiyle oluşur (Şekil 1). Otonom sinir sistemine ait nöronlar merkezi sinir sistemi içinde ve dışında bulunan, nükleus ve ganglionlarda toplanmış şekildedir (Shenaq ve Kim, 2006).



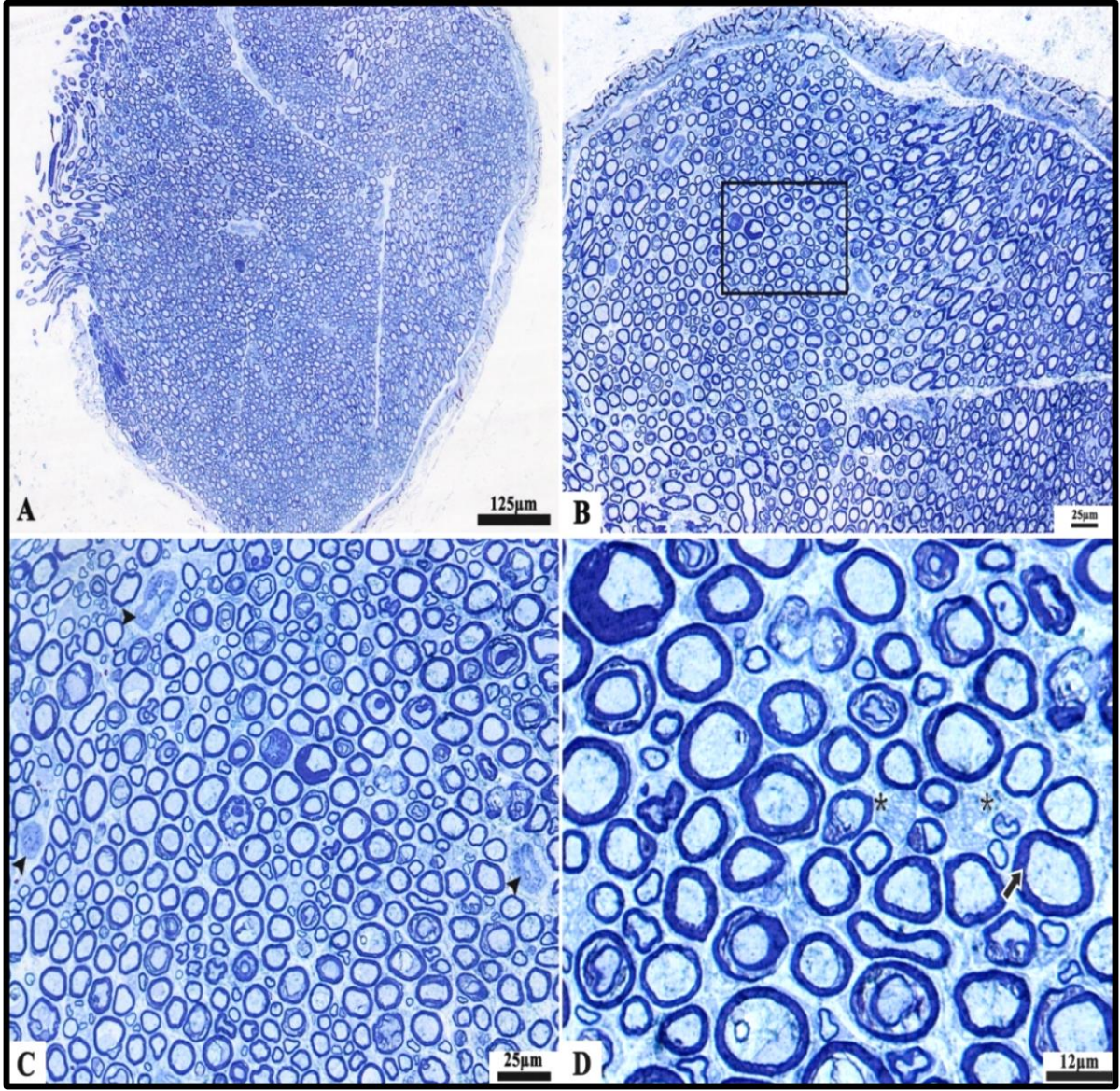
Şekil 1. Periferik sinirlerin hücre gövdelerinin yerleşimi (Bekar, 2011'den bakılarak uyarlanmıştır)

PSS, MSS dışındaki sinir hücre gövdelerini barındıran gangliyonlar, özelleşmiş sinir uçları ve periferik sinirlerden ibaret olup, MSS ile periferik organlar arasındaki motor ve duyu iletimini sağlamaktadır. Bir periferik sinir, özel bağ doku kılıfıyla sarılmış sinir lif demetlerinden oluşmaktadır (Junqueira ve Carneiro, 2006; Ross ve Pawlina, 2011). Bu bağ doku kılıfının biyokimyasal ve morfolojik yapısı değişik teknikler kullanılarak ortaya konmuştur. Periferik sinirin bağ doku kılıfı endonöryum, perinöryum ve epinöryum adı verilen üç bileşenden oluşmaktadır. Endonöryum olarak adlandırılan en iç kısım Schwann hücresi ve aksonu kuşatır. Endonöryum fibroblastlar ile kollajen liflerden oluşmaktadır. Sinir lifleri bir araya gelerek perinöryum tarafından sarılan sinir fasiküllerini oluştururlar. Duvarı, yassı ve çok katlı epitel hücre benzeri perinöral hücre tabakasından oluştuğu için perinöryum, hücre tüpü olarak da tanımlanmaktadır. Perinöral hücreler dıştan bazal lamina ile çevrelenmiş olup gap junctionlarla birbirlerine bağlı haldedirler. Birbirleriyle olan bu sıkı ve geçirgen olmayan bağlantılarından dolayı perinöryum kan-sinir bariyeri olarak da bilinmektedir. Tüm fasikülleri en dıştan çevreleyen bağ doku tabakası ise epinöryum olarak adlandırılmaktadır. Epinöryum çok sayıda gevşek dizilimli kollajen lifler ile yağ doku içermektedir (Kaplan ve ark., 2009) (Şekil 2).



Şekil 2. Periferik bir sinirin yapısı (Schünke ve ark. 2005'den bakılarak uyarlanmıştır)

Periferik sinirler dallanmalar göstererek tüm vücuda dağılan organlardır. MSS' den çıkan periferik sinirler, kranial ve spinal sinirler olmak üzere iki ana kategoride sınıflandırılırlar. Bu iki kökten dallanan sinirler ise tüm vücut alanlarına ulaşarak sonlanırlar. Vücudun farklı bölgelerinde yerleşik periferik sinirlerin sinir lif içeriği ve fasikül sayısı gibi özellikleri farklılık gösterse de, morfolojik özellikleri genel olarak aynıdır. Periferik bir sinirin en küçük fonksiyonel birimi sinir lifidir. Bir sinir lifinin hız iletimi, fonksiyonu ve çapı gibi çeşitli parametreler periferik sinir liflerinin sınıflandırılmasında kullanılmaktadır. Anatomik olarak Schwann hücrelerinin aksonları çevrelemesi esasına göre lifler miyelinli ve miyelinsiz sinir lifleri olarak iki alt grupta sınıflandırılmaktadır (Şekil 3). Memelilerde tüm büyük çaplı aksonlar miyelinli olup, $1\mu\text{m}$ ' den küçük çaplı aksonlar genellikle miyelinsizdir (Geuna ve ark., 2009) (Şekil 4).



Şekil 3. Periferik sinirin panoramik ışık mikroskopik görüntüsü (A) ile farklı büyütmelerdeki histolojik yapısı görülmekte (B, C ve D). Endonöryum içindeki damarlanmalar görülmektedir (C) (Ok başları: Bağ dokuda yerleşik damarlar). Miyelinli lifler ile bu lifler arasında yerleşik kümeler halinde küçük çaplı miyelinsiz lifler izlenmektedir (D) (Ok: Miyelinli akson, *: Miyelinsiz aksonlar)



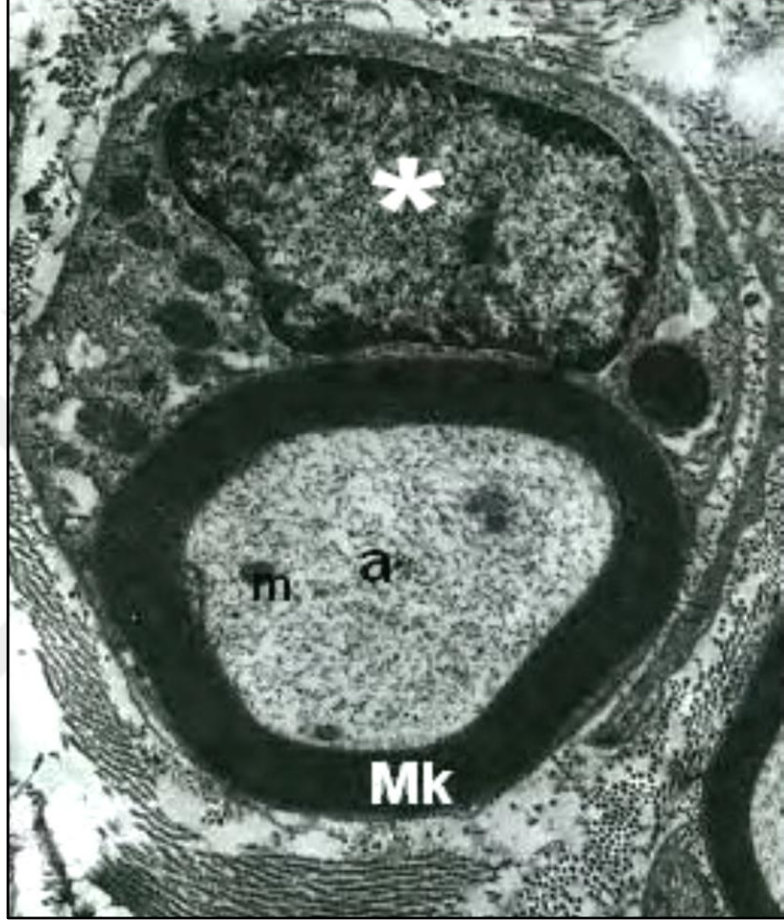
Şekil 4. Periferik sinirde miyelinli aksonların elektron mikroskopik görüntüsü (m: akson sitoplazmasında yerleşik mitokondriler, a: miyelinli akson, Mk: miyelin kılıfı göstermektedir, x12400)

Miyelinli sinir lifleri tek bir Schwann hücresi tarafından çevrelenmiş tek aksondan oluşmakta olup ratlarda Schwann hücre zarı akson etrafını 12 nm aralıklı şekilde kuşatarak ortalama 80 katlı miyelin kılıfı oluşturmaktadır (Garbay ve ark., 2000; Gartner ve Hiatt, 2007; Geuna ve ark., 2009) (Şekil 5).

Miyelinsiz aksonlar ise tek bir Schwann hücresi tarafından grup halinde sarılmış çok sayıda küçük sinir aksonundan oluşmakta olup bu aksonların ortalama çapları 0,15- 2 µm arasındadır (Geuna ve ark., 2009) (Şekil 6).

Miyelinli ve miyelinsiz sinir lifinde her akson mutlaka Schwann hücresi ile kuşatılmıştır. Schwann hücreleri akson çevresindeki alanda iyon dengesinin sağlanmasına, nörotransmitterlerin dağılımına ve aksolomma boyunca sodyum kanallarının yerleşimine katkıda bulunan ve akson çevresinde konsantrik karakterde proteofosfolipid bir tabaka olan

miyelin kılıfını hazırlayan hücrelerdir. Miyelinli bir akson tek bir Schwann hücresi tarafından sarılırken, miyelinsiz aksonlarda bir Schwann hücresi birden fazla aksonu çevrelemektedir (Dahlin, 2004) (Şekil 5 ve 6).



Şekil 5. Bir Schwann hücresi tarafından çevrenmiş tek miyelinli aksonun (a) elektron mikroskopik görüntüsü. (Mk: Miyelin kılıf, *: Schwann hücre çekirdeği, m: akson sitoplazmasında yerleşik mitokondrileri göstermektedir, x10100)



Şekil 6. Bir Schwann hücresi (Sh) tarafından çevrelenmiş miyelinsiz aksonların (oklar) elektron mikroskopik görüntüsü (Ç: Schwann hücre çekirdeği, x 16100)

Miyelinli olsun ya da olmasın bir sinir lifinde her akson mutlaka Schwann hücresi ile kuşatılmıştır. Miyelinli bir akson tek bir Schwann hücresi tarafından sarılırken, miyelinsiz aksonlarda bir Schwann hücresi birden fazla aksonu çevrelemektedir (Dahlin, 2004) (Şekil 5 ve 6).

Schwann hücreleri periferik sinirlerin miyelin kılıfını oluşturur ve devamlılığını sağlar, ayrıca miyelinsiz aksonları çevreleyerek onlara hücrel bir kılıf meydana getirir. Schwann hücreleri, gelişim sırasında nöronların hayati fonksiyonlarının devamlılığı için ve ayrıca sinir hasarlanmalarında da başarılı bir rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşmenin kontrolünde oldukça büyük öneme sahiptir (Kaplan ve ark., 2009).

Miyelinizasyon 12. haftasında, ratlarda ise 14-15. embriyonik günlerde başlayıp doğumdan sonra değişken hızlarda devam eden bir süreçtir (Garbay ve ark., 2000; Kaplan ve ark., 2009). Miyelinin yapısı diğer plazma membranlarına benzemekle birlikte, içerik

açısından farklıdır. Biyokimyasal olarak % 75 lipit ve % 25 proteinden meydana gelmektedir (Atalay ve Üstün, 2004). Schwann hücreleri, aksonlardan miyelinleşme sinyalini aldığı anda miyelin kılıfı oluşturacak bileşenlerin sentezine imkansağlayacak şekilde gen ekspresyon programlarını değiştirirler. Gen ekspresyonu seviyesindeki bu düzenleme aslında Oct-6 ve Krox-20 gibi transkripsiyon faktörlerini içermektedir. Miyelinin yapısı diğer biyolojik membranlarla benzerlik gösterse de en önemli biyokimyasal özelliklerinden biri yüksek lipit/protein oranıdır. Bileşiminde % 70-80 lipit ve % 20-30 protein bulunduran miyelin sahip olduğu bu yüksek yağ oranıyla elektriksel yalıtım görevini yapabilmektedir (Garbay ve ark., 2000).

Miyelinli liflerde, akson boyunca dizilen Schwann hücreleri arasında miyelin kılıfın bulunmadığı 1 µm'lik alanlar mevcuttur. Miyelin kılıf boyunca iletilen impulslar "Ranvier düğümü" adı verilen bu alanlarda bir sıçrama yaparak bir sonraki miyelin kılıfa geçerler (Lawrence, 1995). Ranvier düğümleri sayesinde uyarı sıçrayıcı şekilde iletilir ve bu sayede çok hızlı taşınması sağlanır (Shenaq ve Kim, 2006; Terzis ve Smith, 1990). Ranvier düğümleri arasındaki aralık ne kadar uzun ise myelin o kadar kalındır (Ertekin, 2006; 1991; Samorajski, 1967).

Periferik sinir gelişimi esnasında, miyelin kılıf oluşturması, Schwann hücrelerinin proliferasyonu, göçü, aksonu çevrelemesi gibi süreçlerde, Schwann hücreleri ile aksonlar arasında belirgin bir fiziksel etkileşim olmaktadır (Feltri ve ark., 1994). Schwann hücreleri, aksonlardan miyelinleşmek için sinyal aldığı anda, miyelin kılıfı oluşturacak bileşenlerin sentezine olanak sağlayacak biçimde gen ekspresyon programlarını değiştirirler. Miyelinin yapısı diğer biyolojik membranlarla benzerlik gösterse de en önemli biyokimyasal özelliklerinden biri yüksek lipit/protein oranıdır. Bileşiminde % 70-80 lipit ve % 20-30 protein bulunduran miyelin sahip olduğu bu yüksek yağ oranıyla elektriksel yalıtım görevini yapabilmektedir (Garbay ve ark., 2000).

Bir sinirin miyelinli olması aksiyon potansiyelinin iletim hızını arttırmaktadır. Miyelin kılıfın kalınlığı da iletim hızını etkiler. Miyelinsiz liflerde çap 0.2–1.5 µm ve iletim hızı 0.4–2.0 m/sn iken; kalın miyelinli sinirlerde çap 12–20 µm ve iletim 72–120 m/sn gibi yüksek hızlardadır (Shenaq ve Kim, 2006). Sinir lifleri iletim hızları ve çaplarına göre 3 gruba ayrılır (Terzis ve Smith, 1990):

A grubu lifler: Miyelinli somatik afferent ve efferent liflerdir. Çapları 2.5–22 µm, ileti hızları 15–100 m/sn arasındadır.

B grubu lifler: Miyelinli otonomik preganglionik liflerdir. Çapları 3 µm, ileti hızları 3–15 m/sn kadardır.

C grubu lifler: Miyelinsiz somatik ve visseral afferent lifler ile postganglionik liflerdir. Çapları 0.2–1.5 µm, ileti hızları 0.3–1.6 m/sn kadardır.

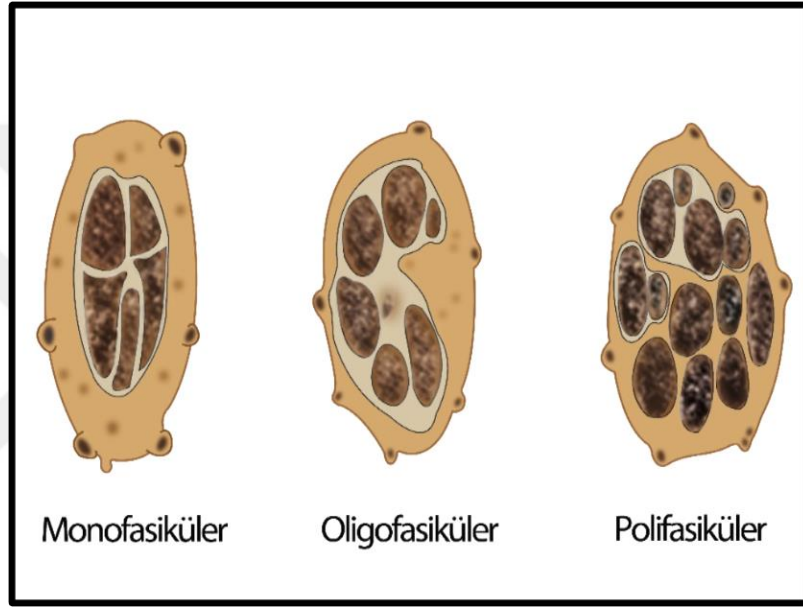
Bağ dokusu, enine kesilmiş bir sinirin kesit alanının %25–85 kadarını oluşturmaktadır ve bu oran sinire ve yer aldığı bölgeye göre değişmektedir. Eklem bölgelerinde bu oranın arttığı bilinmektedir. Periferik sinirler 3 ayrı destek bağ dokusu tabakası ile kuşatılmıştır (Kaplan ve ark., 2009). Her bir sinir lifi, en içte endonöryum adı verilen mezoderm kaynaklı bir bağ doku ile çevrelenmektedir. Endonöryum, mukopolisakkarit temel madde içerisinde yer alan kollajen ve retiküler lifler, fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri ve kapiller sistemden oluşan bir bağ dokudur, çevrelediği alan içerisindeki bölge sinir işlevleri için uygun bir ortam sağlar. (Maggi ve ark., 2003; Terzis ve Smith, 1990). Sinir liflerinin bir araya gelerek oluşturduğu yapıya ise fasikül denilmektedir. Her fasikül mekanik olarak sağlam, yoğun bir tabaka olan perinöryum ile sarılmıştır.

Perinöryum, yassı perinöral hücreler tarafından oluşturulmuş olan çok katlı bir tabakadır ve travmalara karşı bir bariyer görevi görür. Perinöryum aynı zamanda kan-sinir bariyerinden sorumlu olan yapıdır (Lundborg, 1987; Özmen, 2002; Kaplan ve ark., 2009). Periferik siniri en dıştan kuşatan bağ doku tabakası ise epinöryum adını almaktadır. Epinöryum kollajen tip I ve III, elastik lifler, fibroblastlar ve değişen oranlarda yağ dokusundan meydana gelmiştir. Epinöryumun görevi, fasikülleri ekstremitte hareketleri sırasındaki travmalardan korumaktır. Bu nedenle özellikle eklem bölgelerinde daha kalın bir yapıya sahiptir (Lundborg, 1987; Maggi ve ark., 2003). Epinöryumun kalınlığı sinirin tipi, seviyesi ve bireylere göre farklılık göstermektedir, yüzeysel ya da eklemleri geçen sinir kısımlarında bağ doku daha da kalındır, nedeni travmalara karşı koruyuculuğu arttırmaktır (Maggi ve ark., 2003; Terzis ve Smith, 1990; Sunderland, 1990). Toplam sinir kesit alanının % 35-75'i arasında değişen bu kalınlık distale gittikçe azalmaktadır. Fonksiyonel olarak iki tabakadan oluşan epinöryumun derin tabakaları “internal (interfasiküler) epinöryum” olarak adlandırılır ve bu tabaka fasiküllerin etrafını tek tek sararak fasikülleri bir arada tutar. “Eksternal (epifasiküler) epinöryum” ise daha dışta yer alan ve paranöryum olarak da bilinen bağ dokusu yapısında bir kılıftır (Thomas ve ark., 1993). Epinöryum içeriye doğru uzanarak

epifasiküler epinöryumu meydana getirir (Ertekin, 2006; Williams ve ark., 1989; Bullock ve ark., 1994).

Fasiküler yapılarına göre periferik sinirler üç ana gruba ayrılırlar (Şekil 7) .

- 1. Monofasiküler periferik sinir;** Birçok sinir lifi içeren tek bir fasikül bulunur.
- 2. Oligofasiküler periferik sinir;** Birkaç büyük fasikülden oluşan sinirdir.
- 3. Polifasiküler periferik sinir:** Çok sayıda fasikül mevcuttur. Fasiküller gruplar halinde veya grup oluşturmaksızın bir arada bulunabilirler (Lundborg, 1988).



Şekil 7. Periferik sinirlerin fasiküler yapılarına göre sınıflandırılması

2. 1. 1. Periferik Sinir Yaralanmaları

Periferik sinir yaralanmalarının sınıflandırılması, teşhis ve tedavi yaklaşımları açısından gereksinim ve önem arz etmektedir. Periferik sinir onarım yolunun başarısı ve süresi sinir yaralanmasının derecesine bağlıdır (Burnett ve Zager, 2004; Stoll ve Müller, 1999). Seddon ve Sunderland tarafından yapılan, günümüzde kabul görmüş 2 sınıflandırma vardır. Seddon sinir yaralanmalarını şiddetine göre 3 sınıfa ayırmaktadır.

Nöropaksi, sinir devamlılığının kaybolmadığı ancak geçici bir fonksiyonel kaybın olduğu, grup içerisindeki en hafif yaralanma tipidir. Geçici segmental iletim bloğu ile karakterize olup anatomik bütünlük ve aksonal devamlılık korunmuştur (Sunderland, 1990; Brushart, 1999). Spontan iyileşir ve iyileşme tam olur, ancak iyileşme zamanı 5 gün ile 3 ay arasında değişir, histolojik olarak en sık demiyelinizasyon görülür (Maggi ve ark., 2003).

Aksonotmezis, bölgesel olarak sadece miyelin kılıf ve akson devamlılığında bir kesilme oluşur. Endonöryum, perinöryum, epinöryum ve Schwann hücrelerinin bazal membranı, sağlamdır. Bu tür bir yaralanmadan sonra hücre ölmezse, lezyon seviyesinin distal ucunda Wallerian dejenerasyon, proksimal ucunda ise aksonal tomurcuklanma görülür (Seckel, 1990). Rejenerasyon, aksonal bütünlük olmasa bile endonöryumun oluşundan dolayı kolaydır. Rejenerasyon genellikle iyidir ve fonksiyonların geri dönüşü tamdır. Nörotmezis, sinir bağlantılarının kesildiği ve tam bir fonksiyonel kaybın olduğu yaralanma tipidir. Aksonda yeniden büyümeyi yönlendirecek yapılar kaybolur ve skar oluşur. İyileşme meydana gelmesi için genellikle cerrahi işlem uygulanması gerekir (Fernandez ve ark., 1997).

Sunderland, bu sınıflamayı yaralanmanın şiddetine göre beş dereceye ayırmıştır (Ertekin, 2006; Ertaş, 2004; Daneyemez ve Seçer, 2008).

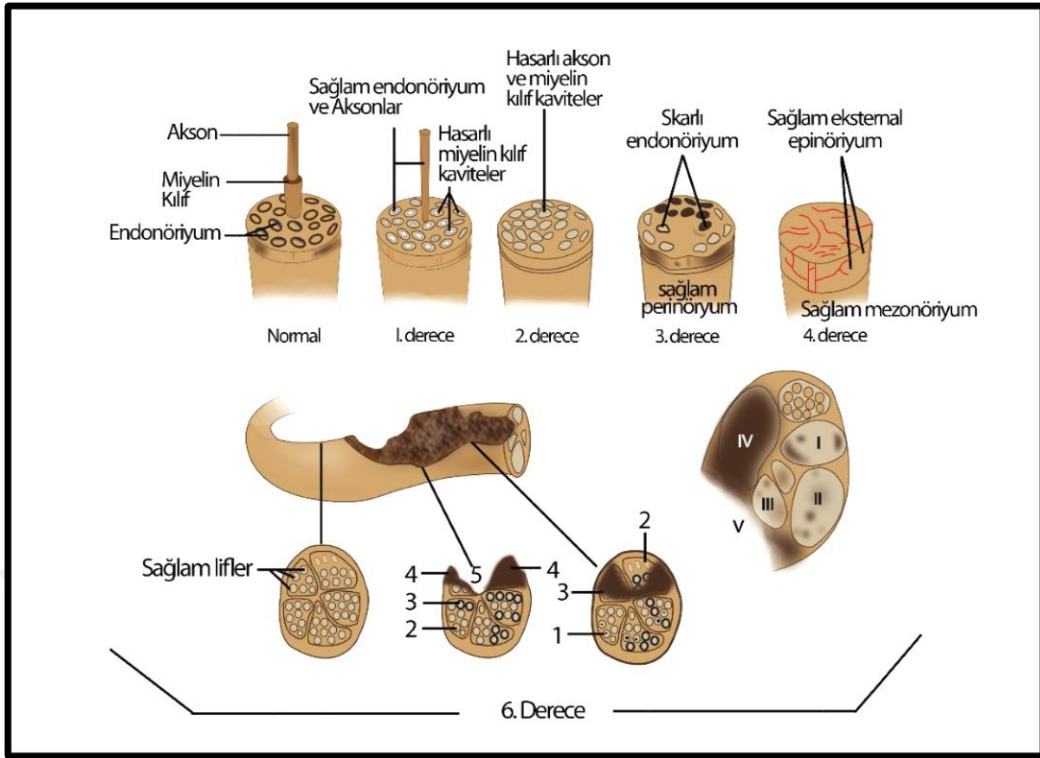
1.derece; Seddonun nöropraksi tipi yaralanmasına eşdeğerdir, kendiliğinden iyileşir (Maggi, 2003; Sunderland, 1990).

2.derece; Seddon' un aksonotmezis tip yaralanmasına eşdeğerdir. Schwann hücre bazal membranı ve endonöral kılıf sağlam olduğu için rejenerasyon süreci iyidir ve spontan olarak iyileşir (Maggi, 2003; Sunderland, 1990; Dvali, 2006).

3. derece; Aksonun kesilmesi ile meydana gelir. Aksonotmezis ile nöropraksi tip yaralanmalar arası bir hasar tipidir. Epinöryum ve perinöryum sağlam, ancak Schwann hücre kılıfı, endonöryum ve aksonun devamlılığı bozulmuştur. Endonöryum ve Schwann hücre kılıfının hasarlı olması nedeniyle iyileşme tam olmaz. (Dvali, 2006; Sunderland, 1990).

4. derece; Nörotmezis'e eşdeğerdir. Epinöryum dışında sinirin bütün kısımları bozulmaktadır. Kendiliğinden iyileşme görülebilmemesine rağmen tedavi uygulanmadığında fonksiyonel iyileşme nadiren gerçekleşir. Cerrahi girişim gereklidir (Dvali, 2006; Sunderland, 1990).

5. derece; Sinir tamamen kesintiye uğramaktadır. İyileşme cerrahi girişimle sağlanır (Robinson, 2000; Burnett ve Zager, 2004; Quan ve Bird, 1999; Fernandez ve ark., 1997). Ek olarak Mackinnon bu sınıflandırmaya 6. derece sinir hasarı adı altında bir ekleme yapmıştır (Mackinnon, 1989). Bu tip yaralanmada sinir boyunca değişik seviyelerde ve farklı derecelerde sinir hasarlarının bir arada bulunması söz konusudur (Şekil 8). Özellikle ezici tipte yaralanmalarda ortaya çıkmaktadır.

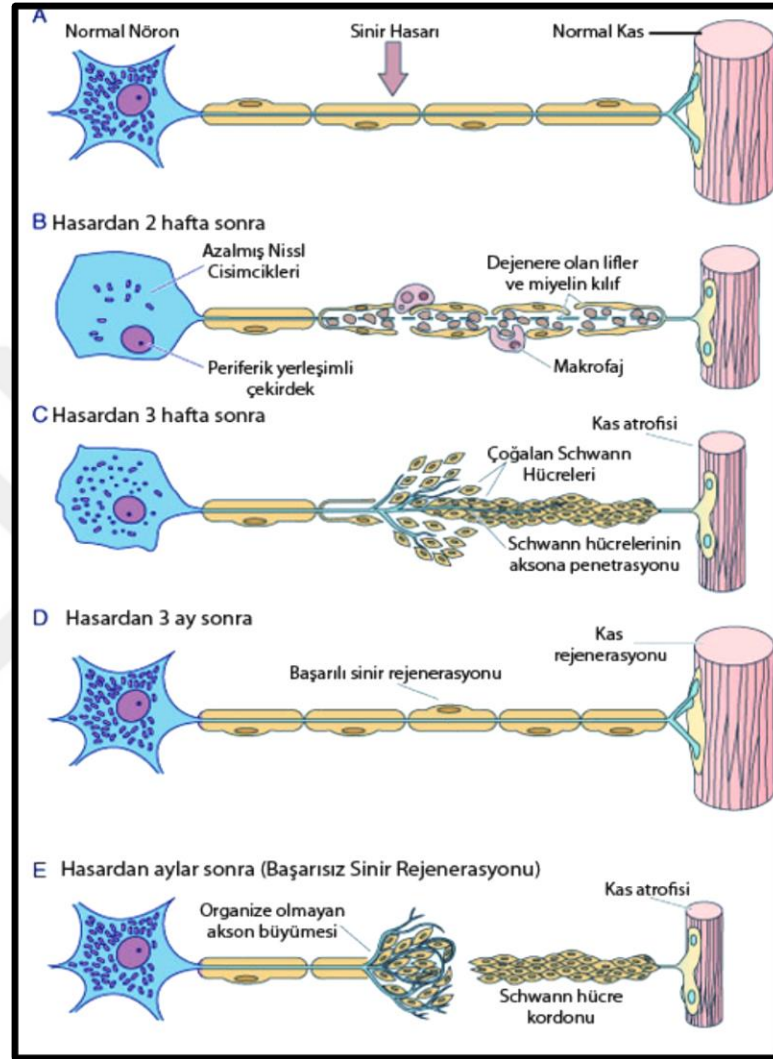


Şekil 8. Periferik sinir yaralanmalarının sınıflandırılması

2. 1. 2. Rejenerasyon Sırasında Meydana Gelen Değişiklikler

Rejenerasyon sırasında, sinir hücresinin perikaryonu ve aksonu arasında fonksiyonel açıdan çok önemli bir ilişki vardır. Fonksiyonel periferik bağlantılar yeniden düzenlenmediği sürece, perikaryonda eksiksiz bir iyileşme meydana gelmez. Aksonal çap artışı ile perikaryon iyileşmesi doğru orantılıdır. Akson hasarı sonrası perikaryonda bazı değişiklikler meydana gelir. Bu değişikliklerden biri kromatolizdir ve sitoplazmada Nissl cisimciği bozulur, nöroplazmaya dağılır ve bazofili azalır (Stoll ve Müller, 1999; Zochodne, 2000; Stoll ve ark.,2002; Ross ve Pawlina, 2006). Perikaryon hacminde artış görülür ve 6 saat içinde çekirdek perikaryonda perifere çekilir (Şekil 9-B). Kromatolizde nöronlar 'sinyal iletim' modundan 'büyüme' moduna geçmeye başlarlar. Yani protein sentezi, nörotransmitter yapısına katılacak maddelerin üretimi yerine, aksonal yeniden yapılandırma için gerekli maddelerin üretimi yönüne kayar. Örneğin; büyüme-ilişkili protein 45 aksonal büyümede önemli bir role sahiptir ve aksonal transportla hızlıca taşınan bir fosfoproteindir. Akson hasarı sonrası reinnervasyondaki bir azalma, arka kök gangliyonunda bulunan büyüme-ilişkili protein 45' in seviyesinde 100 kata kadar bir artışa neden olur (Lundborg, 2004).

Bir sinir hasarı sonrası, özellikle hasar alanında olmak üzere, hasar alanının proksimal ve distal uçları ile perikaryonda morfolojik ve metabolik değişimlere bağlı kompleks patofizyolojik değişiklikler meydana gelir (Geuna ve ark., 2009).



Şekil 9. Periferik sinir rejenerasyonunun şematik gösterimi (Gartner ve Hiatt, 2007’den çevrilerek uyarlanmıştır)

Schwann hücreleri ve makrofajlar, dejenere miyelin kılıf ve akson yıkıntılarını fagosite ederek, yaralanma bölgesini bir haftadan bir aya kadar değişebilen bir süre içerisinde temizlerler (Jones ve ark., 2001; Pagnotta ve ark., 2002; Hirata ve Kawabuchi, 2002; Burnett ve Zager, 2004). Schwann hücreleri tarafından üretilen bir bazal membran sinir lifini sarar ve bu membran rejenerasyonda önemli bir rol oynar.

Hasardan sonra yaklaşık 3. haftada Schwann hücreleri önceden akson ve miyelin kılıfla dolu olan alanı yeniden doldurmak için hızla mitozla bölünür, proliferer olurlar (Şekil

9-C). Rejeneratif Schwann hücreleri aksonal kökten rejenere olan filizleri kabul etmek için distal segmentte Büngner bandını yapar (Frostick ve ark.,1998; Anselin ve ark., 1998; Zochodne, 2000; Burnett ve Zager, 2004). Gelişim esnasında, hasarlı sinirlerin başarılı rejenerasyonunda, fonksiyonel geri dönüşün sağlanmasında Schwann hücrelerinin önemi ve gerekliliği bilinmektedir (Kaplan ve ark., 2009).

Periferik sinir rejenerasyonunda, aksonun proksimal ucunun hasara yakın kısmı kısa bir alanda bozunur ve daha sonrasında artıklar, makrofajlar ve Schwann hücreleri tarafından temizlenir temizlenmez büyüme başlar. Makrofajlar, interlökin-1'i üretirler. İnterlökin-1 ise Schwann hücrelerini, sinir büyümesini kolaylaştırıcı maddeler salgılamaya iten bir maddedir. Sinir rejenerasyonu proksimal uçtan dışa doğru büyüme şeklinde olur. Yaklaşık bir gün sonunda aksonun proksimal kesit ucu büyüme konisi şeklinde çıkıntı yapar (Şekil 9-C). Büyüme konisi, aksonun proksimal kesit ucundaki aksoplazmik büyüme alanıdır. İnternal aktin filamentler ve miyozin içerir, membranı dışa çıkıntı yapan ameboid tarzda kasılan pekçok filopod içerir (Tennyson, 1970; Selzer, 1980; Letourneau, 1981). İleri doğru hareket bununla sağlanır. Filopod tarafından uygun bir tutunacak madde algılandığında yapışma olur ve distal segmente ulaşıp bağlantı yapmış olunur.

Aksonal filizlerin sayısı zamanla azalırken, bazıları distal segmente ulaşıp bağlantı yaparak olgun hale gelir. Distal segmente ulaşamayan bazı filizler ise gerileyerek kaybolur (Lundborg, 2004). Son çalışmalar göstermiştir ki, Schwann hücreleri, sinir rejenerasyonunda özellikle hasar alanında bu aksonal filizlere önemli ölçüde fiziksel rehberlik yaparlar. Bu fiziksel rehberlik filizlerin distal segmente ulaşmasını sağlar. Öyle ki aksonal rejenerasyon oranı aksonal büyümeden ziyade Schwann hücrelerinin bu fiziksel rehberlikleri tarafından belirlenmektedir (Son ve Thompson, 1995).

Aksonal hasar sonrası distal segmentte meydana gelen yavaş dejeneratif olaylar ise Wallerian dejenarasyonu olarak adlandırılmaktadır (Geuna ve ark., 2009). Wallerian Dejenarasyonu sırasında Schwann hücreleri miyelin ve aksonal artıkların yıkımında başrolü oynar ve kalan endonöral bağ dokusu tabakasının bazal laminası içerisinde polifere olurlar (Satinsky ve ark., 1964).

Sinir lezyonundan sonra 28-35. günler arasında, ek bir endonöral kollajen tabakası birikimi olur ve bu birikim aksonal büyüme için uygun potansiyel boşluğu daraltır. Aksonun çapı azalır (Thomas, 1964). Birim uzunluk başına düşen Schwann hücre sayısı artar ve

rejenerasyonun yeniden miyelinizasyonu sonrasında bu durum, azalmış internodal uzunluk olarak yansır (Cragg ve Thomas, 1964; Thomas, 1984).

2.1.3. Periferik Sinirde İleti

İstirahat döneminde, sinir lifi polarize durumdadır. Sinir lifinin içi dışına göre negatif durumda olup potansiyel farkı -80 milivolt düzeyindedir. Bu potansiyel fark sodyum (Na^+) ve potasyum (K^+) iyonlarının plazma zarından diffüzyonu ile oluşur ve ATP enerjisi kullanır. Sodyum potasyum pompası aracılığı ile sürdürülen bu duruma istirahat membran potansiyeli adı verilmektedir. Bir uyarı uygulandıktan sonra, Na^+ iyonları akson içine geçmekte ve aksolemma dışındaki pozitif iyonlar nötralize olmaktadır. Bu durumda membranın dış kısmı içe göre negatif olup potansiyel farkı $+40$ milivolt'tur. Yeterli şiddetteki bir uyarı ile aksonun ilk segmentinden başlayan ve aksolemma boyunca ilerleyen negatif elektrik dalgasına aksiyon potansiyeli denilmekte, sinir impulsları sinir lifi boyunca aksiyon potansiyelinin hareketi neticesinde ilerlemektedir (Snell, 1980).

Bir sinir lifinin iletme hızı, aksonun çapı ile doğru orantılıdır. Kalın lifler, küçük çaplı olanlara kıyasla daha hızlı bir iletme sağlar (Snell, 1980). Aynı şekilde, miyelin kılıfının kalınlığı da iletme hızı üzerinde etkili olan diğer bir faktördür ve bir sinir lifindeki iletme hızı; en kalın liflere ait 120 m/sn ile en ince liflerdeki 2 m/sn'nin altındaki değerler arasında değişmektedir (Snell, 1980; Sunderland, 1990). Dolayısıyla klinik bulgularda, sinir lifi çapının ve miyelin kılıfı kalınlığının değiştiği travmatik sinir lezyonları gibi değişik patolojilerde, sinir iletme hızında bozukluk ortaya çıkması çok normal bir sonuçtur.

Sinir rejenerasyonunun değerlendirilmesinde, histopatolojik özelliklerin incelenmesi yanında sinir aksiyon potansiyelinin kayıt edilmesi ve sinir iletme hızı ölçümleri de önemlidir (Gutmann ve Sanders, 1943). Miyelinli sinir liflerinde, miyelin kılıfı bir yalıtkan işlevi görmekte olup lif çapı ile iletme hızı arasında doğru orantılı bir ilişki mevcuttur (Snell, 1980; Sunderland, 1990). Sunderland'a göre, miyelinli sinir liflerinde iletme hızı; yaklaşık olarak, sinir lifinin dış çapı (μm) x 6 'ya eşittir. Miyelinsiz sinir liflerinde ise; iletme hızı lif çapının karekökü ile orantılı olup, basit bir ifade ile sinir lifinin çapı (μm) x 2 'dir (Sunderland, 1990).

2.2. Obezite

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından en riskli 10 hastalıktan biri olarak kabul edilen obezite, besinler ile vücuda alınan enerjinin, harcanan enerjiden fazla olmasından kaynaklanan ve vücut yağ kitlesinin, yağsız vücut kitlesine oranla artması ile karakterize olan kronik bir hastalıktır. Obezite, başta kardiyovasküler ve endokrin sistem olmak üzere vücudun tüm organ ve sistemlerini etkileyerek çeşitli bozukluklara ve hatta ölümlere yol açabilen önemli bir sağlık problemidir (WHO, 1997). Uyku bozuklukları, inme gibi birçok nörobiyolojik hastalıkta temel risk faktörleri arasında olmakla birlikte nörobiyolojik hastalıklar ve bazı ilaçlar tarafından da tetiklenebilen obezitenin yaygınlığı gün geçtikçe artmaktadır (Knecht ve ark., 2008; Naggert ve ark., 1997). Altında yatan nedenler arasında genetik, metabolik hız, kalori alımı, yağ hücreleri, yeme alışkanlıkları, çevresel faktörler ve fiziksel aktivitenin rolü vardır (Styne, 2001).

Vücutta birçok endokrin ve metabolik fonksiyonu bulunan yağ dokusunun normalden fazla olması sonucu obezite ortaya çıkar (Özata, 2003), WHO tarafından başlatılan “Kardiyovasküler Hastalıklarda Trendlerin ve Belirleyicilerin İzlenmesi (MONICA)” çalışması Afrika, Amerika, Güney Asya, Doğu Akdeniz, Avrupa ve Batı Pasifik olmak üzere 6 bölgede yürütülmüş ve 10-20 yıllık epidemiyolojik değerlendirme yapılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, Avrupa ülkelerinin çoğunda son 10 yılda obezite prevalansının %10-40 oranında artmış olduğunu göstermiştir (Keil ve Kuulasmaa, 1989). Obeziteye eşlik eden en önemli hastalıklar kardiyovasküler olaylar, diabetes mellitus tip 2, hipertansiyon, kolelityaz, hepatosteatoz, uyku ve solunum problemleri ile eklemlerde dejeneratif değişiklikler ve psikiyatrik bozukluklardır. Ülkemizde ulusal bazda yapılan ve 24.788 kişiyi kapsayan ‘TURDEP Çalışması’na göre erişkin popülasyonda obezite prevalansı %22.3 (kadınlarda %29.9, erkeklerde %12.9) bulunmuştur (Satman ve ark., 2002). Ülkemizde son 3 yılı aşkın bir sürede yapılan diğer bir çalışmada, çocukluk ve genç erişkinlik dönemindeki 2344 kız ve 1890 erkek olmak üzere toplamda 4234 birey taranmış ve bel çevresi ölçümlerinde hem kızlarda hem de erkeklerde önemli ölçüde artışlar kaydedilmiştir (Unalan ve ark., 2013). Türkiye’de kadınlardaki obezite prevalansı dünya ortalamalarına göre çok daha yüksek bulunmuştur, yüksek doğum sayısının ve düşük eğitim düzeyinin kadınlardaki obezite ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır (Sansoy, 2003).

2. 2. 1. Obezite Ölçüm Yöntemleri

Obezite, alınan kalori ile harcanan kalori arasındaki dengesizlik sonucu vücuttaki yağ doku oranının yağsız doku oranına göre fazla olduğu, tedavi edilmesi gereken ciddi kronik bir hastalıktır. Vücutta yağ dokusundaki artışla meydana gelen bir durumdur. Erkeklerde vücut ağırlığının %15-18'ini, bayanlarda %20-25'ini yağ doku oluşturur. Yağ dokunun total vücut ağırlığına oranının, erkeklerde %25, kızlarda %30'un üzerine çıkması şişmanlığı oluşturur (Tüzün, 1999).

Obezite ölçümünde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır; Beden kitle indeksi (BKİ), vücut yağ oranı (VYO), bel-kalça oranı (BKO), deri kalınlıkları ölçümü, dual enerji x-ray absorpsiyometri, bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme, potasyum izotopu, biyoelektrik empedans. En çok kullanılan ve pratik uygulanabilen yöntem BKİ yöntemidir. VYO ile korele olan bir ölçüm yöntemidir. Bu yöntem vücuttaki yağ miktarı hakkında nicel bilgi veren bir yöntem olup, genelde büyüme çağındaki çocuklarda ve sporcularda tercih edilmez. Çünkü bu kişiler de aynı zamanda yağın vücuttaki dağılımına da bakmak gerekir. Erişkinlerde BKİ'ye göre obezite sınıflandırması Tablo 1'de gösterilmiştir (Ersoy ve Çakır, 2007).

Tablo1. Beden kitle indeksine göre yetişkinlerde obezite sınıflandırması (Ersoy ve Çakır, 2007' dan uyarlanmıştır)

Sınıflandırma	BKİ
	Vücut ağırlığı (kg) / Boy (m ²)
Zayıf	<18,5
Normal	18,5 - 24,9
Kilolu	25 - 29,9
Sınıf I	30 - 34,9
Sınıf II	35 - 39,9
Sınıf III (Aşırı)	> 40

2. 2. 2. Obezitenin Etiyolojisi

Metabolizma hızının düşük olması ve enerji tüketiminin az olması gibi hem genetik hem de genetik olmayan nedenlere bağlı olmakla birlikte bu nedenlerin obeziteye yol açıp açmaması bireyler arasında değişkenlik gösterebilmektedir. Genetik nedenler en baş faktörlerden biridir. Çünkü obezitede bazı genlerin ekspresyonunun arttığı bazılarının ise azaldığı bilinmektedir. Örneğin vasküler endotelyal büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü ve mitojenle aktive protein kinazlar gibi genlerin ekspresyonu artarken, prostoglandin E reseptör, insülin reseptör substrat-4 ve natriüretik peptid reseptörü-4 gibi genlerin ekspresyonu azalmaktadır. Bu gibi artan ya da azalan gen ekspresyonu enerji korunumu sağladığından obeziteye neden olmaktadır (Das, 2010). Endokrin sistem bozuklukları obezite etiyojileri içinde en az rastlanılan nedenlerden birisidir. Ancak obezite tedavisi için endokrin sistem bozukluklarının tedavi edilmesi önemlidir (Ersoy ve Çakır, 2007). Ayrıca artmış sempatik aktivite, psikoaktif ilaçlar ve bazı hormon preparatları gibi etkenler ile çeşitli sosyal faktörler obezite ile yakından ilişkilidir (Leong ve Wilding, 1999; Ersoy ve Çakır, 2007). Endokrin sistem bozuklukları direkt olarak obezite ile ilişkilendirilemese de tedavisi için endokrin sistem bozukluklarının da giderilmesi önemlidir. Artmış sempatik aktivite, psikoaktif ilaçlar ve bazı hormon preparatları gibi etkenler ile çeşitli sosyal faktörler obezite ile yakından ilişkilidir (Leong ve Wilding, 1999; Ersoy ve Çakır, 2007).

2. 3. Erişkin Mezenkimal Kaynaklı Kök Hücreler

Bir periferik sinirin herhangi bir nedenle bütünlüğünün bozulması durumunda organizma bunu tamir etmek için gerekli doğal mekanizmalara sahiptir. Yine de rejenerasyon denilen bu sürecin başarılı olabilmesi için bazı şartlar gerekmektedir. PSS' de nöropraksinin ötesine geçen tüm yaralanmalarda sinirin distalinde Wallerian dejenerasyon gelişmekte ve ne kadar uzun bir sinir olduğundan bağımsız olarak proksimal kısım ile birlikte distal kısmın rejenerasyonu olması gerekmektedir. Burada sinir rejenerasyonunun en önemli aşaması olan proksimal ve distal kısımlar arasında fiziksel olarak uygun bir bağlantının oluşması bu tip sinir bütünlüğünün bozulduğu durumlarda çok önemlidir (Horn ve Crumley, 1984). Özellikle son yıllarda moleküler ve hücre biyolojisi, biyomühendislik ve kök hücre alanındaki önemli gelişmelere paralel olarak periferik sinir rejenerasyonu hakkındaki bilgilerimiz artmaktadır. Periferik sinir cerrahisinde amaç rejenerasyon sürecindeki bir takım eksikliklerin giderilmesi ve fonksiyonel sonuçların tekrar kazanılmasıdır. Son yıllarda periferik sinir yaralanmalarının

tedavisinde kök hücrelerin kullanıldığı çalışmalarda önemli sonuçlar elde edilmiştir (Yu ve ark., 2010). Bu amaçla embriyonik, fetal ve erişkin mezenkimal kaynaklı kök hücrelerden yararlanılmaktadır. Mezenkimal kök hücreler (MKH'ler) kendini yenileyebilen ve kemik, kıkırdak, yağ, kas gibi multiple mezodermal dokulara farklılaşabilme yeteneğine sahip olan hücrelerdir. MKH'lerin potansiyel avantajları otolog donörden temin edilebilmesi ve allojenik MKH'nin nonimmunojenik olmasıdır. MKH'lerin ayrıca in vitro ortamda nöronal morfoloji kazanmaları, nöronal ve nöroglial marker eksprese etmeleri sinir sistemi hasarında kullanımına olan ilgiyi arttırmaktadır. MKH'lerin transplantasyonu ile bu hücrelerin kendini yenileme ve multipotansiyel özelliklerinden yararlanabileceği düşünülmektedir. Kök hücrelerin aynı zamanda hasarlı hücreler ile yer değişimi, nöroproteksiyon veya endojen hücreler ile birlikte rejenerasyon oluşturabilmek için uygun bir mikroçevre oluşumu sağladığı bilinmektedir. Günümüzde insanlar üzerinde MKH'lerin Parkinson hastalığında, beyin hasarında, serebral infarktta ve spinal kord hasarında transplantasyonu ile ilgili çalışmalar literatürde mevcuttur (Parrve ark., 2007; Venkataramana ve ark., 2009; Venkataramana ve ark., 2010). Farklılaşmanın yanı sıra kök hücrelerin hasarlı nöronlara rejenerasyon sürecinde trofik destek sağlaması da başka bir olası mekanizmadır (Schwarz ve Schwarz, 2010). Kök hücre tedavisinin bazı durumlarda kayıp nöronların yerini almaktan çok nöronal koruma ve anti-inflamatuvar özellikleri ile tedaviye katkıda bulunduğunu gösterir bilgiler elde edilmiştir (Einstein ve ark., 2007; Vercelli ve ark., 2008).

Kök hücreler multipotent olup birden fazla hücre tipini oluşturabilmesi ve kendisini yenileyerek sınırsız sayıda çoğalabilmesi ile diğer öncü hücrelerden ayrılır. Embriyonik, fetal, erişkin kök hücreler gibi farklı çeşitleri vardır. Erişkin kök hücreler mezenkimal, nöral, epitelyal, yağ dokusu kaynaklı olabilir (Miller, 2006). Sinir sistemi kendisini yenileme kapasitesi oldukça sınırlı olan hücrelerden oluştuğu için pek çok hastalıkta fonksiyonel tam bir iyileşme sağlanamamaktadır. Bu yüzden sinir sistemi, üzerinde en yoğun kök hücre araştırması yapılan alanlardan birisi olmuştur. Sinir sistemi düşünüldüğünde kök hücre uygulamalarının tedaviye olan katkısı iki farklı mekanizma ile olabilir; kök hücrelerin farklılaşarak kaybedilen dokunun yerini alması veya kaybedilen dokunun geride kalan hücreler ile yenilenebilmesi için destek sağlanmasıdır (Matino ve Pluchino, 2006). Kök hücrelerin hasarlı nöronlara rejenerasyon sürecinde trofik destek sağlaması dikkate değer bir konudur (Schwarz ve Schwarz, 2010). Kök hücre tedavisinin bazı durumlarda kayıp nöronların yerini almaktan çok nöronal koruma ve anti-inflamatuvar özellikleri ile tedaviye

katkıda bulunduğunu gösterir bilgiler elde edilmiştir (Einstein ve ark., 2007; Vercelli ve ark., 2008).

Kemik iliği stromal hücreleri veya MKH'ler plastisiteleri nedeni ile doku ve organ rejenerasyonu için en ilgi çekici hedeflerden birisidir (Prokop, 1997). Günümüzde insanlar üzerinde MKH'lerin Parkinson hastalığı, travmatik spinal kord hasarı, beyin hasarı ve serebral infarkt'ta transplantasyonu ile ilgili çalışmalar mevcuttur (Parr ve ark., 2007; Venkataramana ve ark., 2009; Venkataramana ve ark., 2010). MKH'lerin in vitro ortamda nöron ve astrosit benzeri morfolojik farklılaşma göstermeleri, nöronal ve nöroglial marker ekspresyon etmeleri in-vivo ortamda gelişen embriyonun sinir dokusuna nakil yapıldığında belirgin derecede nöronal farklılaşma göstermeleri bu alana duyulan ilginin artmasına neden olmuştur (Munoz-Elias ve ark., 2004; Sigurjonsson ve ark., 2005). Yetişkin organizmada bu farklılaşma gösterilememiş ve MKH ile ilgili farklılaşmanın yeniden ele alınması gerekli olmuştur (Castro ve ark., 2002; Neuhuber ve ark., 2005). Bu sonuçlar farklılaşma olduğunu kesinlikle reddetmesede bu hücrelerin fonksiyonel düzelmeyi desteklemesi için daha farklı mekanizmaların olduğunu düşündürmektedir. MKH'ler birçok nörotropik faktör ve sitokin üretir, başka fenotiplere dönüşebilir, inflamasyonu baskılar, doku tamirinde görevli büyüme faktörlerinin üretimini tetikler (Ferrari ve ark., 1998; Dormady ve ark., 2001; Rojas ve ark., 2005). Tüm bu özellikler birlikte değerlendirildiğinde (akson rejenerasyonunun desteklenmesi, nöronal koruma, immün yanıtların düzelmesi, myelin oluşumunun desteklenmesi, anjiogeneze katkı sağlanması, nöronal iyileşme için uygun mikroçevre oluşturulması, olası lokal farklılaşma) MKH'ler için fonksiyonel iyileşmeye katkı sağlayabilmeleri amacı ile birden fazla mekanizmaya sahip oldukları düşünülmektedir.

MKH'lerin sahip oldukları çeşitli biyolojik özellikler nedeni ile nöronal, embriyolojik ve hematopoetik kök hücrelere göre çeşitli avantajları vardır ve bu nedenle uygulamalarda öncelikli olarak düşünülebilirler (Kraussis ve Kassis, 2008; Abdallah ve Kassem, 2009).

Bu avantajlar:

- 1- Kolayca izole edilebilmeleri ve kültür ortamında çok sayıda çoğaltılabilmeleri,
- 2- *in vitro* pasajlama sırasında genetik anormalliklere yatkınlıklarının daha az olması nedeni ile diğer kök hücrelere göre daha düşük oranda kanser riski taşımaları,

3- Rejeksiyonu önlemek için immünsüpresif tedaviye gerek olmadan otolog olarak verilebilmeleri,

4- Hipoimmünojenik olmaları nedeni ile allojenik MKH uygulamalarına olanak sağlamaları,

5- İntravenöz yolla verildiklerinde hasarlanmış dokuya yerleşebilmeleri,

6- Etik olarak en uygun kök hücre çeşidi olmalarıdır.

Kemik iliği; MKH'leri en bol bulunduran, en güvenilir ve buna bağlı olarak da klinik uygulamalar için en sıklıkla kullanılan MKH kaynağıdır. Kemik iliğinde bulunan MKH'ler kemik iliği stromasına hematopoetik kök hücrelerin yaşamaları ve farklılaşabilmeleri için çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinler salgılamaktadırlar (Zietlow ve ark., 2008). Kemik iliği dışında MKH'lerin yağ dokusu, periosteum, synovial membran, synovial sıvı, iskelet kası, dermis, umbilikal kord kanı, plasenta, karaciğer, dalak, timus gibi çok çeşitli organ ve dokularda buldukları bilinmektedir (Chen ve ark., 2008 ; Müller ve ark., 2008; Patel ve ark., 2008; Liu ve ark., 2009). Tanımı gereği MKH'lerin kemik, kıkırdak ve yağ dokusuna dönüştüğü bilinmektedir. Bunun dışında MKH'lerin hem mezenkimal, hem de mezenkimal olmayan çok farklı hücre tiplerine dönüşebildikleri gösterilmiştir: miyosit, kardiyomiyosit, hepatosit, insülin üreten hücreler, endotelial hücreler, epitelyum hücreleri, epitelyum benzeri hücrelere, nörona farklılaştıkları gösterilmiştir (Giordano ve Galderisi, 2007; Spitkovsky ve Hesheler, 2008; Liu ve ark., 2009).

Diğer kök hücrelerde olduğu gibi MKH'lerin de hasarlanmış bölgelere göç ettikleri ve bu bölgelere yerleştikleri bilinmektedir. MKH'lerin kan-beyin bariyerini geçebilecek migrasyon yeteneğine sahip olmaları bir diğer önemli özellikleridir (Zietlow ve ark., 2008). Bu özellik invaziv cerrahiye gereksinim duymadan periferel yoldan verildiğinde santral hedeflere ulaşabileceği konusunda umut vermiştir. Böylece yerel glial skar oluşumu, yaygın glial aktivasyon ve inflamatuvar faktör salınımından kaçınılmış olacaktır (Zietlow ve ark., 2008).

2. 3. 1. MKH'lerin İşaretlenmesi ve Transplantasyonu

Transplantasyon çalışmalarında transplante edilen hücrelerin kesin olarak tanınması dışında alıcı dokuya uyum sağladıklarının ve orada yaşadıklarının gösterilmesi gereklidir. Bu amaçla transplante edilen kök hücrelerin *in vivo* tanınabilmesi için onları işaretleyen değişik yöntemler kullanılmaktadır. Hücreler transplantasyon öncesi *in vitro* olarak hücre kompartmanına özgü marker ya da reporter genlerle işaretlendikten sonra *in vivo* tanınır ya da reporter gen eksprese eden transjenik hayvandan kaynaklanan hücreler transplantasyon sonrası alıcı doku içerisinde kolaylıkla bulunabilir.

Transplante edilecek kök hücreler:

- 1- Hücre çekirdeğinin işaretlenmesi suretiyle (Bisbenzimide Hoechst floresan boyası ile),
- 2- Sitoplazmik işaretlenme suretiyle (Fast- blue, RDA, carboxyfluorescein, thiol ile),
- 3- Membran işaretlenme suretiyle (DiL, DiO, i PKH26 ile) (Honig ve Hume, 1989),
- 4- Reporter gen işaretlenme suretiyle (lacZ ve EGFP ile) alıcı doku içerisinde tanınabilir hale gelebilirler.

Transplantasyon çalışmalarının büyük çoğunluğunda verilecek olan kök hücreler sinir dokusu içerisine intraparakimal ya da direk enjeksiyon yolu ile verilmektedir. Vasküler sistem aracılığıyla intravenöz yoldan verilen kök hücrelerin metoda bağlı olarak hasarlı dokuya migre olduğu da gösterilmiştir. Transplante edilecek kök hücrelerin hacmi transplant yerinin hacmine bağlıdır. Hücre yoğunluğu ve transplante edilen toplam hücre sayısı greftleme için yeterli olacak kök hücre sayısı ve en iyi yaşam süresinin temin edilmesi gerekmektedir.

2. 4. Adipoz ve Bağ Dokusu Kökenli Kök Hücreler

MKH'ler veya stromal hücreler, kemik, kıkırdak, kas, stromal hücreler, tendon, bağ dokusu da dahil olmak üzere mezodermal olarak türetilmiş dokulara farklılaşma yeteneği ile kendini yenileyen hücrelere sahiptir (Friedenstein ve ark., 1976; Pereira ve ark., 1995; Deans

ve Moseley, 2000; Erices ve ark., 2000; Liechty ve ark., 2000; Zhao ve ark., 2002). Bu multipotent hücreleri çeşitli yetişkin ve göbek kordonu kanı, yağ dokusu, beyin, kemik iliği (Kİ), periferik kan, kan damarları, iskelet kası, deri, karaciğer ve plasentasından (PL) dahil olmak üzere, fetal dokulardan izole edilebilir.

MKH'ler veya kemik iliği stromal hücreleri, plastisite ve çeşitli işlevsel hücre tiplerine farklılaşabilme kabiliyetlerinden dolayı, araştırma hedefleri için gerekli olduğu kanıtlanan kolay erişilebilir non-hematopoietik kök hücrelerdir. *in vitro* olarak, fibroblastik bir morfoloji gösterirler ve hali hazırda plastik yüzeylere yapışırlar (Pittenger ve ark., 1999; Krampera ve ark., 2007). Doğası gereği, bu hücreler, heterojen bir popülasyona sahiptirler, bu sebepten onların kökenlerini tanımlayan belirli işaretleyicileri bulma sorunu vardır. MKH işaretleyicileri şunlardır: CD14, CD34, CD45 negatif ve CD44, CD54, CD90 ve Stro-1 pozitif (Barry, 2003; Bobis ve ark., 2006; Phinney, 2007). MSS ve PSS yaralanmaları fonksiyonel kayıplar ile sonuçlanır. Tedavi için çeşitli uygulamalar geliştirilmiştir. Kök/progenitor hücre tabanlı stratejilerin, onarıcı potansiyeli son zamanlarda belirgin hale gelmiştir. Böyle donör kök/progenitor hücrelerin potansiyel kaynakları, embriyonik kökenli (McDonald ve ark., 1999), fetal-kaynaklı veya yetişkin kaynaklı nöral kök/progenitor hücreleri (Pfeifer ve ark., 2004) bunların yanı sıra nöral olmayan mezenkimal stromal hücreleri içerir (MKH) (Deng ve ark., 2006).

Periferik sinir yaralanmaları genel olarak toplum için ekonomik bir yüküdür ve gelişmiş mikro cerrahi rekonstrüksiyona rağmen hasarlanan sinirlerin azalmış motor fonksiyonları ve kötü duyuşsal iyileşme nedeniyle fonksiyonel iyileşme sonuçları yetersizdir (Terenghi ve Wiberg, 2003). Bir sinir grefti nakli, sinir yaralanmaları tedavisinde özellikle sinir boşluğu oluşan yani gapli yaralanmalarda genellikle gereklidir (Dezawa ve ark., 2001; Mosahebi ve ark., 2002; Keilhoff ve ark., 2006; Pfister ve ark., 2007; Shimizu ve ark., 2007).

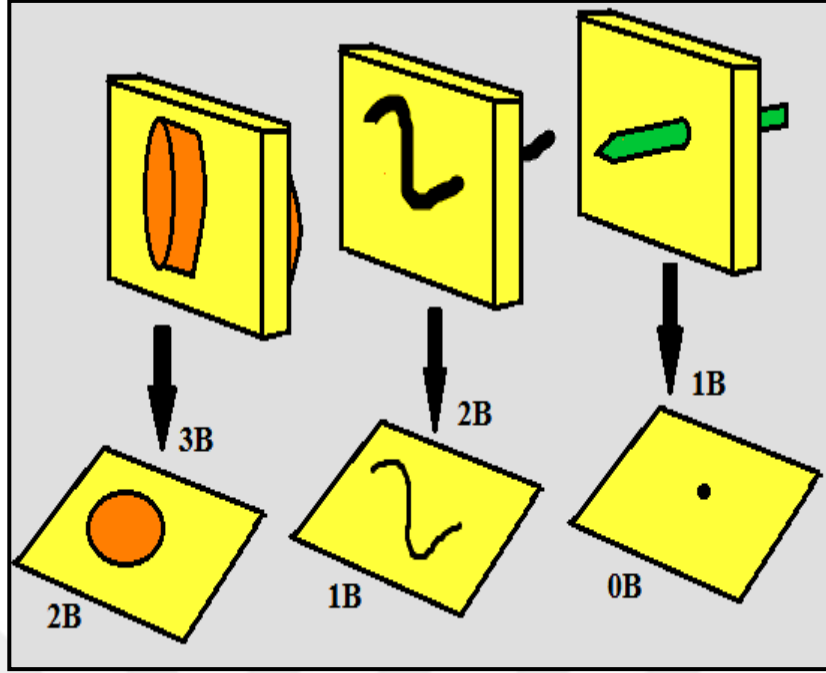
Hücre bazlı terapi, hem MSS'de hem de PSS'de, periferik sinir hasarları için, özellikle sinir boşluğu oluşan yaralanmaların tedavisinde, sinir rejenerasyonu için elverişli bir ortam oluşturmak adına bir stratejidir. Önceki kanıtlar göstermiştir ki, periferik sinir onarımında umut verici fonksiyonel sonuçlar bu hücre tabanlı sinir doku mühendisliği kullanılarak geliştirilmiştir (Dezawa ve ark., 2001; Keilhoff ve ark., 2006; Mosahebi ve ark., 2002; Pfister ve ark., 2007; Shimizu ve ark., 2007).

Son yıllarda periferik sinir yaralanmaları için çeşitli hücre bazlı tedaviler bildirilmiştir ancak optimum hücre kaynağı henüz belirlenmemiştir (Bryan ve ark., 1996; Hadlock ve ark., 2001; Murakami ve ark., 2003; Tohill ve ark., 2004; Xu ve ark., 2005; Yang ve ark., 2005; Deshpande ve ark., 2006; Matsumoto ve ark., 2006). CD34+ hücreleri ilgili ortamda güçlü vaskülojenik plastisiteye sahiptir ve bu sayede morfolojik ve fonksiyonel iyileşmelerde önemli katkıda bulunurlar (Matsumata ve ark., 2006). Tedaviler için pratik bir strateji geliştirilmesi gereklidir ve birçok cerrah bu ihtiyacı karşılamak için terapötik neovaskülarizasyonu araştırmaya başlamıştır. Kök hücre biyolojisindeki son gelişmeler, hücre temelli tedavinin fizibilite ve etkinliğini önermektedir. CD34, hematopoietik hücreler için spesifik bir belirteç olarak kullanılır ve CD34+ hücrelerinin hematopoietik kök hücreler (HKH) kadar yoğun endotel progenitör hücreleri (EPH'ler) içerdiği rapor edilmiştir (Asahara ve ark., 1997; Marion ve ark., 2005). Önceki çalışmalarda CD34+ hücrelerinin vaskülogenez mekanizması yoluyla iskemik hastalıklar için terapötik potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (Asahara ve ark., 1997; Takahashi ve ark., 1999). Endotel progenitör hücreleri (EPH'ler), endotel hücrelerine veya dokuya özgü hücrelere farklılaşabilir ve neovaskülarizasyonu teşvik edebilir. EPH'ler çeşitli vaskülarize dokuların onarımı için umut verici bir hücre kaynağıdır ve doku onarımı için hayvan deneyleri ve klinik denemelerde kullanılmıştır. Önceki çalışma sonuçları da, EPH'lerin kas iskelet sistemi ve sinirsel doku hasarının tedavisinde umut verici bir hücre kaynağı olduğunu göstermektedir (Kamei ve ark., 2017). CD45, ortak lökosit antijen belirteçidir (Berger ve ark., 1994). CD45'in intrinsek protein tirozin fosfataz (PTPaz) aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir (Tonks ve ark., 1988). Birçok hücre fonksiyon için uygun bir protein tirozin fosforilasyon seviyesinin muhafaza edilmesi önemli ve esastır. Bu enzimler, sinyal iletim yollarında, T ve B hücresi antijen reseptör sinyalleşmesinin düzenlenmesinde ve hücre döngüsü kontrolünde temel düzenleyici bileşenlerdir ve hücre büyümesi, proliferasyon, farklılaşma, transformasyon ve sinaptik plastisitenin kontrolünde önemlidir (Dixon ve Denu, 1998; Paul ve Lombroso, 2003; Zhang ve ark., 2010; Goebel-Goady ve ark., 2012). CD90, aynı zamanda Thy-1 olarak adlandırılır, başlangıçta bir timosit antijeni olarak keşfedilmiştir. İşlevleri henüz tam olarak aydınlatılmamış olsa bile, çeşitli kök hücreler ve olgun sinir hücrelerinin aksonal süreçleri için bir belirteç olarak kullanılabilir: Nörit oluşumunda, sinir rejenerasyonunda, apoptozda, metastazda, inflamasyonda ve fibrozda rol oynadığı düşünülmektedir (Ades ve ark., 1980; Nakamura ve ark., 2006).

Periferik sinir yaralanmaları, yetersiz duyuşsal iyileşme ile sonuçlanır. Cerrahi yöntemler tek başına bu duyu kayıplarının üstesinden gelmek için yeterli değildir. Tek başına bu yöntemler hücre ölümlerinin üstesinden gelemezler. Bir başka neden zayıf aksonal rejenerasyondur. Bu yüzden, kök hücre temelli bu tedavi yaklaşımının kayıpların üstesinden gelmek ve aksonal rejenerasyonu olumlu destekleyebileceğı düşünölmüştür. Bu amaçla, deneysel obezite modelinde adipoz dokusu ve periferik sinir kaynaklı (CD34+, CD45+ ve CD90+) mezenkimal kök hücrelerin, periferik sinir rejenerasyonundaki tedavi edici olası etkileri sunulan çalışmada araştırıldı.

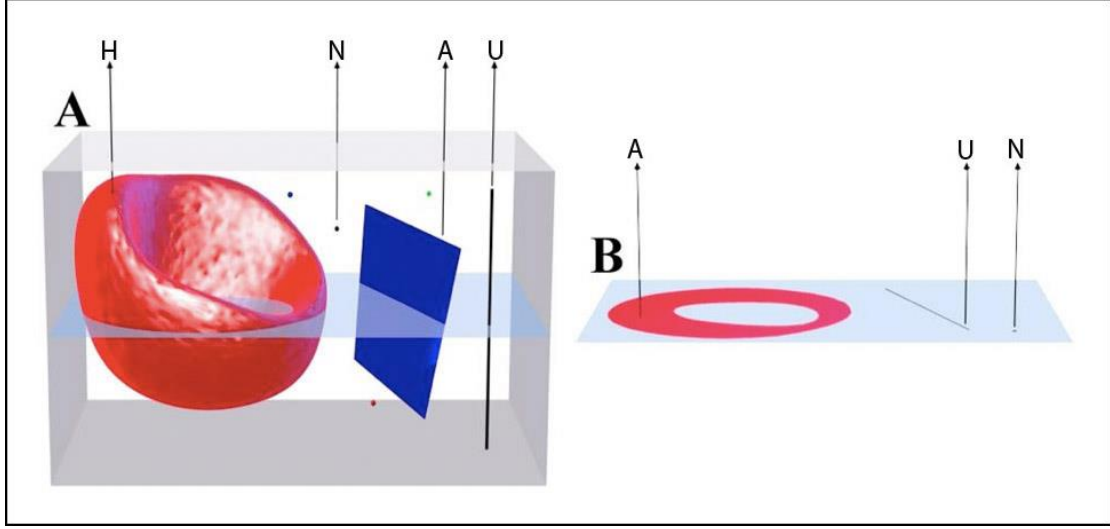
2. 5. Stereoloji

Stereoloji, üç boyutlu olan biyolojik yapılardan, iki boyutlu kesitler elde edilerek, yapının gerçekteki üç boyutlu yapısı hakkında bilgi elde etmemizi sağlayan bir ölçüm yöntemidir. Biyolojik yapıların iki boyutlu kesitlerinde yapıların izdüşümleri incelenir. Bu kesitler üç boyutlu yapının içinden geçerken, yapıda bulunan bileşenlerin boy, şekil, hacim ve yönelimlerine bağılı olarak kesit izdüşümleri oluştururlar. Bu izdüşümlerin incelenmesiyle yapılan yorumlarda hata payları olabilir. Bunlardan birincisi, boyut azalması sorunudur (Şekil 13). "n" boyutlu bir yapı, iki boyutlu kesit düzlemleri ile örneklenmek istendiğinde, kesitte "n-1" kadar boyuta sahip bir izdüşüm oluşturacaktır. Bu bağlamda yapılan çalışmalar uygun metotlar kullanılmadan yapılması halinde ne kadar yanıltıcı olabileceğini açıkça göstermektedir (Altunkaynak ve ark., 2012).



Şekil 13. Üç boyutlu yapıların kesit alınmasına bağlı boyut azalmasını göstermektedir

Bu yüzden histolojik kesitler doku bileşenlerinin sayısı hakkında tam bir bilgi veremez. Çünkü sayı parametresi sıfır boyutlu bir parametre olduğu için boyut azalma prensibinden dolayı kesitlerde temsil edilememektedir (Şekil 14). Stereolojide, bu gibi hata kaynaklarından etkilenmesi muhtemel olan yöntemler taraflı (biased) metodlar olarak isimlendirilmektedir. Dolayısıyla taraflı: "gerçek değerden sistematik sapma gösteren" anlamını katmaktadır. Stereolojik metodlar ise, tarafsız (unbiased) metodlardır. Bu problem tarafsız stereolojik metodların önemini vurgulamaktadır. Çünkü tarafsız stereolojik yaklaşımlar bu tarz sorunların üstesinden gelmek için kesitlerden kantitatif bilgiler elde etmemize imkan sağlayan disektör ve parçalama gibi çeşitli metodlar sunmaktadır (Kaplan ve ark., 2012a).



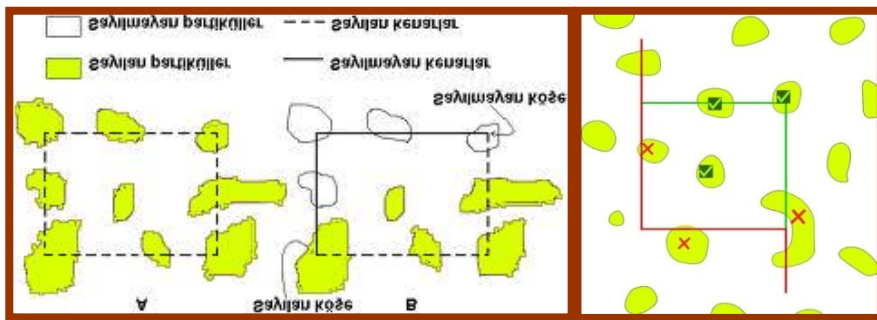
Şekil 14. Üç boyutlu yapıdan (A) geçen iki boyutlu bir düzlemde (B) biyolojik taneciklerin görünümü. Kesit düzlemi üzerinde hacim (H) alan (A) profili olarak, alan uzunluk (U) profili olarak, uzunluk ise Kta (N) profili olarak görülmektedir. Ktsal parametreler ise iki boyutlu kesit düzlemi üzerinde farklı edilebilir değildir (Kaplan ve ark., 2012a' ndan çevrilerek uyarlanmıştır)

Disektörün temel mantığı, bir birim hacim içinde, her taneciğin şekli ve yöneliminden bağımsız olarak tanecikleri saymaktır ve bu şekilde gerçek tanecik sayısına ulaşılmasını sağlayan bir yöntemdir. Fakat bazen dokuda meydana gelen şekil değişimleri, kesit kalınlığı, büzüşme-şişme miktarı gibi değerlere ihtiyaç duyulmasını gerektirir ve bu değişimler toplam partikül sayısındaki farklılık hakkında bize çok fazla bilgi vermemektedir. Böyle durumlarda hacim değişimi, taneciklerin doku içerisindeki dağılımı ve yöneliminden bağımsız, doku bileşenindeki toplam sayıyı hesaplamamızı sağlayacak farklı ve oldukça etkin bir metot kullanmamız gerekir. Bu metot, parçalama metodudur. Parçalama metodu, stereolojinin en çok kullanılan tanecik sayma (veya alan, hacim, uzunluk vb. hesaplama) yöntemidir. Dokuda meydana gelen hiçbir şekil değişiminden etkilenmemesi, kesit kalınlığı, büzüşme-şişme miktarı gibi değerlere ihtiyaç göstermemesi ve oldukça etkin bir yöntem olması açısından, en çok tercih edilen metotların başında gelir (Kaplan ve ark., 2012a; Kaplan ve ark., 2012b) (Şekil 14). Stereolojik metotlarda kullanılan yöntem ve prensipler, sistematik rastgele örnekleme mantığıyla gerçekleştirilmektedir. Tanecik sayımı, alan hesaplamaları, alan ve hacim oranları gibi hesaplamalardaki ilk şart, çalışılan yapının her aşamasında sistematik ve rastgele olarak örnekleme yapılmasıdır (Sterio, 1984; Gundersen, 1986).

Biyolojik yapılar, genellikle çok büyük olduklarından, yapıdan elde edilen tüm kesitlerin çalışmaya dâhil edilerek değerlendirilmesi, pratik olarak mümkün olmamaktadır. Sistematiiklik, önceden belirlenen sabit bir aralıkla örneklemenin yapılması, rastgelelik ise başlangıç Ktasının rastgele seçilmesini ifade eder. Böylece incelenen yapının her tarafına eşit derecede örnekleme olasılığı sağlanmış olur (Gundersen ve ark., 1999).

Stereolojide gerçeğe en yakın sonuçların elde edilmesi için, sayım sırasında her bir taneciğin sadece bir kez örnekleme gerekmektedir. 1977’de Gundersen tarafından geliştirilen tarafsız sayım çerçevesinden önce değişik sayım çerçeveleri kullanılmıştır. Ancak, bunların kullanımı sırasında taneciklerin bir defadan çok sayılabilmesi gibi hatalar ortaya çıkmıştır (Howard ve Reed, 1998; Mayhew ve Gundersen, 1996).

Tarafsız sayım çerçevesi, bir kalın ve düz, bir de ince ve kesikli iki tip çizgiden oluşan dört kenara sahip basit bir dikdörtgen veya karedir. Sayım kuralları açısından diğer sayım çerçevelerinden farklıdır. Temel olarak, ince ve kesikli çizgiler “dâhil veya serbest” kenarlar, kalın ve devamlı çizgiler de “hariç” veya “yasak” kenarlardır. Yani kesikli çizgilere rastlayan tanecikler sayılırken, devamlı çizgilere isabet eden tanecikler sayım dışı bırakılır (Şekil 15). Tarafsız sayım çerçevesi, tanecik sayımı için en etkin ve güvenilir sayım çerçevesidir. Bu çerçevenin tanecik izdüşümlerini en doğru biçimde saymayı sağladığı, geometrik hesaplamalarla da kanıtlanmıştır (Gundersen, 1977).



Şekil 15. Tarafsız sayım çerçevesinde sayılabilir ve sayılamayan hücreleri göstermektedir

3. MATERYAL VE METOT

Sıçan siyatik sinirinde ezilme tipi yaralama sonrasında adipoz ve bağ doku kökenli mezenkimal kök hücrelerin periferik sinir rejenerasyonuna etkilerinin incelenmesi amacıyla Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneş Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden, ağırlıkları 150-250 gr arasında değişen 8 haftalık 41 adet dişi *Wistar albino* cinsi sıçan temin edilerek gerçekleştirildi.

Çalışma protokolü ve deneşsel metod Ondokuz Mayıs Üniversitesi Etik Kurul tarafından onaylandı ve yine Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından PYO.TIP.1904.12.018 koduyla desteklenmiştir. Deneşler süresince Etik Kurul (2012/20 numaralı) şartlarının sağlanmasına özen gösterildi. Hayvanların bakımı, beslenme süreci Deneş Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde, diğer tüm histolojik çalışmalar ve elektrofizyolojik ölçümler Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında, filov sitometrik testler Pediatrik Alerji ve İmmünoloji Bölümünde, elektron mikroskobik analizler ise İtalya Torino Üniversitesi Cavalieri Sinir Bilimleri Enstitüsü laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

Çalışmada kullanılan deneklerden bir (1) tanesi ayrı tutularak kullanılacağı güne kadar bekletildi (allojenik donörden kök hücre eldesi için). Diğer 40 denek öncelikle eşit sayıda ve rastgele olacak şekilde obez (n=20) ve kontrol (n=20) olarak ayrıldı. Obez modeli oluşturulacak sıçanlar 8 hafta boyunca %40 yağ içeren özel bir diyet ile kontrol grubu ise 8 hafta boyunca standart ticari yem ile beslendi. Sekizinci haftanın sonunda kontrol ve obez tüm deneklerde ezilme tipi sinir hasarı oluşturuldu ve gruplar kontrol (n=10) ve tedavi (n=10) alt gruplarına ayrıldı; tedavi grupları da (n=10) kendi içerisinde yağ dokusu homojenatı (n=5) ve periferik sinir homojenatı uygulanacak (n=5) sıçanlardan oluşturuldu (Tablo 2). Hasar oluşturma işleminin hemen ardından siyatik sinirlere sinir ve yağ dokusu homejenatı enjekte edilerek iyileşme süreçleri gözlemlendi.

Tablo 2. Grupların sınıflandırılması

KONTROL GRUBU				TEDAVİ GRUBU			
Pür Kontrol		Hasar Verilen Grup		Yağ Doku Enjekte Edilen Grup		Periferik Sinir Enjekte Edilen Grup	
Kontrol (K)	Obez (O)	Kontrol (KH)	Obez (OH)	Kontrol (KY)	Obez (OY)	Kontrol (KPS)	Obez (OPS)

Hayvanlar deneye başlamadan önce ortama adaptasyonları ve gece gündüz ortamı sağlanarak, aynı bakım koşulları altında, çeşme suyu içirilerek, rahat hareket edebilecekleri büyüklükte, üzeri hava alabilecek şekilde kapatılmış kafesler içerisinde beşerli gruplar halinde tutuldu. Denekler bu süre boyunca Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde muhafaza edildi.

%40 yağ içeren yüksek yağlı diyet; standart toz sıçan yemine hayvansal yağ ilave edilerek hazırlandı. Hayvansal yağ sıcak su ile eritildikten sonra toz sıçan yemi ile karıştırıldı ve karışım pelet haline getirilerek kurutuldu (Altunkaynak ve ark., 2008). Obez ve kontrol grubundaki deneklerin haftalık kilo alımları kaydedilerek izlendi. Sekiz hafta sonunda deney ve kontrol grubuna ait deneklerin BKİ hesaplamaları yapılarak obez olup olmadıklarına karar verildi (Ersoy ve Çakır, 2007; Altunkaynak ve ark., 2008). Deneysel hayvan obezite modelinde BKİ hesaplanırken boy olarak burun ucu ile kuyruk başlangıcı arası mesafe referans alındı. Bu şekilde elde edilen ağırlık ve boy parametreleri kullanılarak deneklerin BKİ'leri hesaplandı. BKİ değeri 5 kg/m²'den büyük olan denekler obez kabul edildi. Sekiz haftalık süre sonunda deney grubundaki sıçanlardan, belirtilen hesaplama yöntemlerine göre obez kabul edilmeyenler çalışmadan çıkarıldı.

3. 1. Grupların Oluşturulması

Çalışmalar için deney hayvanları aşağıda belirtildiği gibi gruplara ayrıldı:

Kontrol grubu;

Grup 1; Kontrol Grubu (K): 8 hafta boyunca standart yem ile beslenen ve sağ arka üye üzerinde siyatik sinir hasarı oluşturulmayan grup (n:5).

Grup 2: Kontrol Hasarlı Grup (KH): 8 hafta boyunca standart yem ile beslenen ve anatomik pozisyonda iken sağ arka üye üzerinde siyatik sinir hasarı oluşturulan grup (n:5).

Grup 3: Obez Kontrol Grubu (OK): 8 hafta boyunca yüksek yağ içerikli (%40 yağ içeren) diyet ile beslenip obez yapılan vesağ arka üye üzerinde siyatik sinir hasarı oluşturulmayan grup (n:5).

Grup 4: Obez Hasarlı Grup (OH): 8 hafta boyunca yüksek yağ içerikli (%40 yağ içeren) diyet ile beslenip obez yapılan ve anatomik pozisyonda iken sağ arka üye üzerinde siyatik sinir hasarı oluşturulan grup (n=5).

Tedavi grubu;

Grup 5: Kontrol Hasarlı Periferik Sinir Grubu (KPS): 8 hafta boyunca standart yem ile beslenen ve anatomik pozisyonda iken sağ arka üye üzerinde siyatik sinir hasarı oluşturulan ve ardından insülün iğnesi ile 1mm sinir içerisine perinöryuma 0.5 ml periferik sinir homejanatı enjekte edilen grup (n:5).

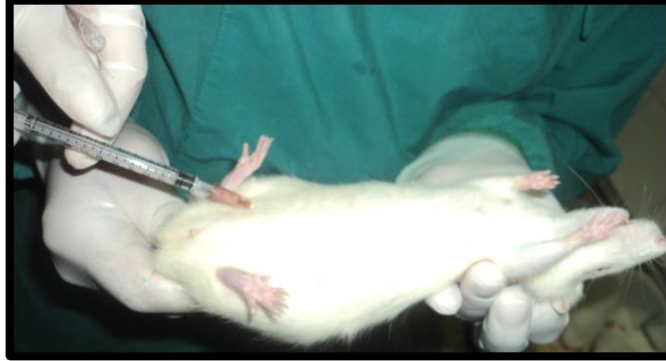
Grup 6: Kontrol Hasarlı Yağ Grubu (KY): 8 hafta boyunca standart yem ile beslenen ve anatomik pozisyonda iken sağ arka üye üzerinde siyatik sinir hasarı oluşturulan ve ardından insülün iğnesi ile 1mm sinir içerisine perinöryuma 0.5 ml yağ doku homejanatı enjekte edilen grup (n:5).

Grup 7: Obez Hasarlı Periferik Sinir Grubu (OPS): 8 hafta boyunca yüksek yağ içerikli (%40 yağ içeren) diyet ile beslenip obez yapılanve anatomik pozisyonda iken sağ arka üye üzerinde siyatik sinir hasarı oluşturulan ve ardından insülün iğnesi ile 1mm sinir içerisine perinöryuma 0.5 ml periferik sinir homejanatı enjekte edilen grup (n:5).

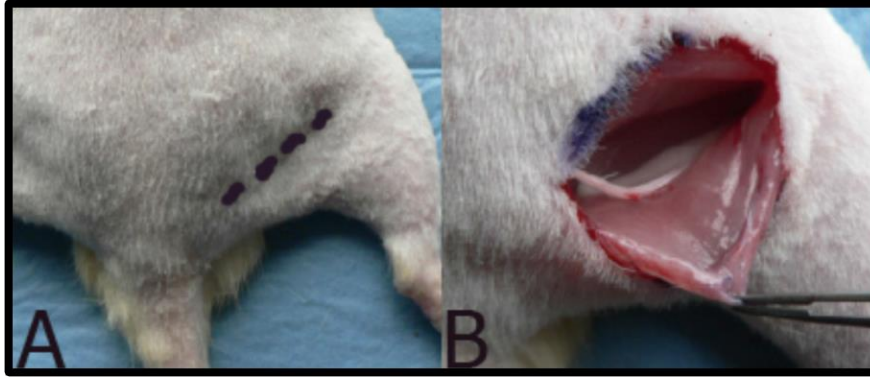
Grup 8: Obez Hasarlı Yağ Grubu (OY): 8 hafta boyunca yüksek yağ içerikli (%40 yağ içeren) diyet ile beslenip obez yapılan ve anatomik pozisyonda iken sağ arka üye üzerinde siyatik sinir hasarı oluşturulan ve ardından insülün iğnesi ile 1mm sinir içerisine perinöryuma 0.5 ml yağ doku homejanatı enjekte edilen grup (n:5).

3. 2. Cerrahi İşlemler (Siyatik Sinir Hasarının Oluşturulması, Siyatik Sinir Diseksiyonu ve Kök Hücre Homojenatlarının Hazırlanması)

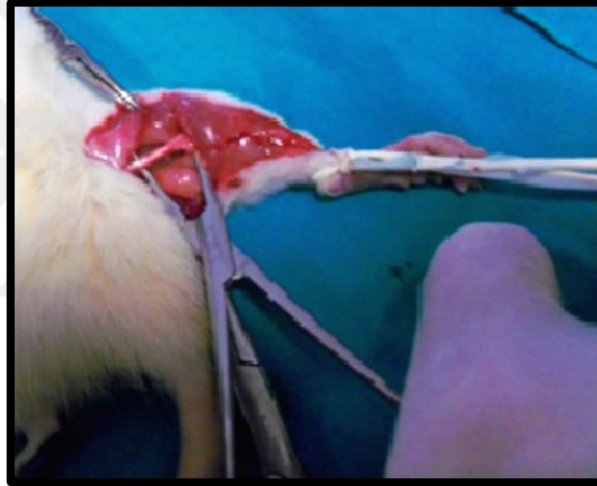
Çalışmadaki tüm cerrahi işlemler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Siyatik sinir hasarı oluşturulacak gruplara deneyin 8. haftası sonunda operasyon yapılmaya başlandı. Denekler Ketamin® (Ketasol 90mg/kg, Richter Pharma AG, Weis-Avusturalya) ve Xylazin® (Rompun 10mg/kg, Bayer, Almanya) kullanılarak intraperitoneal (i.p) olarak (Şekil 13) anesteziye alındı. Denekler ketamin–ksilazin karışımı ile anestezi altına alındıktan sonra gluteal ve uyluk bölgeleri tıraş edildi ve prone pozisyonda ayakları operasyon masasına tespit edildi. Sonrasında sağ bacakları tıraş edilerek povidon iodine ile cerrahi alan temizliği yapıldı ve gluteal bölgeden ince bir insizyonla cilt açıldı ve biceps femoris kası altından küt diseksiyon ile siyatik sinire ulaşıldı (Şekil 14-A,B). Biceps femoris kası, femur ve diz eklemi posterior sınırı boyunca küt diseksiyonla açıldı ve kenarları ekarte edilerek siyatik sinir ortaya çıkarıldı. Daha sonra sinir ince uçlu bir diseksiyon makası yardımıyla, siyatik çentikten popliteal alandaki dallanma bölgesine kadar çevre dokulardan serbestleştirildi (Şekil 15).



Şekil 13. Sıçanların ketamin–ksilazin karışımı ile i.p olarak anestezi altına alınması



Şekil 14. Siyatik sinir diseksiyonu. **A.** Cilt insizyonunun planlanması **B.** Biceps femoris kasının künt diseksiyon ile açılması sonucu sinirin ortaya konması



Şekil 15. Biceps femoris kası altından künt diseksiyon ile siyatik sinire ulaşılmasını ve sinirin çevre dokulardan serbestleştirilmesini göstermektedir

K ve OK denekleri; 8. haftanın sonunda alındı, bahsedildiği üzere künt diseksiyonla siyatik sinirleri açılarak sinir üzerine hiçbir ezme hasarı uygulanmadan sağ siyatikten ENMG kayıtları alındı. Bu gruplardan ENMG kayıtları alındıktan sonra sinirler diseke edildi. Diseke edilen sinirden popliteal fossaya en yakın olan kısımdan yaklaşık 1 cm uzunluğunda parçalar, periferik sinir dokusundaki mezenkimal kök hücre potansiyellerinin Facs ile belirlenebilmesi için serum fizyolojik (SF) içerisine konuldu, böylece dokunun temizlenmesi-yıkanması sağlandı. Sinirde kalan uçtan siyatik çentiğe doğru 1 cm lik parçalar her bir denek için ayrı

ayrı etiketlenerek E.M takip işlemleri için gluteraldehit içerisine konuldu. Sonra homojenat eldesi için SF içerisine alınan sinir doku örnekleri hızlı bir şekilde gruplarına göre ayrı falkon tüplere alındı, her bir tüp içerisine 0.1 mg albümin (Albumin, From Bovine Serum; Sigma) (Şekil 16-A) ve 2ml medyum (Dulbecco's Modified Eagles Medium (D-MEM), Sigma) (Şekil 16-B) eklendi, tüpler vortex (Vortex, Velp Scientifica) (Şekil 17-A) yardımı ile çalkalandı 37° derece olan inkübatör (Sanyo CO₂ Incubator, MCO-18 AC (UV)) (Şekil 17-C) içerisinde (homojenizatörde parçalanana kadar (en fazla 1 gün)) bekletildi. Homojenat elde etmek için inkübatörde bekletilen tüpler içerisindeki doku, homojenizatör (Heidolph Silentcrusher M.) (Şekil 17-B) yardımı ile 7,000 devir/dakika hızda yaklaşık 3 dakika boyunca tüplerin altına buz küvetleri tutularak homojenize edildi (Şekil 16-D). Gruplardan elde edilen sinir homojenatları Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Alerji ve İmmünoloji Bölümü'ne flow sitometre analizi için götürüldü. Homojenatlardan süpernatant kısımları alınarak 5000 devir/dakikada, 5 dakika boyunca santrifuj (Hettich EBA-20 Microcentrifuge) edilerek süpernatantlar ependorf tüplerine konuldu. Süpernatantlarda mezenkimal kök hücre potansiyeli tayini yapıldı, sonuçlar grafiklendirildi.

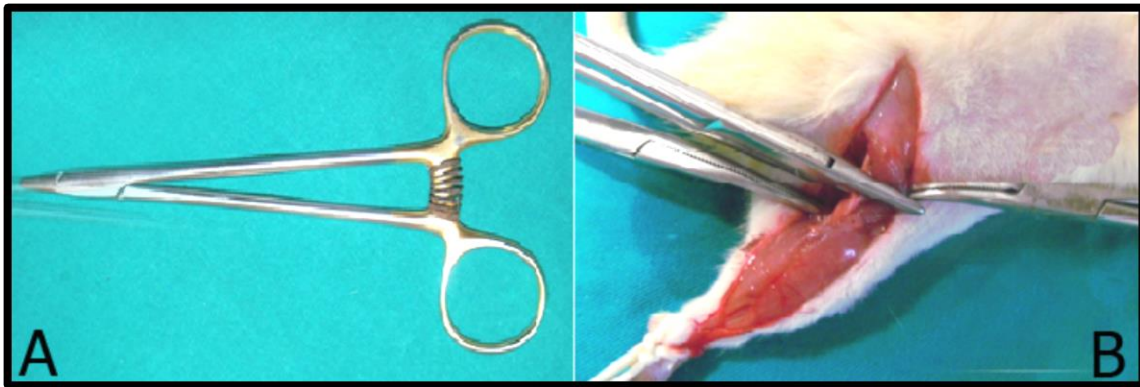


Şekil 16. A. Albumin, From Bovine Serum; Sigma **B.** Dulbecco's Modified Eagles Medium (D-MEM); Sigma gösterilmektedir



Şekil 17. A. Vortex (Vortex, Velp Scientifica) **B.** Homojenizatör (Heidolph Silentcrusher M.) **C.** İnkübatör (Sanyo CO₂ Incubator, MCO-18 AC (UV)) gösterilmektedir

KH ve OH denekleri; hasarın standart bir şekilde oluşturulabilmesi için 58 Newton basınç uygulayan portegü Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fizik Bölümü'nde özel olarak hazırlatıldı (Şekil 18-A). Sinire 58 Newton basınç uygulayan portegü yardımıyla 30 saniye (sn) süre ile ezilme tipi hasar oluşturuldu (Şekil 18-B).



Şekil 18. A.Hasarın standart bir şekilde oluşturulması için 58 Newton basınç uygulayan portegü **B.** Siyatik sinire portegü ile ezilme tipi hasar oluşturulmasını göstermektedir

Önce kas dokusu sonra deri, ipek sutur ile dikilip kapatıldı. Daha sonra denekler 4 hafta boyunca sürececek olan rejenerasyon sürecine bırakıldı. Sürecin sonunda deneklerin siyatik sinirleri, siyatik çentikten popliteal fossaya kadar diseke edilerek açıldı ve diğer dokulardan serbestlendi. Uyarı veren kanca elektrot siyatik çentikten yaklaşık 10 mm distale, hasar verilen alana taşmayacak şekilde yerleştirildi. Toprak elektrotlar ise uyarı elektrotuna 2,5 cm mesafede gastrokinemus kası yüzeyine aralarında bir cm mesafe olacak şekilde yerleştirildi (Şekil 15). 0,01 mV ile 10 mV arasında uyarı voltajı uygulanarak gastroknemius kası birleşik kas aksiyon potansiyelleri ölçüldü. Gruplardan ENMG kayıtları alındıktan sonra hasar verilen bölgenin distal uçtan başlayarak yaklaşık 1cm lik parçası E.M takibi için diseke edildi. Bu gruplardaki periferik sinir dokusunda mezenkimal kök hücre potansiyeli bakımından kontrollerden farklı bir değişim beklenmediğinden örnekler flow sitometri analizine tabi tutulmadı.

Tedavi gruplarından olan KPS ve OPS gruplarına enjekte edilecek periferik sinir homejenatını için, ayrı tutulan allojenik sağlıklı kontrol deneğin siyatik siniri daha önce de anlatıldığı gibi diseke edildi ve serum fizyolojik içerisine alındı. Sonra falkon tüpe alınarak, tüp içerisine 0.1 mg albümin (Albumin, From Bovine Serum; Sigma) ve 2ml medyum (D-MEM) eklendi, daha önce de anlatıldığı gibi tüp aynı şekilde vortex yardımı ile çalkalandı 37°C derece olan inkübatör içerisinde bekletildi. Tüp içerisindeki periferik sinir dokusu, homojenizatör yardımı ile 7000 devir/dakika hızda yaklaşık 3 dakika boyunca tüpün altına buz küvetleri tutularak homojenize edildi. Bu allojenik deneğin periferik sinir dokusundaki mezenkimal kök hücre potansiyeli, kontrollerden farklı beklenmediğinden örnekler flow sitometri analizine tabi tutulmadan hasar alanına enjekte edildi ve bu gruplardaki denekler rejenerasyon sürecine bırakıldı.

Yine tedavi gruplarından olan KY ve OY gruplarına enjekte edilecek yağ doku homejenatı için ise, ayrı tutulan allojenik sağlıklı kontrol deneğin omentum bölgesi açılarak buradan yağ dokuları toplandı ve serum fizyolojik içerisine alındı. Sonra falkon tüpe alınarak, tüp içerisine 0.1 mg albümin (Albumin, From Bovine Serum; Sigma) ve 5 ml medyum (D-MEM) eklendi, daha önce de anlatıldığı gibi tüp aynı şekilde vortex yardımı ile çalkalandı 37° derece olan inkübatör içerisinde (homojenizatörde parçalanana kadar (en fazla 1 gün)) bekletildi. Tüp içerisindeki yağ doku, homojenizatör yardımı ile 7000 devir/dakika hızda yaklaşık 3 dakika boyunca tüpün altına buz küvetleri tutularak homojenize edildi.

KPS ve OPS deneklerinde de siyatik sinir hasarı diğer gruplarda bahsedildiği gibi oluşturuldu ve ardından insülün iğnesi ile epinöryumun 1mm altına allojenik sağlıklı kontrol bir denekten elde edilen sinir dokusu homejanatı 0.5 ml enjekte edilerek ameliyat bölgesi kapatıldı ve rejenerasyon sürecine bırakıldı. Rejenerasyon süreci bitiminde daha önce de bahsedildiği gibi ENMG kayıtları alındıktan sonra hasar verilen bölgenin distal ucundan başlayarak toplam yaklaşık 2 cm uzunluğunda siyatik sinir parçası diseke edildi. Distal uçtan başlayarak yaklaşık 1 cm lik parça E.M takibi için, diğer yaklaşık 1 cm lik parça uygulanan tedaviden sonra ilgili doku homejenatındaki mezenkimal kök hücre potansiyellerinin belirlenmesi amacıyla, flow sitometre analizi için diseke edildi.

KY ve OY denekleri de siyatik sinir hasarı diğer gruplarda bahsedildiği gibi oluşturuldu ve ardından insülün iğnesi ile 1mm sinir içerisine-perinöryuma sağlıklı allojenik kontrol denekten elde edilen yağ dokusu homejanatı 0.5 ml enjekte edilerek ameliyat bölgesi kapatıldı ve rejenerasyon sürecine bırakıldı. Rejenerasyon süreci bitiminde gruplardan ENMG kayıtları alındıktan sonra hasar verilen bölgenin distal ucundan başlayarak toplam yaklaşık 2 cm uzunluğunda siyatik sinir parçası diseke edildi. Distal uçtan başlayarak yaklaşık 1 cm lik parça E.M takibi için, diğer 1 cm lik parça uygulanan tedaviden sonra ilgili doku homejenatındaki mezenkimal kök hücre potansiyellerinin belirlenmesi amacıyla, flow sitometre analizi için diseke edildi.

3. 3. Flow Sitometrik Analizler

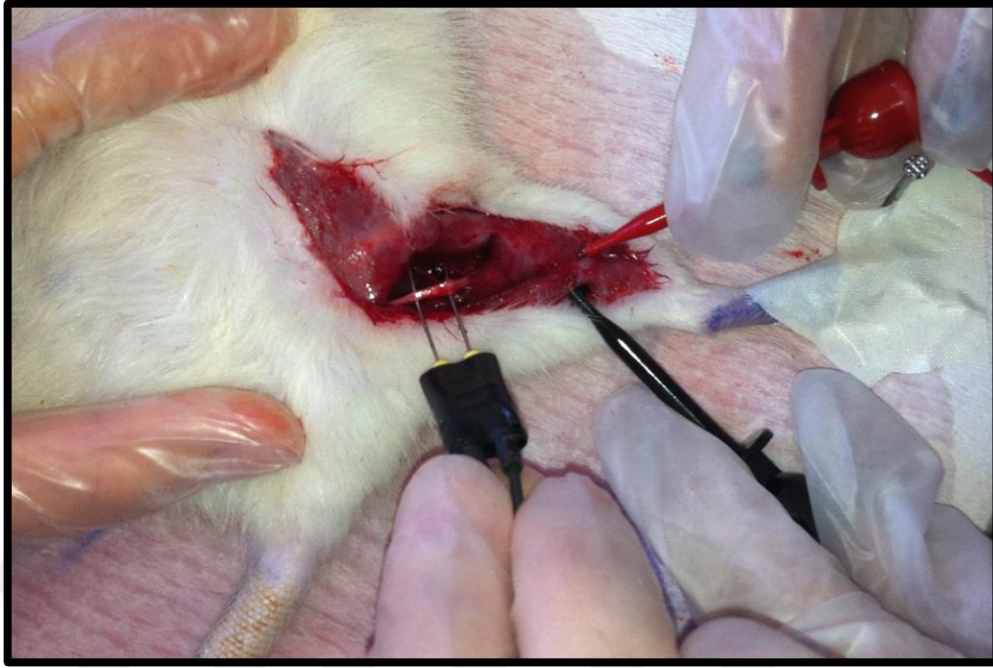
Flow Sitometrik Analizler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Alerji ve İmmünoloji Bölümünde yapıldı. Analiz için Facs Calibur flow cytometer (Becton-Dickinson, Heidelberg, Germany) cihazı kullanıldı. Flow sitometre analizleri; K, OK, KH, OH, KPS, OPS, KY ve OY gruplarından diseke edilen sıçan siyatik sinirindeki tedavi öncesi ve sonrası mezenkimal kök hücre potansiyellerinin belirlenebilmesi ve bu potansiyellerin kontrol ve tedavi grupları arasında nasıl değiştiğinin değerlendirilebilmesi için CD34, CD45, CD90 işaretleyicileri kullanılarak yapıldı. Bu dokulardan elde edilen izole edilmiş mononükleer hücrelerin filow sitometresi, direkt olarak florokrom-bağlı moKlonal antikorlar olan CD45, CD34 ve CD90 ile gerçekleştirildi ve karşılık gelen izotipi ile kontrol edildi (fare kökenli IgG1, IgG2a, IgG2b, hepsi: Pharmingen, Heidelberg, Germany). Numune başına

5×10^4 hücre, 30 dakika boyunca, uygun bir antikor karışımının 5 μ l ile 50 μ l bir hacim içinde boyandı. Tüm bekletme işlemleri, soğuk PBS içinde / % 0.1 fetal buzağı serumunda (FCS) takip edildi. Boyanan hücreler daha sonra, 200 μ l PBS /% 0.1 FCS içinde yeniden süspanse edildi ve daha sonra Facs Calibur flow sitometresinde (Becton-Dickinson, Heidelberg, Almanya) analiz edildi. Örnek başına 1×10^4 hücre toplamı, spesifik boyama için değerlendirildi. CD45, CD34+ ve CD90+ mezenkimal kök hücrelerin yüzdeleri belirlendi.

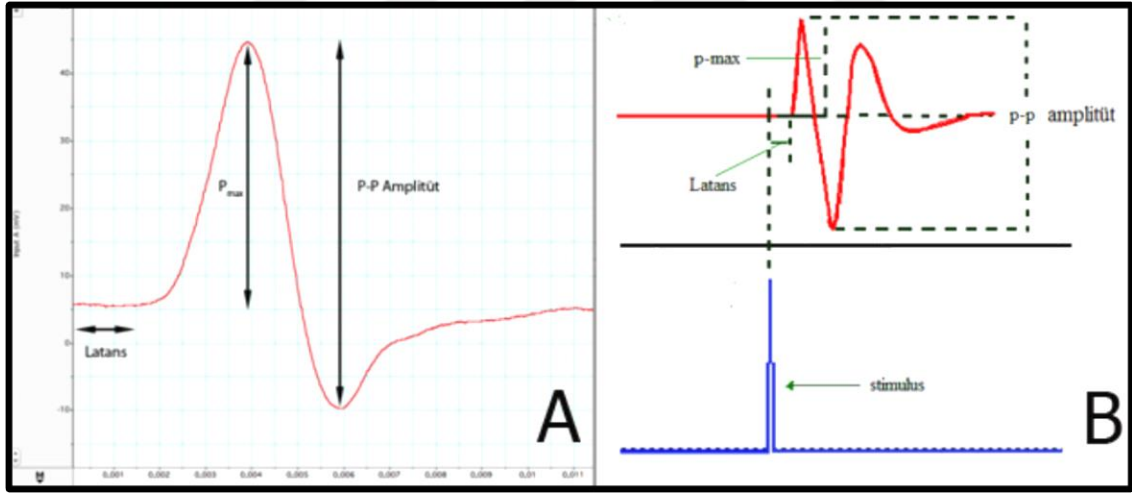
3. 4.Elektrofizyolojik Testler

Elektrofizyolojik analizler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Elektronöromiyografi (ENMG) testleri için bilgisayar ortamında Scope (ver. 3.9.2, AD Instruments) programı kullanıldı. Sinir ileti hızı ve ENMG ölçümleri; kontrol grubunda, hasar grubunda ve hasar+tedavi gruplarında rejenerasyon süreci sonrası denekler sakrifiye edilmeden önce elektrofizyolojik analizleri yapıldı.

Zaten intraperitoneal anestezi altında bulunan sıçanların sağ siyatik sinirleri, siyatik çentikten trifukasyon bölgesine kadar disseke edilerek etraftaki bağ dokudan serbestleştirildi ve bu şekilde görünür hale getirildi. Siyatik çentikten yaklaşık 10 mm distale aynı zamanda ezilme hasarı oluşturulan alanın 5 mm proksimaline uyarı veren kanca elektrot yerleştirildi. Toprak elektrotlar ise uyarı elektrotuna 2,5 cm mesafede gastrokinemus kası yüzeyine aralarında 1 cm mesafe olacak şekilde yerleştirildi (Şekil 19). 0,01 mV ile 10 mV arasında uyarı voltajı uygulanarak gastroknemius kası birleşik kas aksiyon potansiyelleri ölçüldü. Aksiyon potansiyeli eğrilerinde uyarıdan sapmanın başladığı zamana kadar geçen süre (latans), oluşan potansiyelin tepe-tepe amplitütü (p-p amplitüt) ve maksimal pozitif yöndeki tepe-taban pik değerleri (p-max) ölçüldü. Her bir denek için üçer adet aksiyon potansiyeli eğrisi çizdirilerek ortalaması alındı ve bu değerler istatistiksel olarak birbirleri ile karşılaştırıldı (Şekil 20).



Şekil 19. Siyatik sinir ve kasta elektrofizyolojik kayıtların alınması



Şekil 20. A.Kontrol grubuna ait bir ENMG kaydı üzerinde değerlendirilen parametreler B. ENMG kayıtlarında değerlendirilen parametrelerin şematik gösterimi

3. 5. Histolojik Prosedür

Elektrofizyolojik ölçümlerin ardından sakrifiye edilen deneklerden alınan siyatik sinir dokularının elektron mikroskopik takipleri yapıldı.

3. 5. 1. Elektron Mikroskopik (E.M) Takip İşlemi

Sıçanlar anestezi altındayken açılan siyatik sinir üzerine normal şartlarda E.M takibi sırasında sinirin dümdüz kalabilmesi, eğrilme ve bükülmelerin olmaması için, sinirlerin üzerine %5'lik gluteraldehit damlatılır; fakat biz bu sinirlerden kök hücre homojenatları da elde edileceğimiz için üzerine kök hücrelerin kaybına neden olacak hiçbir şey uygulamadık. Bundan dolayı gluteraldehit uygulamadan siyatik sinir dokuları çıkarıldı. Daha sonra E.M için ayrılan parça sinirler, gluteraldehite alınarak +4° derece buzdolabında E.M takip işlemlerinin yapılacağı güne kadar (3 günü geçmeyecek şekilde) bekletildi. E.M takip işlemlerinin yapılacağı gün sinirler ependorflara ilgili grupları üzerlerine yazılarak alındı. Ependorflara alınan bu sinirler;

- %5'lik Gluteraldehit solüsyonu içerisinde 1 saat bekletildi.
- Süre sonunda 4x15 dakika Milloning tamponuyla yıkandı.
- Tamponla yıkamanın ardından %1 'lik osmium tetraoksit içerisinde 1,5 saat karanlık ortamda bekletildi.
- 4x15 dakika Milloning tamponuyla tekrar yıkandı ve dehidratasyon işlemine geçildi.

Dehidratasyon için;

- %50'lik asetonda 15 dakika,
- %75'lik asetonda 15 dakika,
- %95'lik asetonda 15 dakika,
- %100'lük asetonda 20 dakika,
- %100'lük asetonda 20 dakika bekletildi. Devamında;
- Propilen oksitte 20 dakika,
- Propilen oksitte 20 dakika,
- %50 Propilen oksit + %50 Araldit karışımında 1 saat,

- %100 Aralditte 1 saat boyunca infiltrasyon işlemine tabi tutuldu.

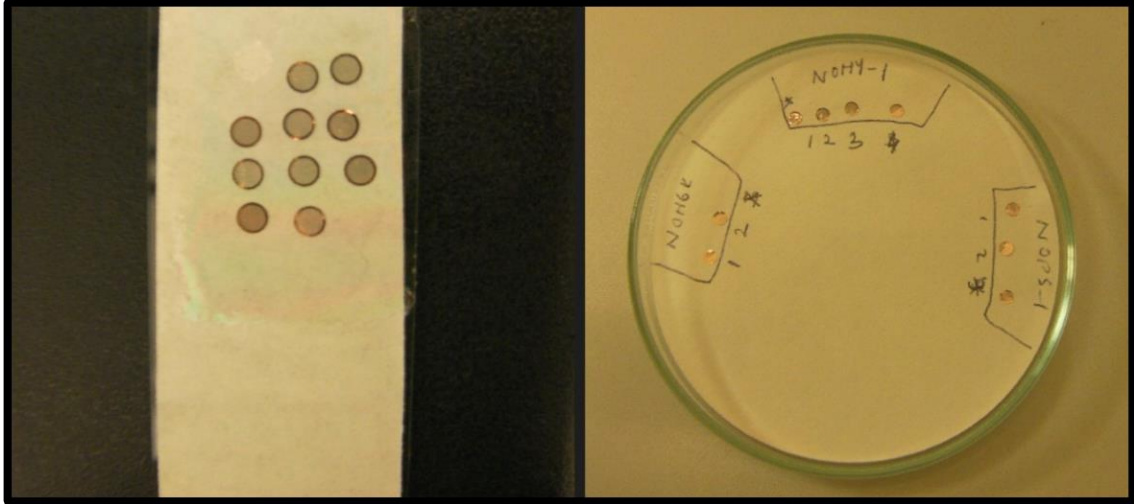
Bu süre sonunda silikon gömme kalıbı içerisinde bloklanan dokular 45 °C'deki etüve yerleştirildi ve her 30 dakikada bir 5 °C'lik ısı artışı yapılarak 62 °C'ye ulaşıldı. 62 °C'de 48 saat bekletilerek polimerizasyonu sağlanan plastik bloklardan elmas bıçakla (Şekil 21-B) ultramikrotom (Leica Ultracut UCT, Leica Microsystems GmbH, Almanya) (Şekil 21-A) yardımı ile 70 nm ve 500 nm kalınlığında kesitler alındı. 500nm kalınlığındaki kesitlerin bazıları bir başka mikrotomda (Shandon Finesse ME Microtome, Thermo Scientific), cam bıçaklar hazırlanarak alınmıştır (Şekil 22). 70 nm kalınlığındaki kesitler 200 mesh bakır grid üzerine alınarak elektron mikroskopik analiz için uranil asetat-kurşun sitrat ile boyandı (Şekil 23). 500 nm kalınlığındaki kesitler ise cam lam üzerine alınarak %1'lik toluidin mavisi ile boyandı. Boyanan ince kesitlerden elektron mikroskopunda miyelinsiz akson sayısı, yarı ince kesitlerden ise; ışık mikroskopunda miyelinli akson sayısı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümleri stereolojik metotlar kullanılarak yapıldı.



Şekil 21. A. 70 nm kalınlığında kesitlerin alındığı ultramikrotom (Leica Ultracut UCT, Leica Microsystems GmbH, Almanya); **B.** Ultramikrotomda kullanılan elmas bıçak görülmektedir



Şekil 22. 500 nm kalınlığındaki kesitlerin alındığı mikrotom (Shandon Finesse ME Microtome, Thermo Scientific) görülmektedir



Şekil 23. 70 nm kalınlığında olan kesitlerin 200 mesh'lik bakır gridlerin üzerine alınması görülmektedir

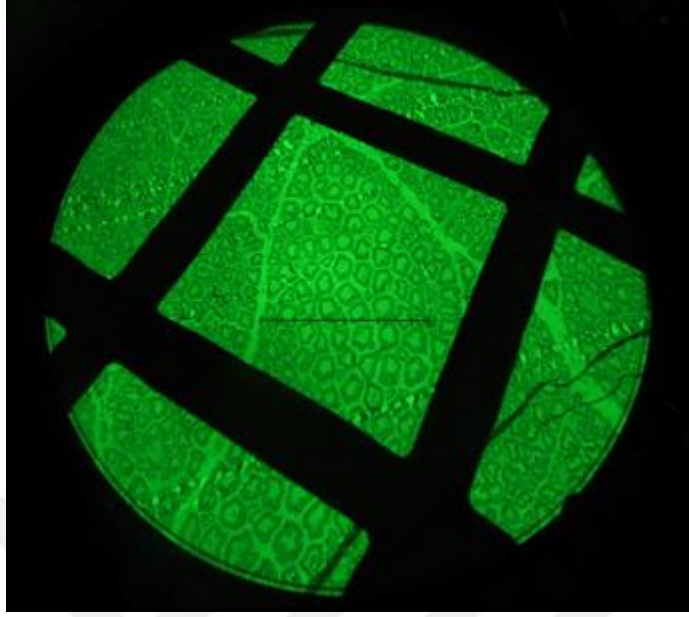
3. 5. 2. Stereolojik Analizler

İnce kesitlerin elektron mikroskopundaki analizleri İtalya Torino Üniversitesi Cavalieri Sinirbilimleri Enstitüsü laboratuvarlarında bulunan dijital transmisyon elektron mikroskopunda (JEM-1010, JEOL, Tokyo, Japan) yapıldı (Şekil 24). Analiz için stereolojik metotlardan parçalama metodu kullanıldı. Bu amaçla uranil asetat-kurşun sitrat ile boyanan gridler elektron mikroskopuna yerleştirildi. Bir sinir doku kesitinin ortalama 15 – 20 meshlik alanla kesiştiği görüldü. Pilot çalışmaya göre istatistiksel olarak kabul edilebilir bir hata katsayısı hassasiyetine ulaşabilmek için her meshten iki farklı alan örnekleme gerektiği tespit edildi. Her bir alandaki miyelinsiz aksonlar 10.000'lik büyütmede tarafsız sayım çerçevesi kullanılarak sayıldı. Belirlenen bu tarafsız stereolojik yaklaşım tüm gruplara ait sinir doku örneklerine uygulandı (Şekil 25). Sayım işlemi tamamlandıktan sonra sinir fasikülündeki toplam miyelinsiz akson sayısı aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\sum \text{Sayı}_{\text{Hesaplanan}} = \frac{\text{Alan}_{\text{Mesh}}}{2 \times \text{Alan}_{\text{S.Çerçevesi}}} \times \text{Sayı}_{\text{Örneklenen Mesh}} \times \text{Alan}_{\text{Fasikül}} \times \sum \text{Aksonsayı}_{\text{Sı Sayılan}}$$



Şekil 24. Dijital transmisyon elektron mikroskobu (JEM-1010, JEOL, Tokyo, Japan)



Şekil 25. Elektron mikroskobunda sayım işlemi. 400'lük büyütmede mikroskop ekranında kare şeklindeki bir mesh ve içerisindeki miyelinli aksonlar görülmekte. İlk olarak mesh üzerinde örneklenecek alan belirlenir. Devamında büyütme artırılarak miyelinsiz aksonlar görünür hale getirilir ve sonra bilgisayar ekranındaki sayım çerçevesi kullanılarak sayımları yapılır

Yarı ince kesitlerin ışık mikroskopik analizleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında bulunan bilgisayar destekli stereoloji çalışma istasyonunda (Stereoinvestigator 9.0. MicroBrieldField; Colchester; USA) gerçekleştirildi (Şekil 26).



Şekil 26. Bilgisayar destekli stereoloji çalışma istasyonunda stereoinvestigator görüntüsü

Adı geçen çalışma istasyonu kamera, bilgisayar, mikroskop ve yazılımdan oluşmaktadır. Miyelinli akson sayımı için yine parçalama metodu kullanılırken akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümleri için nükleatör metodu kullanıldı. Bu amaçla toluidin mavisi ile boyanmış yarı ince kesitler mikroskoba yerleştirildi. Stereoinvestigator yazılımı kullanılarak bilgisayar yardımıyla 4'lük büyütmede sinir fasikülünün etrafı çevrelendi. Daha sonra 63'lük büyütmede pilot çalışmaya göre belirlenmiş parametrelere göre alan örnekleme yapılarak her bir örneklenmiş alanda tarafsız sayım çerçevesiyle miyelinli aksonlar sayıldı. Bunun için 60 µm x 60 µm adım aralığı ve 25 µm x 25 µm tarafsız sayım çerçevesi ölçüleri kullanıldı. Dolayısıyla parçalama metodu gereğince her 3600 µm²'lik alandan 625 µm²'lik bir alan örneklenmiş oldu. Kabul edilebilir hata katsayısı sınırlarına ulaşmak için bu parametrelerin yeterli olduğu gözlemlendi. Ayrıca sayım yapılan her adımda tarafsız sayım çerçevesinin sağ üst köşesine değen en büyük çaplı aksonda nükleatör metoduyla akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümü yapıldı. Miyelinli akson sayımlarından elde edilen değerler aşağıdaki formülde yerine koyularak bir sinirdeki toplam miyelinli akson sayısı hesaplandı.

$$\text{Toplammiyelinliaksonsayısı} = \frac{625}{3600} \times \text{SayıÖrneklenenAlan} \times \text{AlanFasikül} \times \sum \text{TanecikSayılan}$$

3. 6. İstatistiksel Analiz

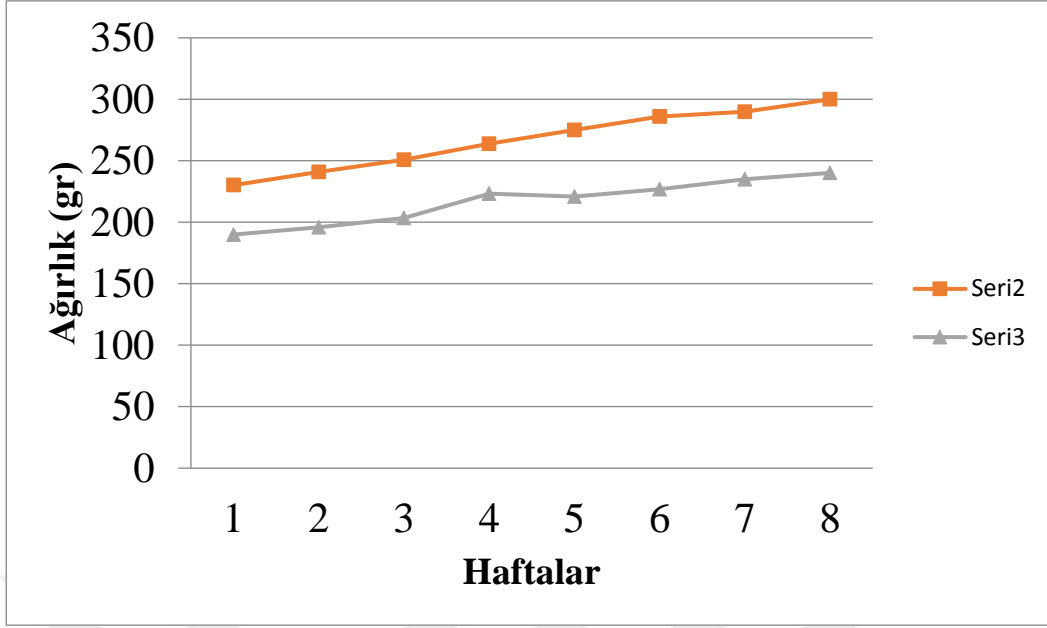
Verilerin istatistiksel analizleri SPSS® 13,0 for Windows® (Amerika) istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Çoklu grupların karşılaştırılmasında One Way ANOVA (Bonferroni, Tukey Post-Hoc Test) testi kullanıldı ve 0.05 anlamlılık derecesi (p) baz alındı.

4. BULGULAR

Çalışmada K, KH, OK, OH, KPS, KY, OPS ve OY olmak üzere sekiz grup oluşturuldu. Obezite yüksek yağlı diyetle 8 haftalık bir süreçte oluşturuldu, bu süreçte kontrol grubu standart palet yem ile beslendi ve süre sonunda siyatik sinirler incelenmek üzere çıkarıldı. KH, OH, KY, KPS, OY, OPS grupları arasında 8. hafta sonunda siyatik sinirde ezilme tipi hasar oluşturuldu ve 4 haftalık rejenerasyon süreci sonunda incelenmek üzere siyatik sinirler çıkarıldı. Her bir grupta elektrofizyolojik yöntemle sinir ileti hızı, ENMG ölçüldü. Toplam miyelinli ve miyelinsiz akson sayısı, miyelinli akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı stereolojik yöntemle hesaplandı. Ayrıca aynı kesitler üzerinde rutin histopatolojik değerlendirmeler yapıldı ve bu değerlendirmeler sonucunda aşağıdaki bulgular elde edildi.

4.1. Oluşturulan Obezitenin Değerlendirilmesi

Deney ve kontrol grubuna ait deneklerin sekiz hafta boyunca kilo alımları izlendi. YYD ile beslenen deney grubuna ait deneklerin kontrol grubu deneklerine göre daha hızlı kilo aldıkları gözlemlendi (Şekil 27). Sekiz hafta sonunda her bir deneğin BKİ hesaplaması yapıldı ve deney grubuna ait sıçanlarda deneysel obezite modelinin oluştuğu gözlemlendi.



Şekil 27. Obez ve kontrol grubu arasında ağırlık artış grafiği görülmektedir

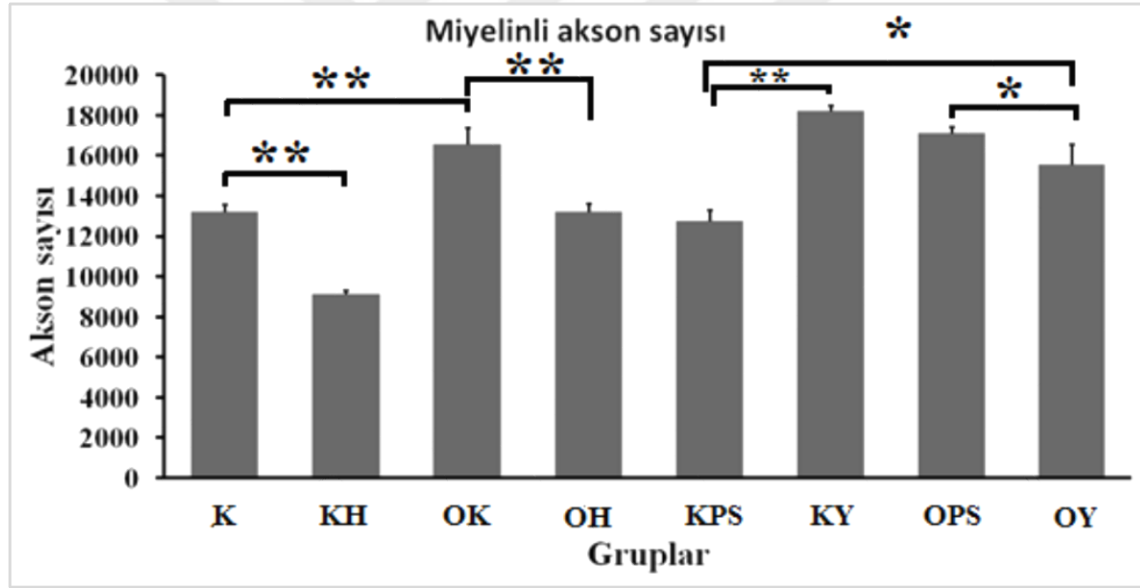
4. 2. Stereolojik Bulgular

4. 2. 1. Miyelinli Akson Sayısı Bulguları

Miyelinli akson sayısı bakımından istatistiksel olarak; K ile KH, OK, KY ve OPS grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p < 0,01$). KH ile OK, OH, KPS, KY, OPS ve OY grupları arasında ileri derecede anlamlı fark gözlemlendi ($p < 0,01$). OK ile OH ve KPS grupları arasında ileri derecede anlamlı fark vardı ($p < 0,01$). OH ile KY ve OPS grupları arasında ileri derecede anlamlı fark vardı ($p < 0,01$). KPS ile KY ve OPS grupları arasında ileri derecede anlamlı fark vardı ($p < 0,01$). KPS ile OY grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$). OPS ile OY grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$) (Tablo 3) (Şekil 28).

Tablo 3. Tüm gruplara ait miyelinli akson sayıları (SEM: Standard Error of Mean, Ortalama Standart Hata)

GRUPLAR	MİYELİNLİ AKSON SAYISI (ORTALAMA)	SEM
1. K	13198.54167	410.33929
2. KH	9149.305556	164.90125
3. OK	16580	797.28736
4. OH	13205	428.31145
5. KPS	12746.18056	568.55143
6. KY	18203.75	284.66299
7. OPS	17114.61806	312.68503
8. OY	15544.79167	1016.77969



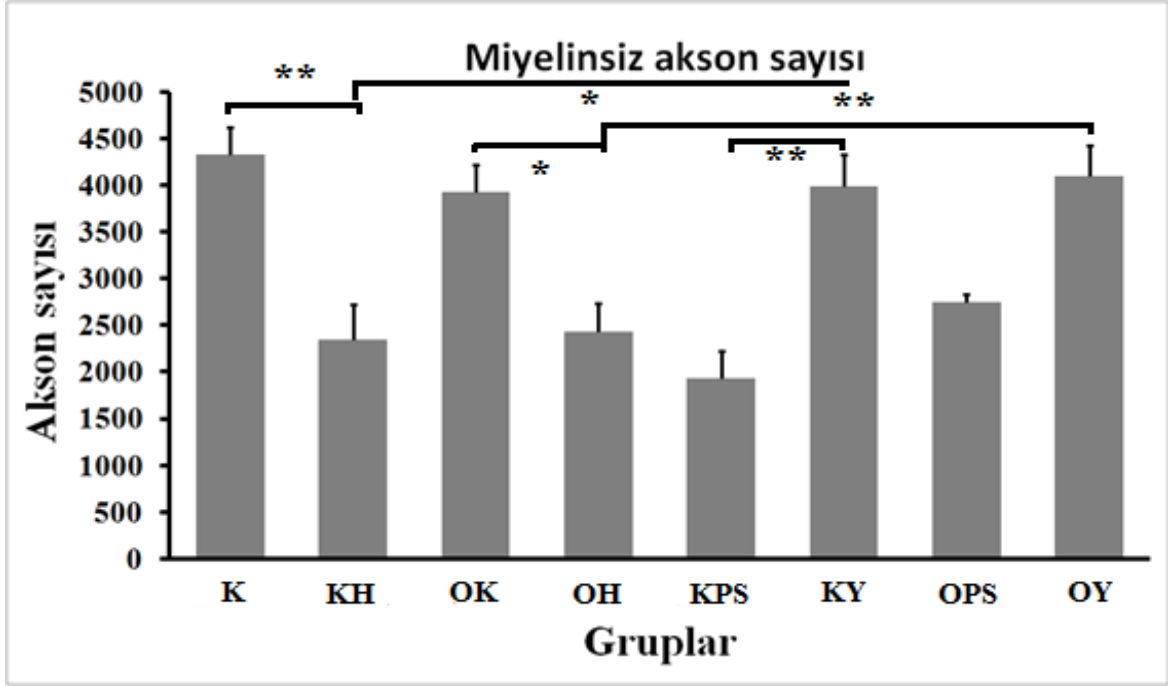
Şekil 28. Miyelinli akson sayısı bakımından grupların karşılaştırılmasını gösteren grafik. İlgili gruplar arasındaki *; $p < 0,05$ **; $p < 0,01$ istatistiksel anlamlılık seviyelerini göstermektedir

4. 2. 2. Miyelinsiz Akson Sayısı Bulguları

Miyelinsiz akson sayısı bakımından istatistiksel olarak; K ile KH, OH, KPS grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$). KH ile OY grubu arasında ileri derecede anlamlı fark gözlemlendi ($p<0,01$). OK ile KPS grubu arasında ileri derecede anlamlı fark gözlemlendi ($p<0,01$). OH ile OY grubu arasında ileri derecede anlamlı fark gözlemlendi ($p<0,01$). KY ile KPS grubu arasında ileri derecede anlamlı fark gözlemlendi ($p<0,01$). K ile OPS grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). KH ile OK grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). KH ile KPS grubu arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). KH ile KY grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). OK ile OPS grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). OK ile OH grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). OH ile OPS grubu arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). OH ile KY grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$) (Tablo 4) (Şekil 29).

Tablo 4. Tüm gruplara ait miyelinsiz akson sayıları

GRUPLAR	MİYELİNSİZ AKSON SAYISI (ORTALAMA)	SEM
1. K	4320.72	298.23556
2. KH	2349.45	368.97066
3. OK	3929.31	287.59993
4. OH	2435.31	295.06237
5. KPS	1932.75	286.38518
6. KY	3981.87	346.97165
7. OPS	2749.86	82.8429
8. OY	4094.73	332.76715



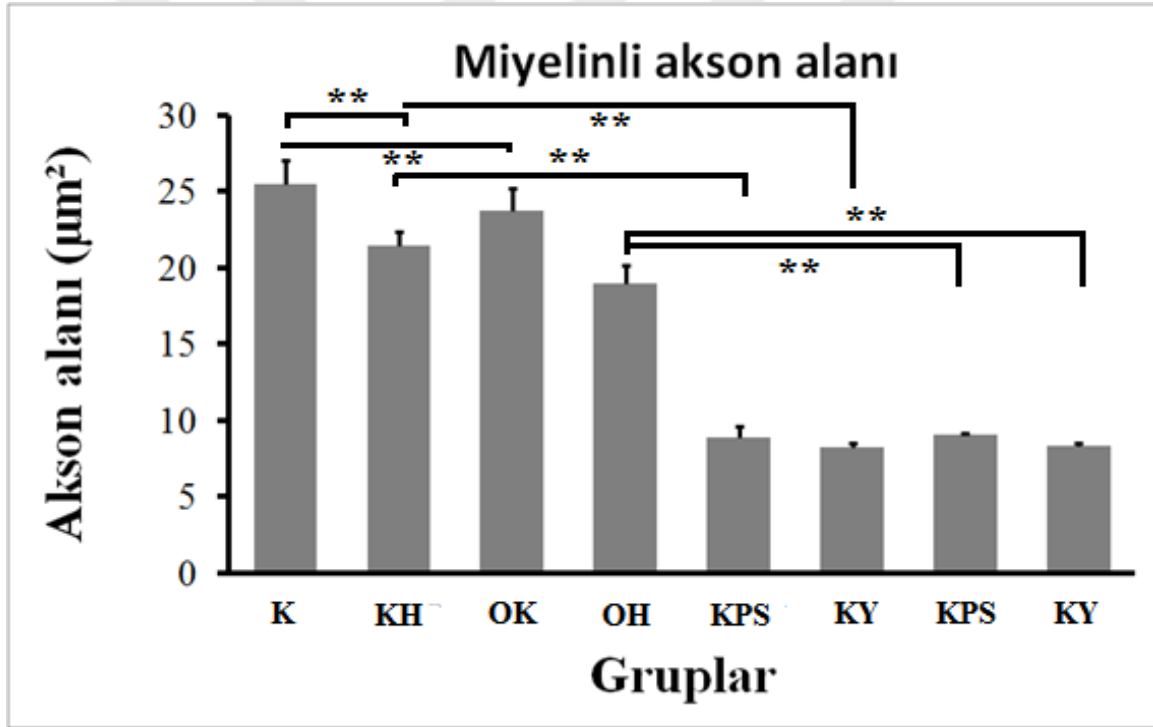
Şekil 29. Miyelinsiz akson sayısı bakımından grupların karşılaştırılmasını gösteren grafik. İlgili gruplar arasındaki *; $p < 0,05$ **; $p < 0,01$ istatistiksel anlamlılık seviyelerini göstermektedir

4. 2. 3. Akson Alanı Bulguları

Miyelinli akson alanı bakımından istatistiksel olarak; K ile KH, OK, OH, KPS, KY, OPS, OY grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p < 0,01$). KH ile OK, KPS, KY, OPS, OY grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p < 0,01$). OK ile OH, KPS, KY, OPS, OY grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p < 0,01$). OH ile KPS, KY, OPS, OY grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p < 0,01$). KPS ile KY, OPS, OY grupları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$). KY ile OPS, OY grupları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$). OPS ile OY grubu arasında anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$) (Tablo 5) (Şekil 30).

Tablo 5. Tüm gruplara ait miyelinli akson alanı bulguları

GRUPLAR	MİYELİNLİ AKSON ALANI (μm^2) (ORTALAMA)	SEM
1. K	25.4342	1.60895
2. KH	21.4564	0.90794
3. OK	23.7234	1.46024
4. OH	18.9556	1.24437
5. KPS	8.9212	0.69845
6. KY	8.25725	0.24943
7. OPS	9.02	0.17808
8. OY	8.3302	0.22333



Şekil 30. Miyelinli akson alanı bakımından grupların karşılaştırılmasını gösteren grafik. İlgili gruplar arasındaki

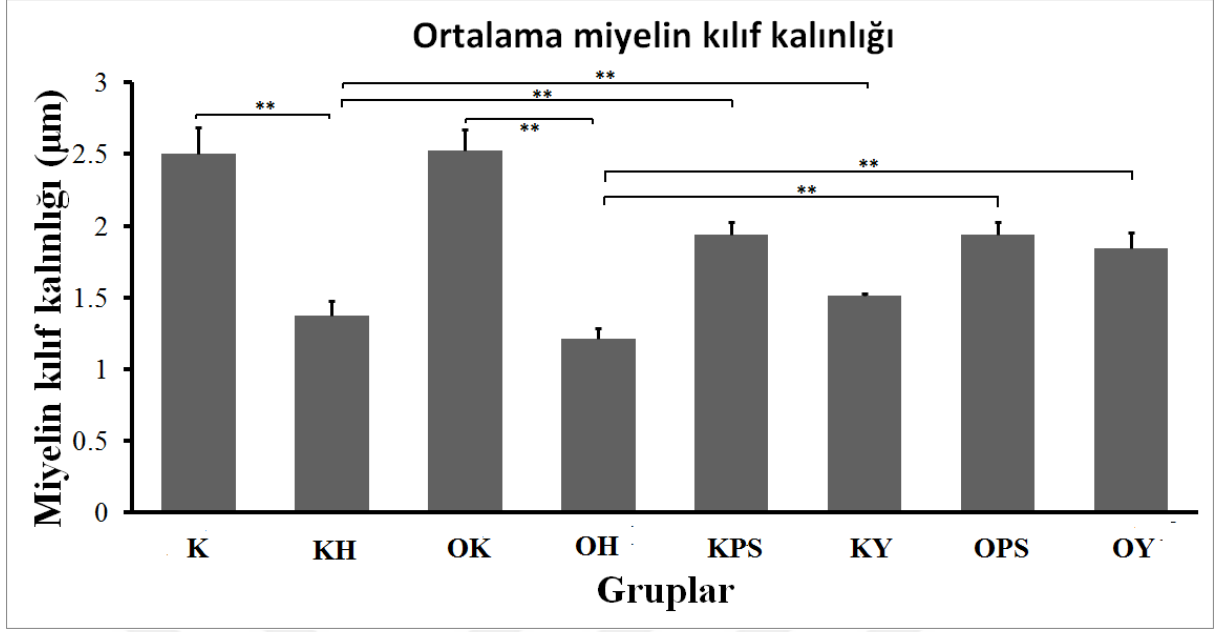
*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$ istatistiksel anlamlılık seviyelerini göstermektedir

4. 2. 4. Miyelin Kılıf Kalınlığı Bulguları

Miyelin kılıf kalınlığı bakımından istatistiksel olarak; K ile KH, OH, KPS, KY, OY grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$). KH ile OK grubu arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$). OK ile OH, KPS, KY, OPS, OY grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$). OH ile OPS, OY grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$). K ile OPS grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). KH ile OPS grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). K ile OK grubu arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). KH ile OH, KPS, KY, OY grupları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). OH ile KPS, KY grupları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). KPS ile KY, OPS, OY grupları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). KY ile OPS, OY grupları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). OPS ile OY grupları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$) (Tablo 6) (Şekil 31).

Tablo 6. Tüm gruplara ait ortalama miyelin kılıf kalınlığı bulguları

GRUPLAR	MİYELİN KILIF KALINLIĞI (μm) (ORTALAMA)	SEM
1. K	2.503107256	0.18355
2. KH	1.376708991	0.10095
3. OK	2.52891848	0.14604
4. OH	1.213880871	0.0701
5. KPS	1.940686723	0.08752
6. KY	1.509736258	0.01658
7. OPS	1.940686723	0.08503
8. OY	1.844003534	0.10942

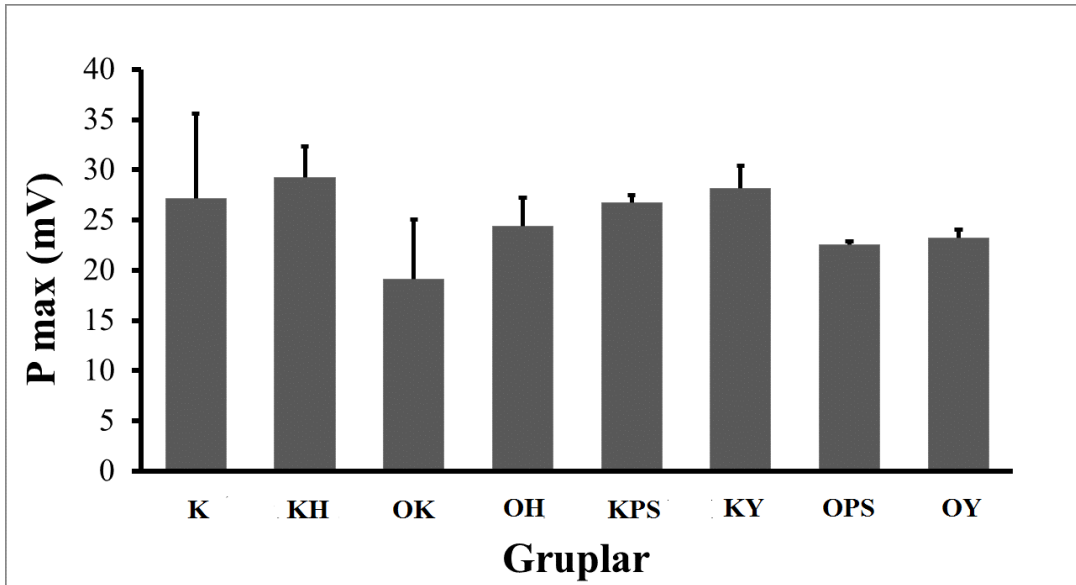


Şekil 31. Miyelin kılıf kalınlığı bakımından grupların karşılaştırılmasını gösteren grafik. İlgili gruplar arasındaki *; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$ istatistiksel anlamlılık seviyelerini göstermektedir

4. 3. Elektrofizyolojik bulgular

4. 3. 1. Amplitüt

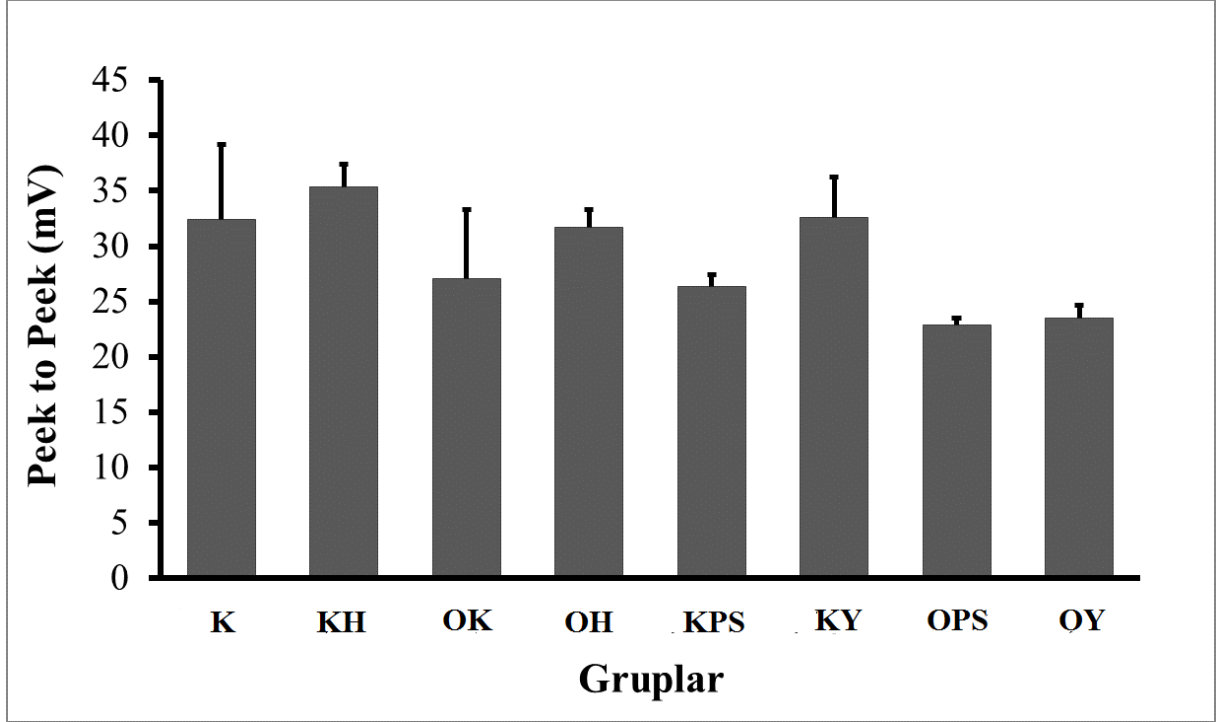
Amplitüt değerleri bakımından istatistiksel olarak; K, OK, KY, OY, KPS, OPS, KH ve OH grupları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$) (Şekil 32).



Şekil 32. Amplitüt değerleri bakımından grupların karşılaştırılması

4. 3. 2. Pozitif ve Negatif Pikler Arası Voltaj (P-P Arası Voltaj) Değerleri

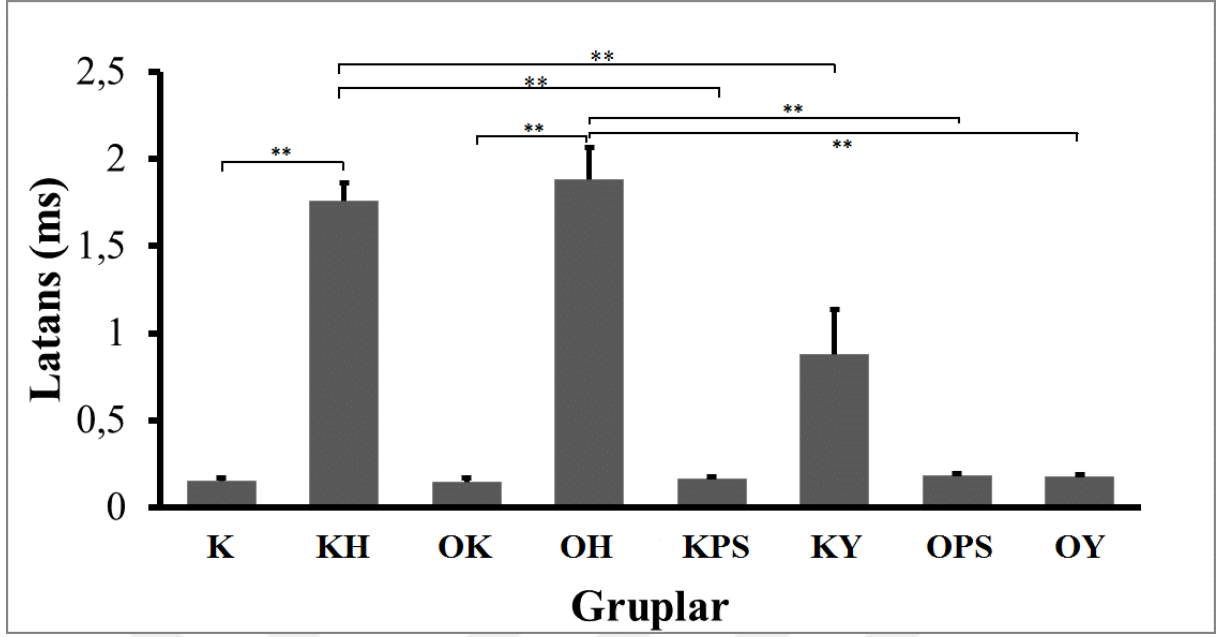
İstatistiksel olarak P-P arası mesafe bulgularında; K, OK, KY, OY, KPS, OPS, KH ve OH grupları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$) (Şekil 33).



Şekil 33. P-P Arası Mesafe değerleri bakımından grupların karşılaştırılması

4. 3. 3. Latans

Latans değerleri bakımından istatistiksel olarak; K, KY, KH ve OH grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$). OK, KY, KH ve OH grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$). KY ile diğer gruplar arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$). OY, KY, KH ve OH grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$). OPS, KY, KH ve OH grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$). KH, K, OK, KY, OY, KPS, OPS ve KH grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$) (Şekil 34).



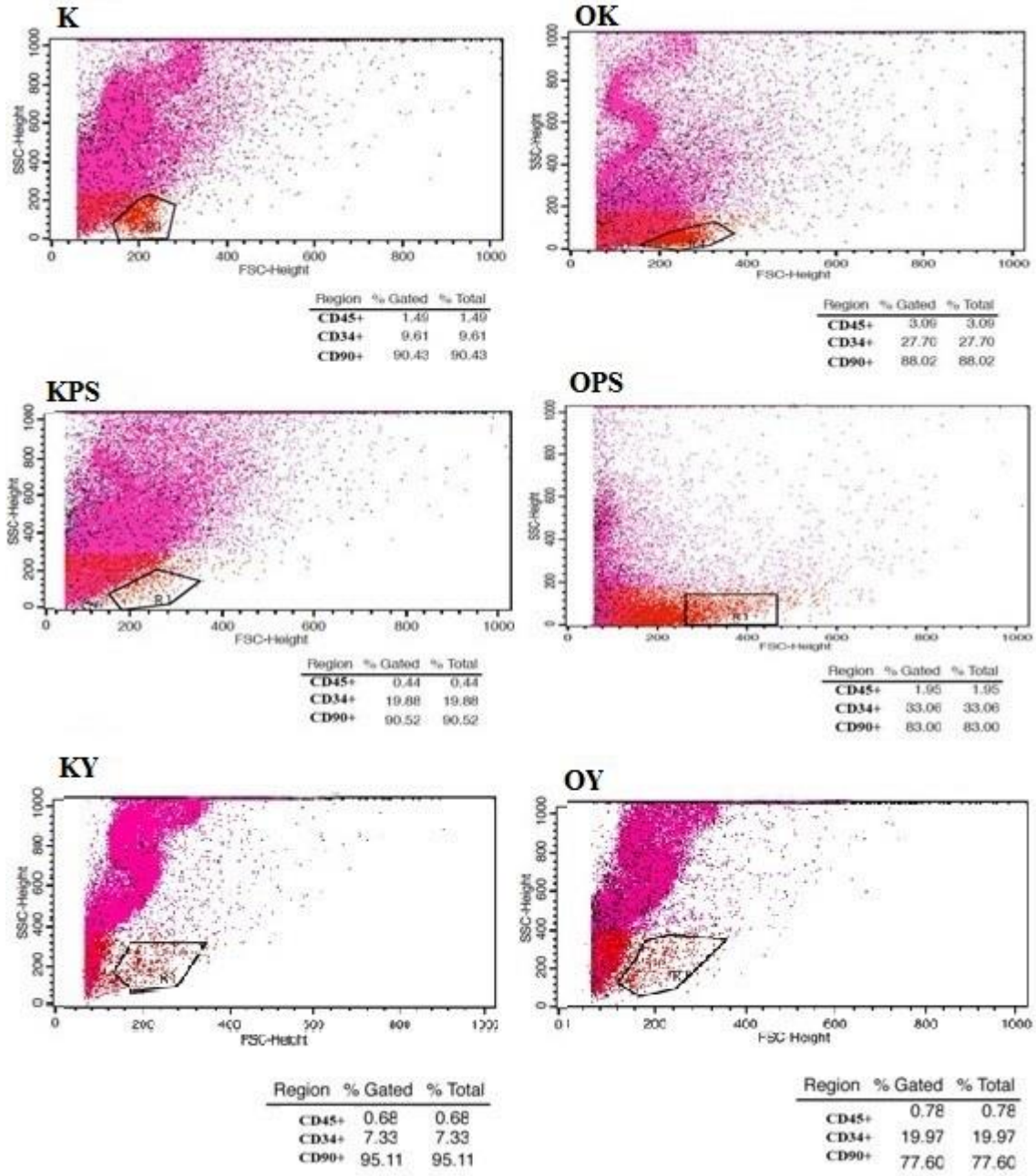
Şekil 34. Latans değerleri bakımından grupların karşılaştırılması

4. 4. Flow Sitometrik Bulgular

Flow sitometrik analiz sonucu elde edilen bulgular Tablo 7 ve Şekil 35’de sunulmuştur. Siyatik sinir örneği başına 1×10^4 hücre toplamı, spesifik boyama için değerlendirildi. CD45+, CD34+, CD90+ mezenkimal kök hücrelerin yüzdeleri belirlendi. Bu bulgulara göre; genel olarak obez gruplardaki CD45 ve CD34 yüzey markerleri açısından pozitif olan kök hücre sayılarının kontrol gruplara göre daha yüksek seviyede olduğu bulundu ($P < 0.05$). Non obez deneklerde ise CD90 açısından pozitif olan kök hücreler obez gruplara göre daha fazla sayıdaydı ($P < 0.05$). CD45 pozitif hücreler, KPS grubunda K grubuna; OPS grubunda da OK grubuna göre anlamlı ölçüde azalmıştı ($P < 0.05$). CD34 yüzey markerleri açısından pozitif olan kök hücreler obez ve özellikle de kontrol deneklerde tedavinin ardından anlamlı düzeyde artmıştı. CD90 yüzey markerleri açısından pozitif olan kök hücrelerin oranı ise non obez gruplarda tedavi sürecinde herhangi bir anlamlı değişiklik göstermedi ama yağ dokusu homojenatı ile tedavi edilen grupta bir miktar arttı ($P < 0.05$). Obez gruplarda ise CD90 pozitif hücrelerin oranı anlamlı ölçüde azaldı ($P < 0.05$).

Tablo 7. Gruplara göre sinir doku homojenatındaki mezenkimal kök hücre yüzdesi (%) bulguları

GRUPLAR	CD45+ (%)	CD34+ (%)	CD90+ (%)
1. K / KH	1.40	9.61	90.43
2. KPS	0.44	19.88	90.52
3. KY	0.68	7.33	95.11
4. OK / OH	3.09	27.70	88.02
5. OPS	1.95	33.06	83.00
6. OY	0.78	19.97	77.60

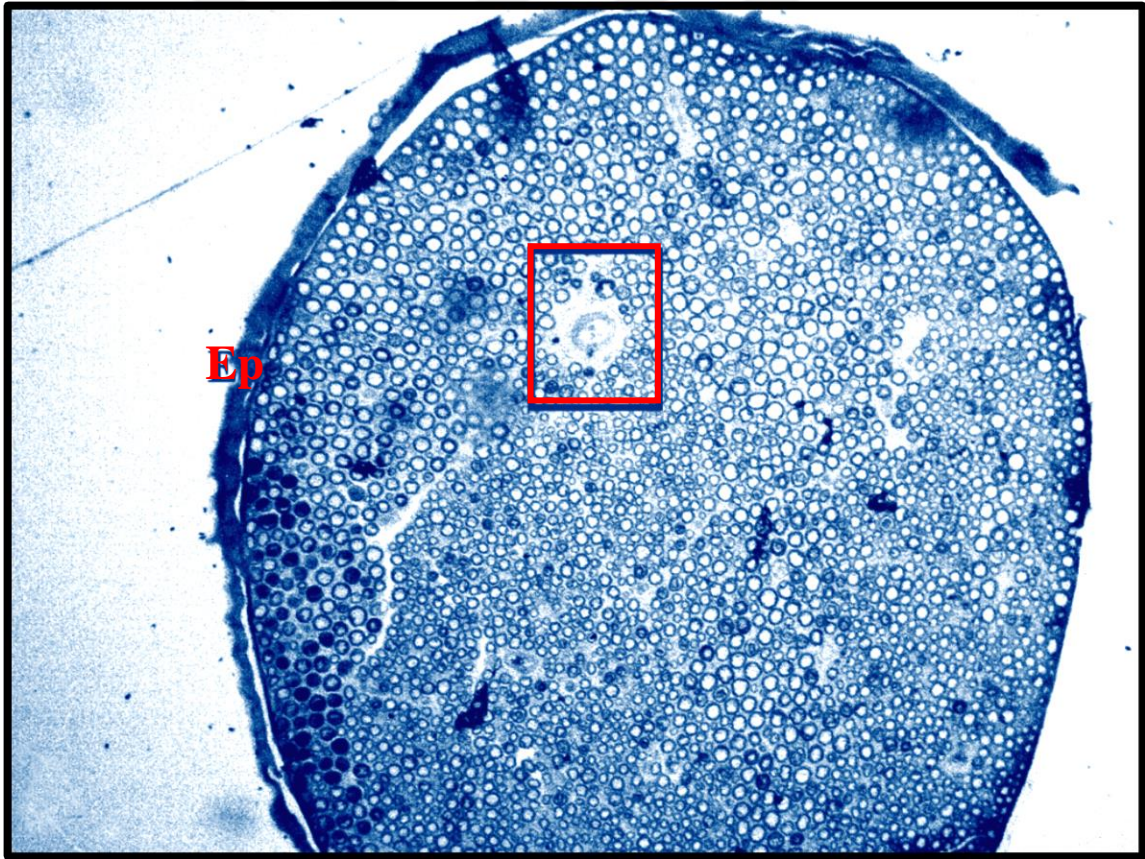


Şekil 35. K, KPS, KY, OK, OPS ve OY gruplarına ait periferik sınırlardan elde edilen doku homojenatlarındaki mezenkimal kök hücrelerin yüzdeleri gösterilmektedir

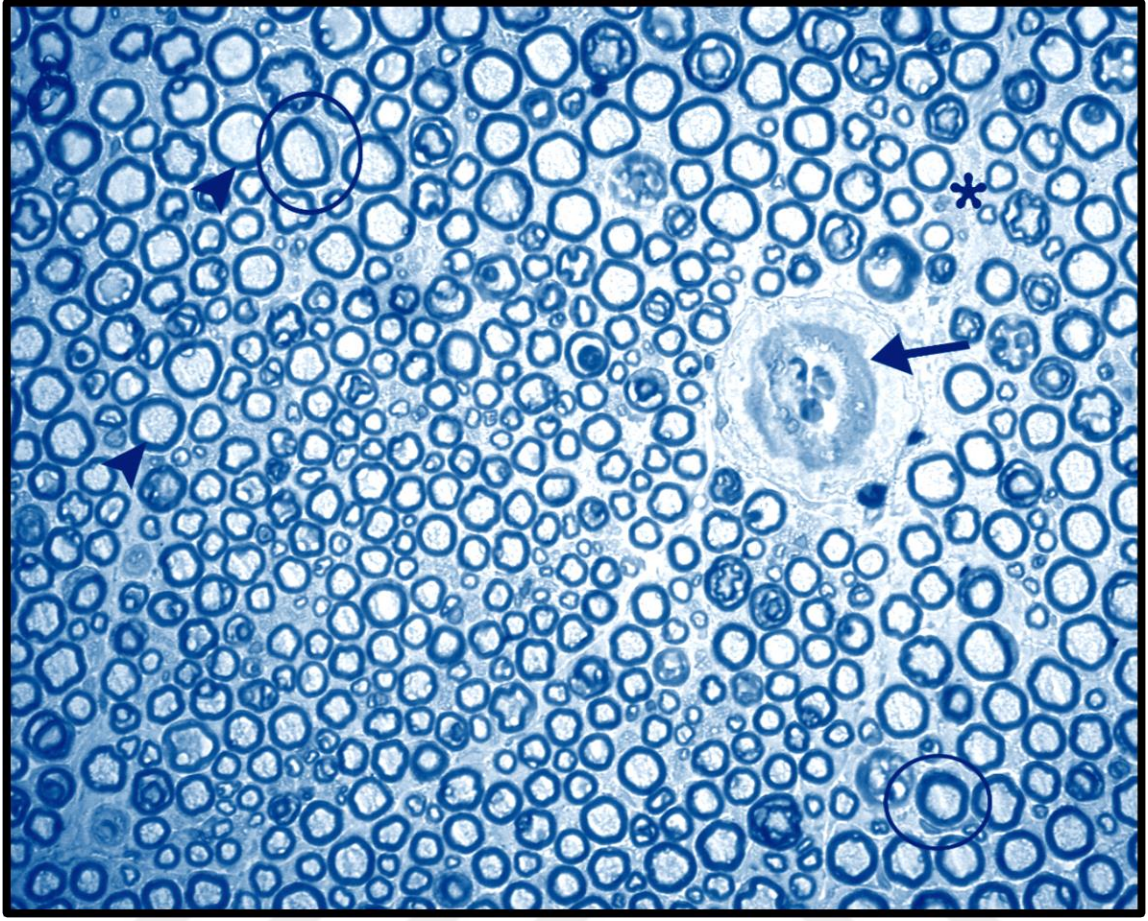
4. 5.Histolojik Bulgular

4. 5. 1. Kontrol Grubu (K)

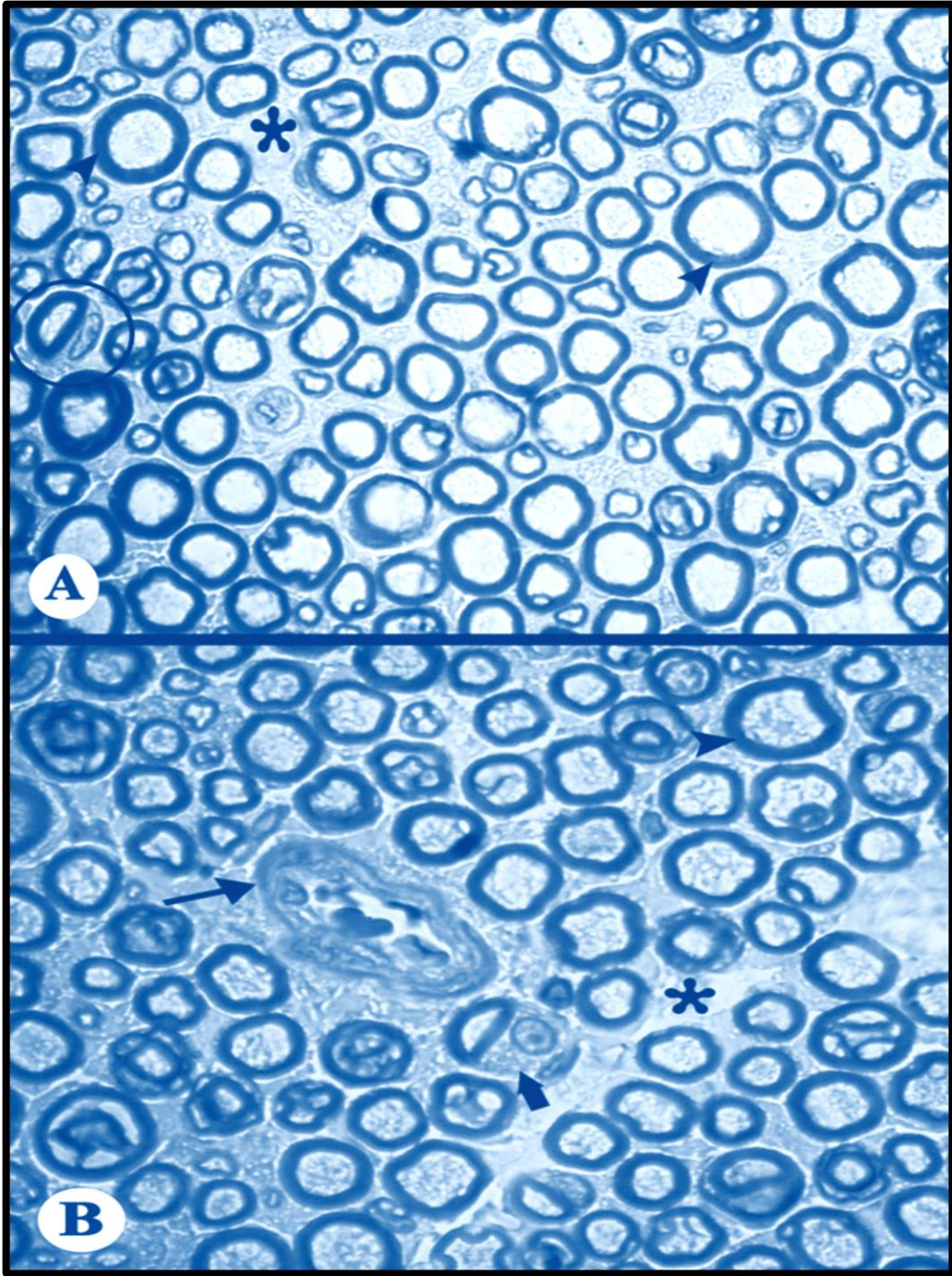
Kontrol grubu deneklerine ait sinir doku örneklerinin yarı ince ve ince kesitlerinde ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu düzeyinde sinire ait bağ doku yapılanması düzgün ve normal bir görünüm sergilemekteydi. Genel olarak miyelinli aksonlar ve miyelin kılıflar düzenli bir görünüme sahipti. Miyelinli aksonlar arasında yerleşik miyelinsiz akson kümeleri de belirgin sitoplazmik sınırları ve mitokondri içerikleriyle düzenli görünümdeydi. Schwann hücreleri, aksonların etrafında belirgin sitoplazmik sınırları ve ökromatik çekirdekleriyle normal görünümüyle izlendi. Yine endonöryumda yerleşik damarlanmalar da göze çarpmaktaydı (Şekil 36-37-38-39).



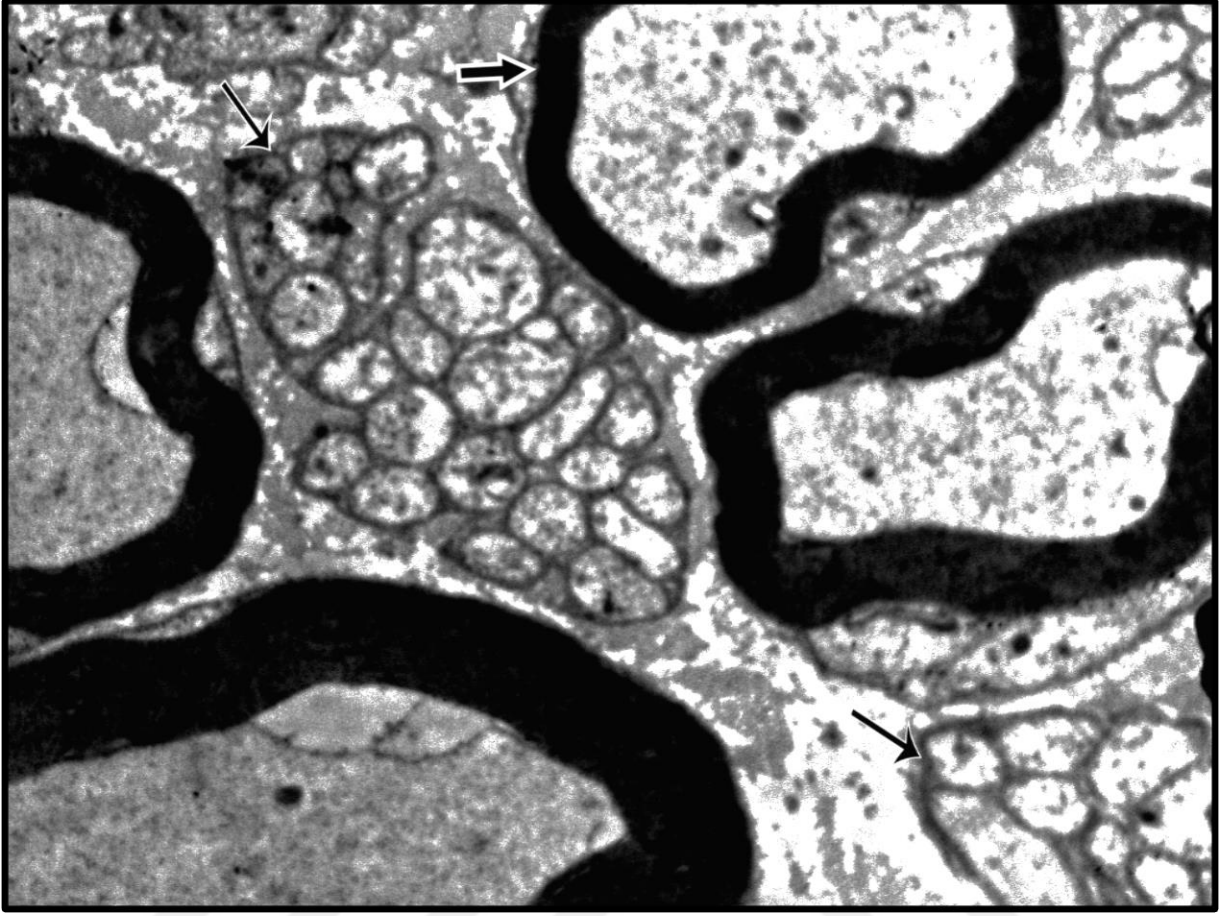
Şekil 36. Kontrol grubuna ait ışık mikroskobik görünümler. Sinirin dıştan epinöryum (Ep) adı verilen fibröz bağ dokusuyla sarılı olduğu ve miyelinli ve miyelinsiz liflerden oluştuğu izlenmektedir. Sinir liflerinin aralarında kan damarları ve bağ dokusunun varlığı da gözlenmektedir



Şekil 37. Kontrol grubuna ait ışık mikroskopik görünüm. Şekil 38' de kare içine alınan alanın yüksek büyütmedeki görüntüsüne bakıldığında genel olarak normal bir siyatik sinir histolojisi gözlenmektedir. Ok: sağlıklı görünüme sahip damar, ok başı: normal çapta ve kalınlıkta miyelin kılıfa sahip, sağlıklı miyelinli aksonlar, yıldız: endonöryumu, yuvarlak: belirgin sitoplazma sınırlarına ve sağlıklı (ökromazi gösteren) çekirdeğe sahip Schwann hücrelerine sahip miyelinli aksonlar görülmektedir



Şekil 38. Kontrol grubuna ait ışık mikroskopik görünümler **A, B.** Ok: sağlıklı görünüme sahip damar, yıldız; miyelinli ve miyelinsiz aksonlar arasını dolduran sağlıklı bağ dokusu (endonöryum), ok başı: normal çapta ve kalınlıkta miyelin kılıfa sahip, sağlıklı miyelinli aksonlar, yuvarlak ve kalın ok: belirgin sitoplazma sınırlarına ve sağlıklı (ökromazi gösteren) çekirdeğe sahip Schwann hücresi ve miyelinli akson

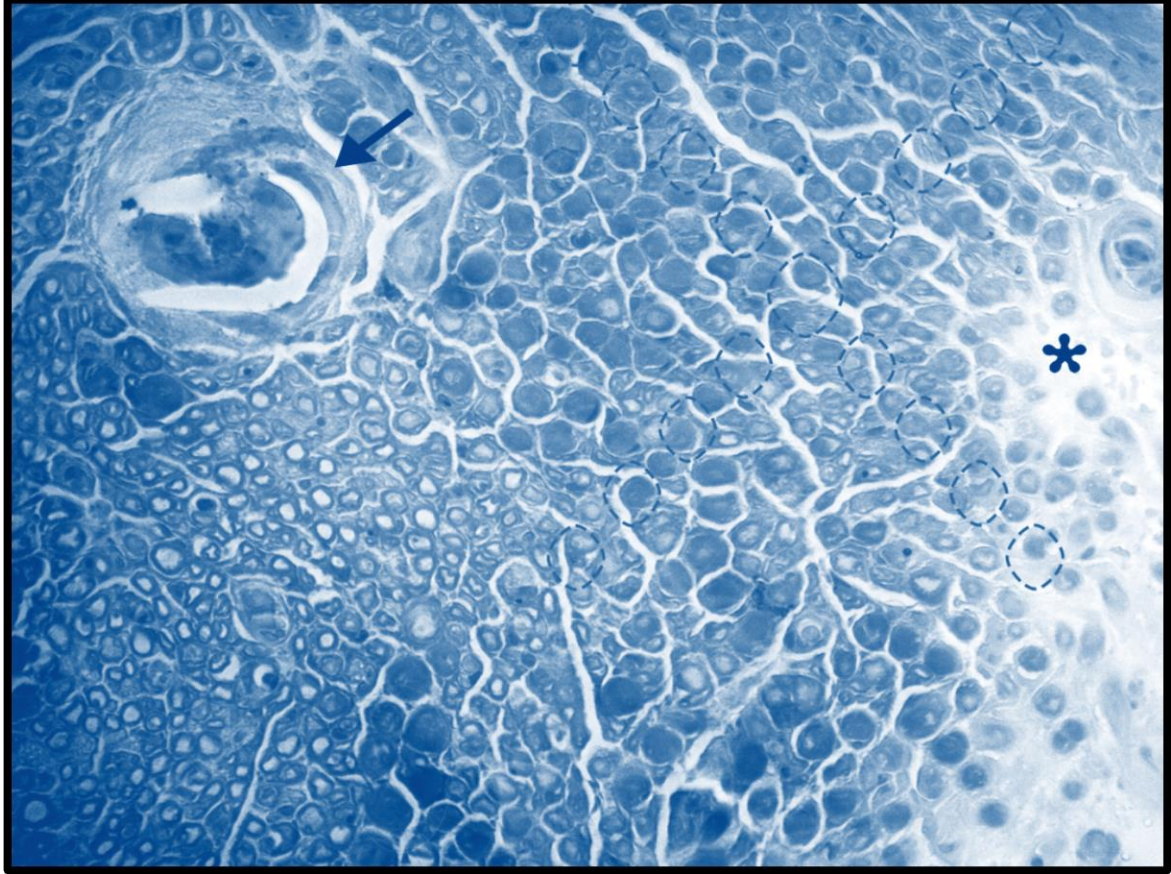


Şekil 39. Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik görüntümler. Kalın oklar; miyelinli aksonları, ince ok; miyelinsiz aksonları göstermektedir

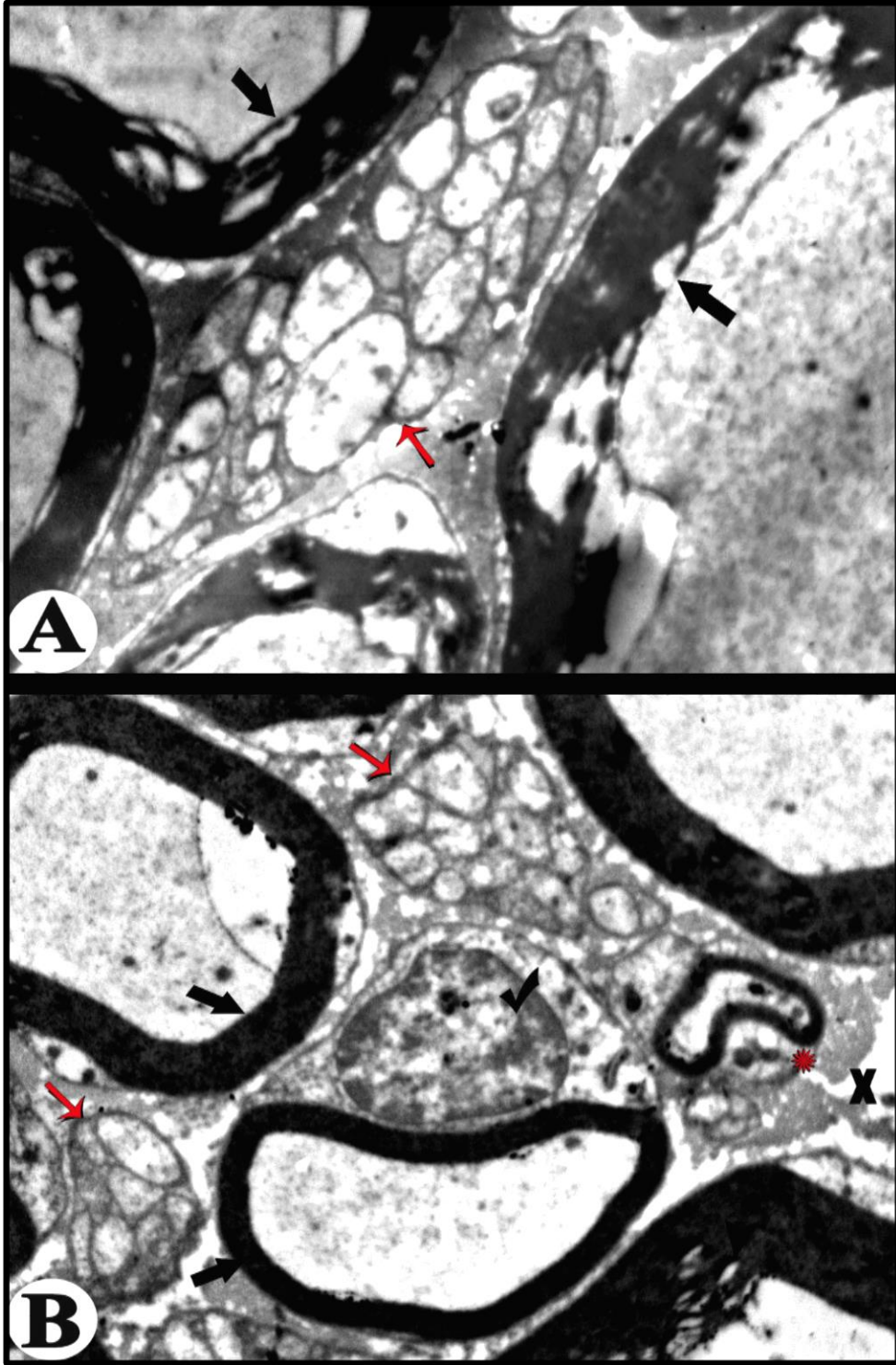
4. 5. 2. Kontrol Hasarlı Grup (KH)

Kontrol hasarlı grubu deneklerine ait sinir doku örneklerinin yarı ince ve ince kesitlerinde ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu düzeyinde sinire ait bağ doku yapılanması verilen hasardan dolayı olağan görünümünü kaybetmiş olarak gözlemlendi. Genel olarak miyelinli aksonlar ve miyelin kılıflar düzensiz bir görünüme sahipti. Kontrol grubuna kıyasla daha küçük çaplı miyelinli aksonlar ve daha ince kalınlıkta miyelin kılıf varlığı göze çarpmaktaydı. Bunun yanında kimi geniş çaplı aksonlar, içlerindeki miyelin yığınlarından ötürü dejenere miyelin kılıf yapısı göstermekteydi. Miyelinli aksonların arasında miyelinsiz aksonlar da bulunmaktaydı fakat hasar oluşturulmayan gruplara kıyasla daha seyrek yerleşimli ve daha az kümelenmiş durumları göze çarpmaktaydı. Yine hasar oluşturulmayan gruplara kıyasla endonöryum içerisinde dejenere aksonları çevrelemiş halde aktif makrofajlar

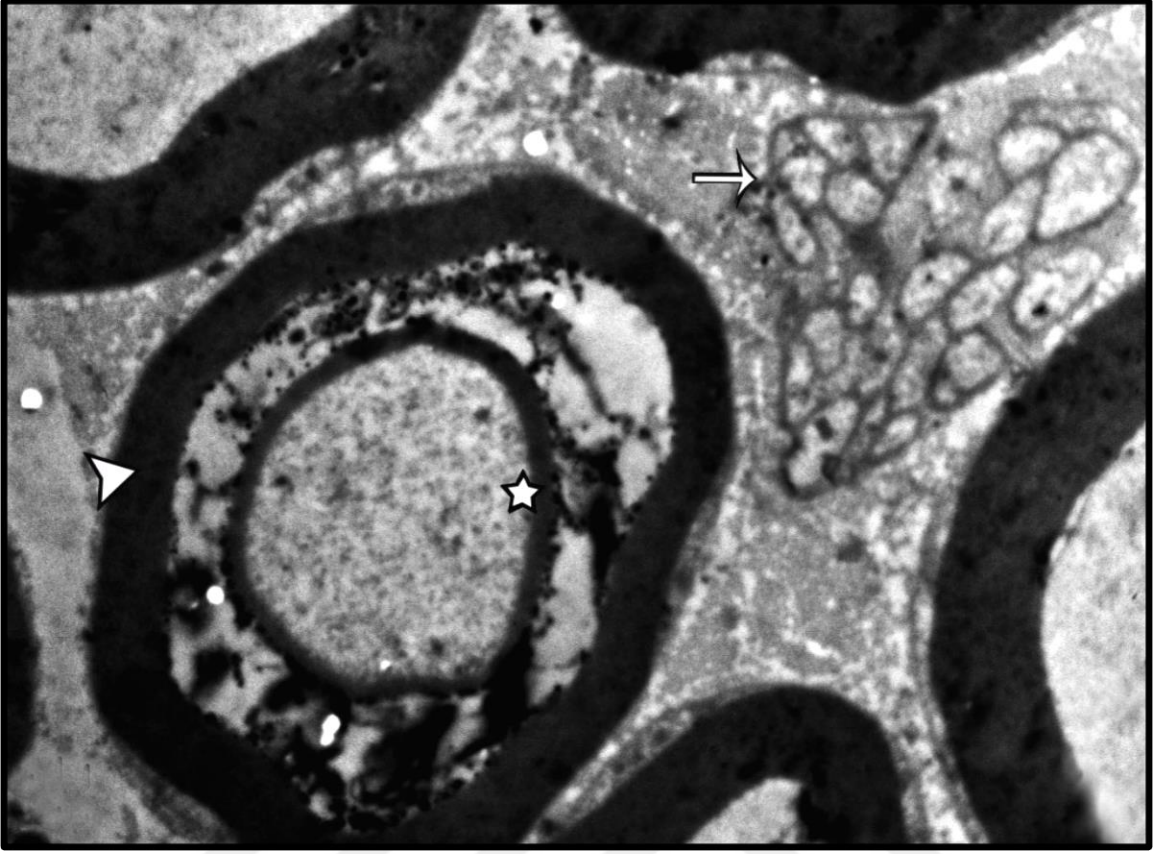
gözlendi. Ayrıca endonöryumda genişlemiş perivasküler bağ dokusu alanları gözlendi. Schwann hücrelerinde ise düzensiz çekirdek sınırı ve pigmentik veya heterokromoz gösteren çekirdek varlığı dikkat çekiciydi (Şekil 40-41-42-43-44).



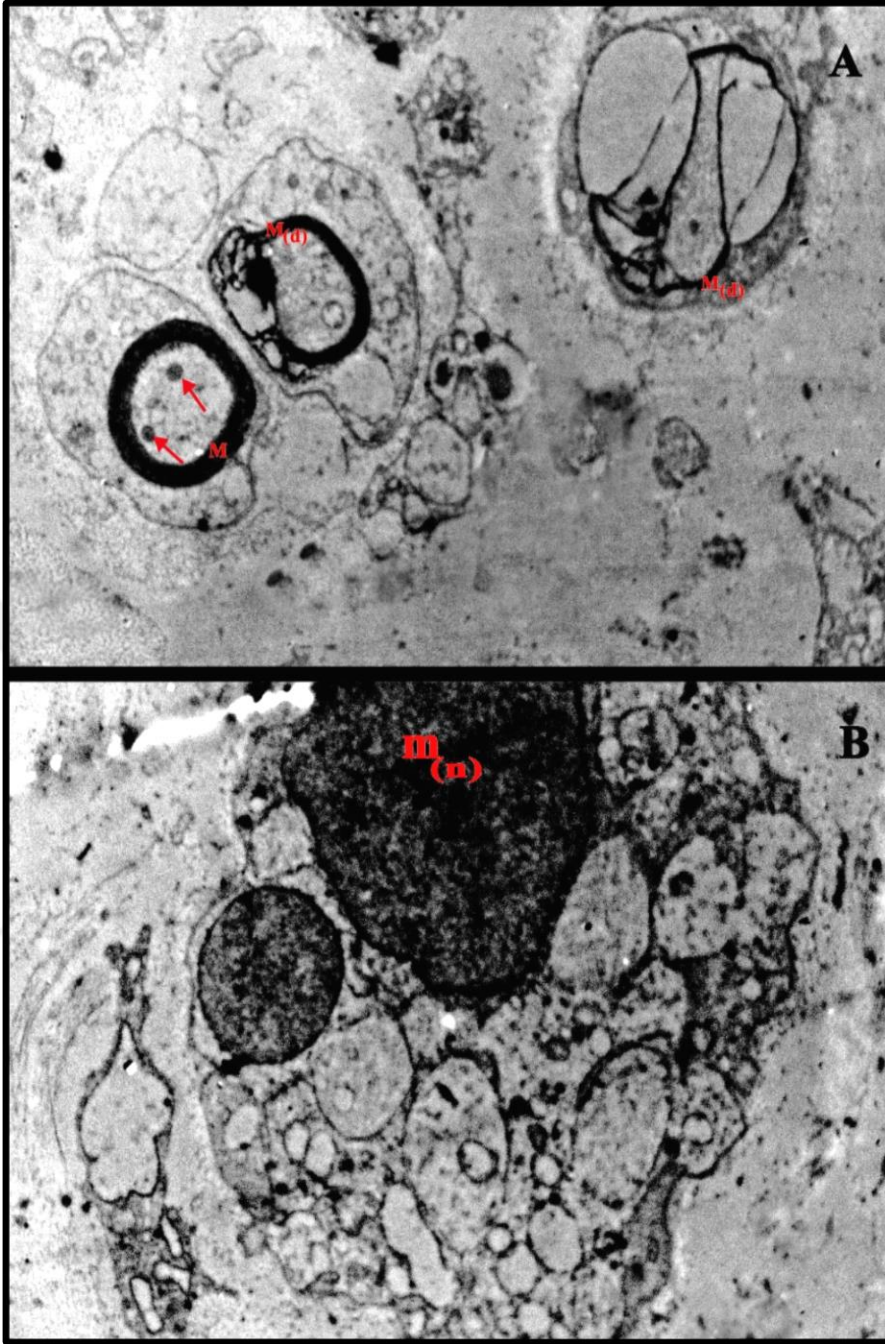
Şekil 40. Kontrol hasarlı grubuna ait ışık mikroskopik görünüm. Sinir liflerinin aralarında hasarlanmış kan damarları ve bağ dokusunun varlığı gözlenmektedir. Ok: sağlıklı görünümünü kaybetmiş damar, yıldız; sağlıklı görünüme sahip bağ dokusu (endonöryum) bölgesi, halka alanı; aksonların ve miyelin kılıfların seçilemediği yoğun endonöryum içeriğinin olduğu bölge ve bu bölgedeki miyelinli aksonların tamamen dejenere olduğu görülmektedir



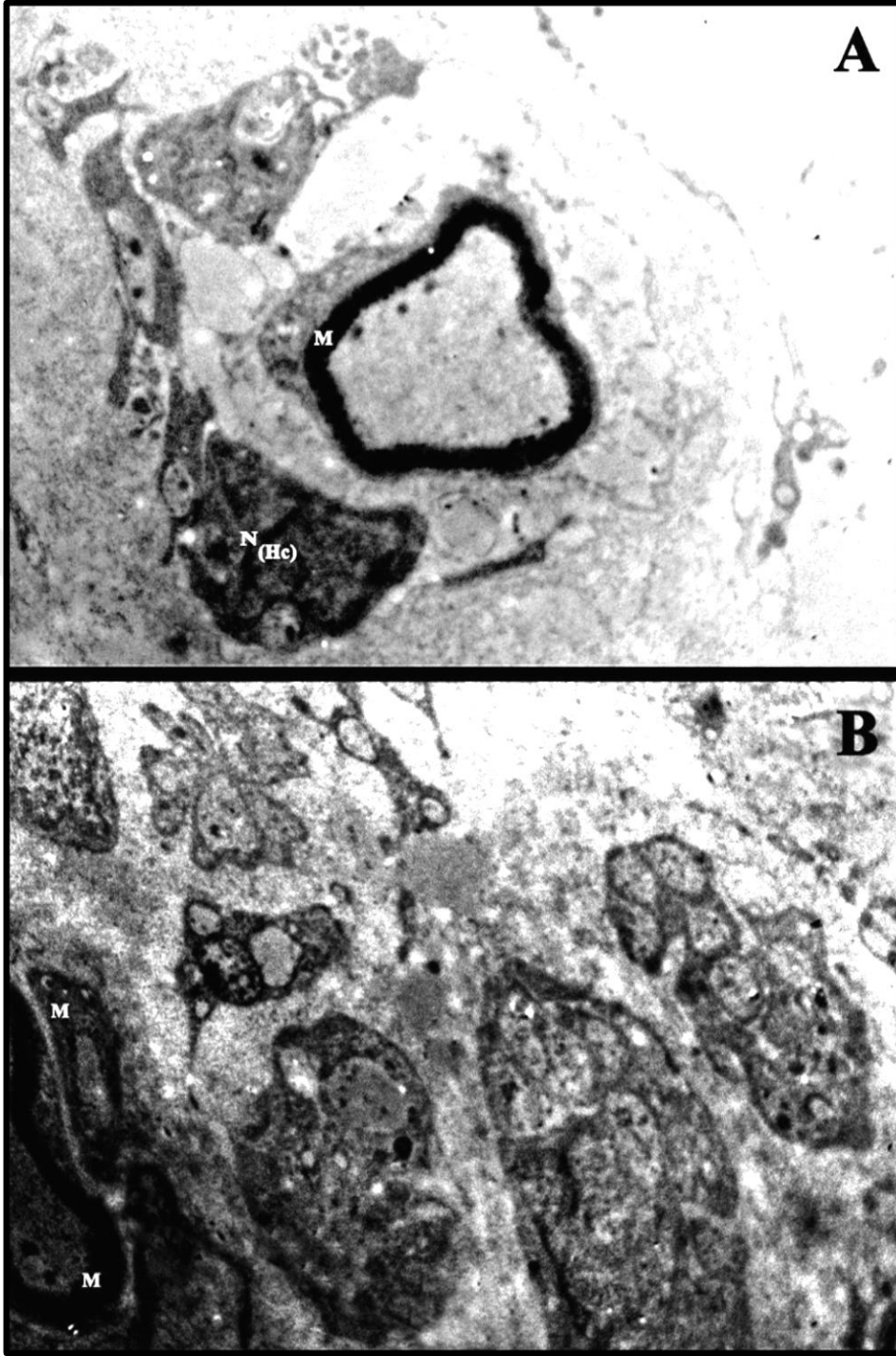
Şekil 41. Kontrol hasarlı grubuna ait elektron mikroskopik görüntümler. **A.** Siyah oklar; miyelinizasyonu bozulmuş aksonları, Kırmızı ok; miyelinsiz aksonları, **B.** Kalın oklar; miyelinli aksonları, kırmızı ok; miyelinsiz aksonları, ✓; Schwann hüresinde düzensiz çekirdek sınırı, *; pignotik çekirdekli Schwann hüresi, X; genişlemiş perivasküler bağ dokusu alanları, ok başı; miyelinizasyonu bozulmuş aksonu, yıldız; düzensiz miyelin kılıf sınırını göstermektedir



Şekil 42. Kontrol hasarlı grubuna ait elektron mikroskopik bir görünüm. Ok; miyelinsiz akson grupları, ok başı; miyelinizasyonu bozulmuş aksonu, yıldız; düzensiz miyelin kılıf sınırını göstermektedir



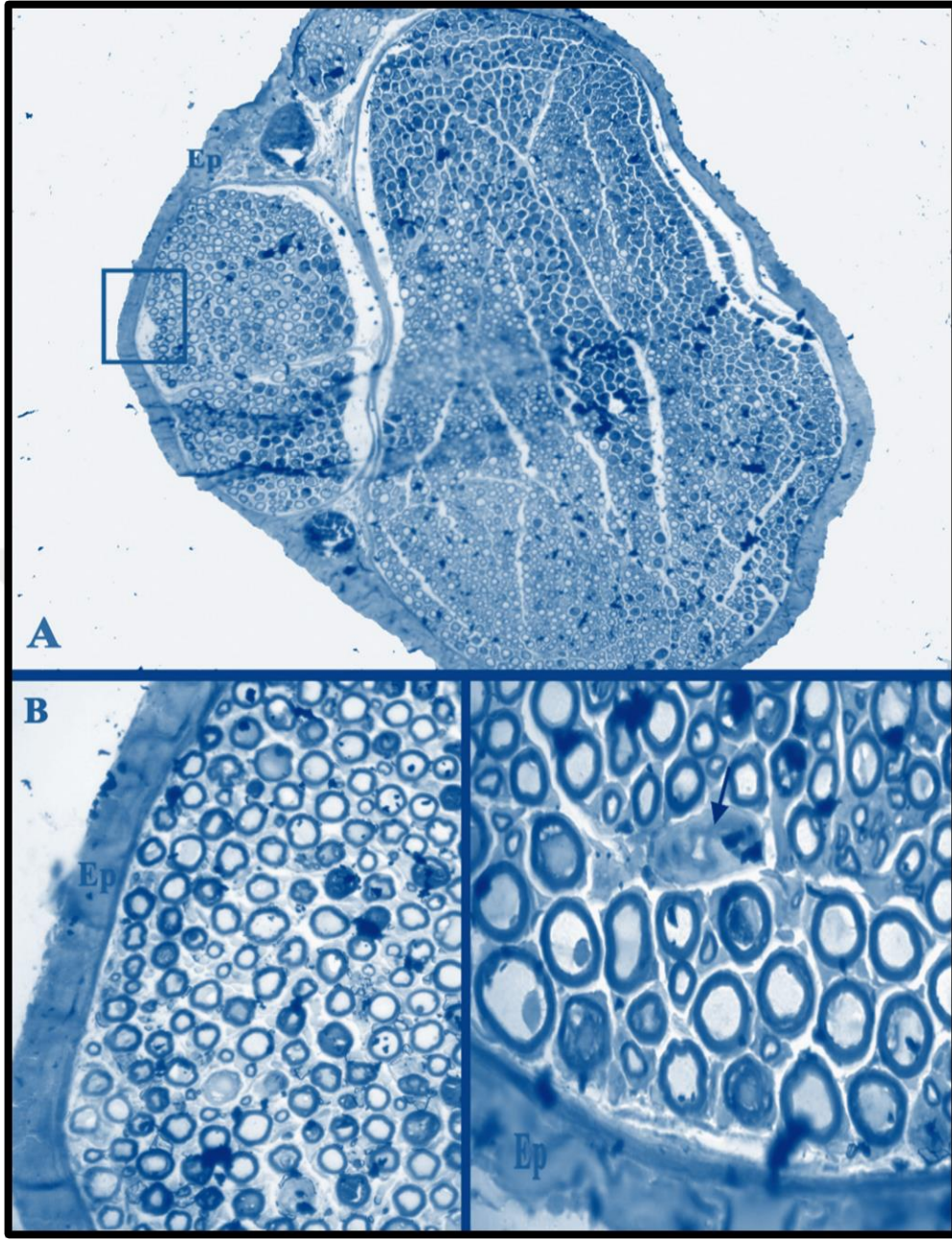
Şekil 43. Kontrol hasarlı grubuna ait elektron mikroskopik görüntümler. **A.** Kırmızı ok; akson sitoplazmasındaki mitokondrileri, M; normal görünümde miyelinli aksonları, M(d); dejenere olmuş miyelinli aksonları **B.** m(n); iri çekirdekli ve primer lizozomal içerikli inaktif makrofaj görülmektedir



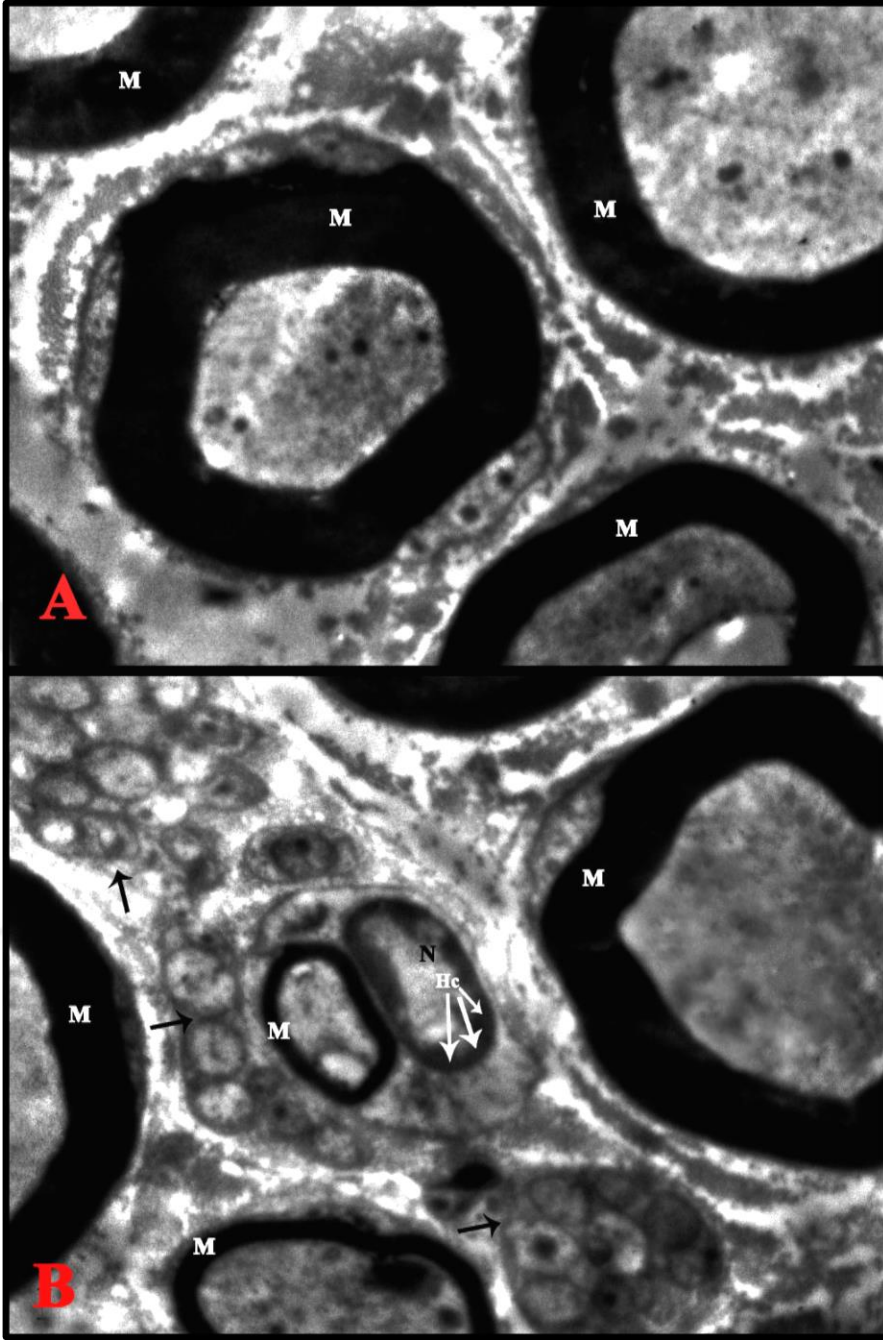
Şekil 44. Kontrol hasarlı grubuna ait elektron mikroskobik görüntümler. **A.** M; miyelin kılıf, N(Hc); heterokromazi gösteren Schwann hücre çekirdeği **B.** M; miyelin kılıf ve yoğunluklu olarak ince kılıflı miyelinli aksonlar görülmektedir

4. 5. 3. Obez Kontrol Grubu (OK)

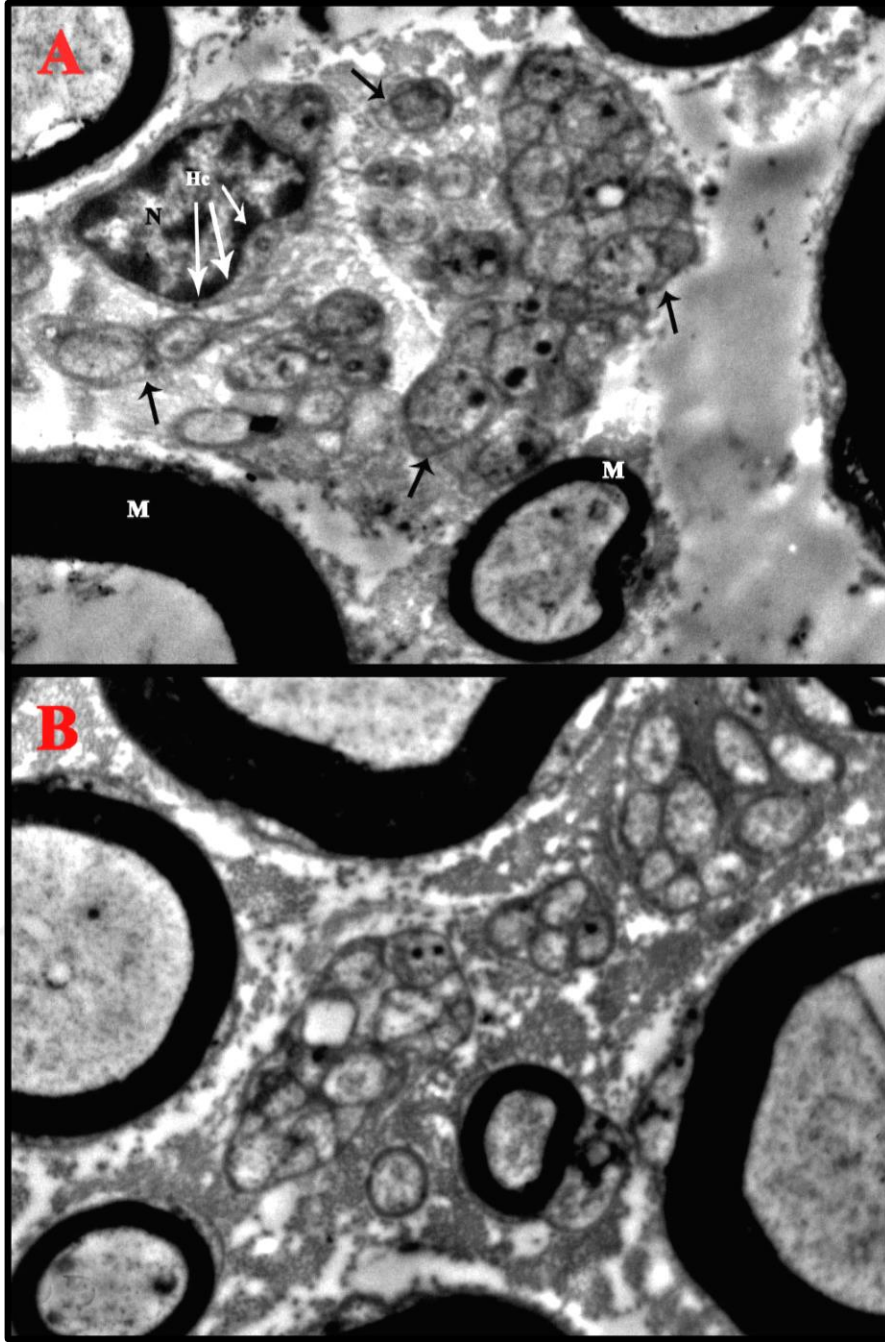
Obez kontrol grubu deneklerine ait sinir doku örneklerinin ince ve yarı ince kesitlerinde elektron mikroskobu ve ışık mikroskobu düzeyinde sinire ait bağ doku yapılanması düzgün ve normal bir görünüme sergilemekteydi. Genel olarak miyelinli aksonlar ve miyelin kılıflar düzenli bir görünüme sahipti. Kontrol grubuna kıyasla daha çok sayıda fakat daha küçük çaplı miyelinli aksonların varlığı göze çarpmaktaydı, miyelin kılıf kalınlığı açısından bakıldığında ise stereolojik bulguları destekler nitelikte aralarında anlamlı bir fark olmadığı histolojik olarak da gözlenmekteydi. Miyelinli aksonlar arasında yerleşik miyelinsiz akson kümeleri de belirgin sitoplazmik sınırları ve mitokondri içerikleriyle düzenli görünümdeydi. Yine kontrol grubu ile kıyaslandığında miyelinsiz aksonların dağılımı stereolojik bulguları destekler nitelikte aralarında anlamlı bir fark olmadığı histolojik olarak da gözlenmekteydi. Schwann hücreleri, aksonların etrafında belirgin fakat düzensiz sitoplazmik sınırları ve heterokromatik çekirdekleriyle izlendi. Yine endonöryumda yerleşik damarlanmalar da göze çarpmaktaydı (Şekil 45-46-47-48).



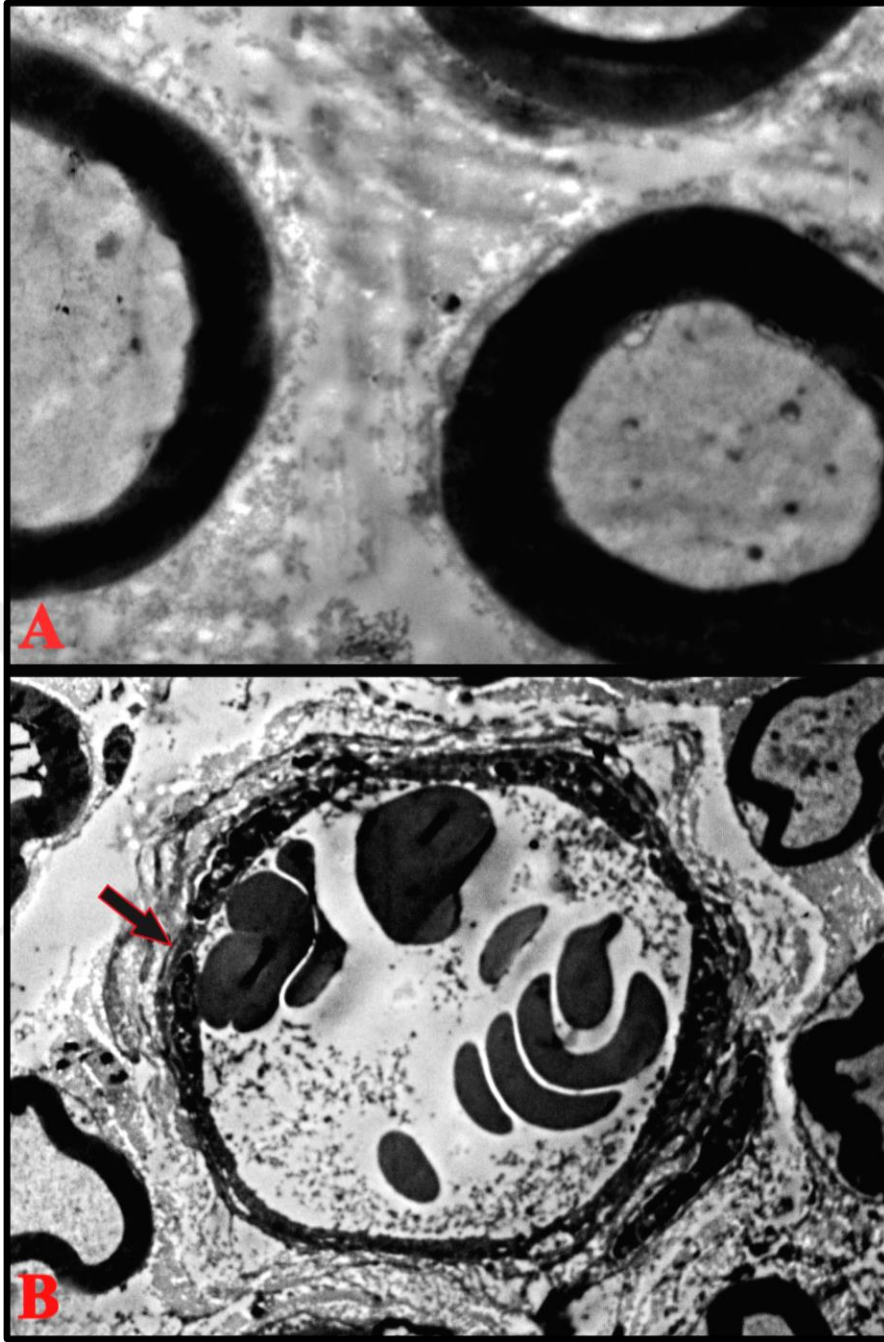
Şekil 45. Obez kontrol grubuna ait ışık mikroskopik görüntümler. Sinirin dıştan epinöryum (Ep) adı verilen fibröz bağ dokusuyla sarılı olduğu ve miyelinli ve miyelinsiz liflerden oluştuğu izlenmektedir. Sinir liflerinin aralarında kan damarları ve bağ dokusunun varlığı da gözlenmektedir **B, C.** A'da kare içine alınan alanın yüksek büyütmedeki görüntüsüne bakıldığında genel olarak normal bir siyatik sinir histolojisi gözlenmektedir. Endonöryum içerisinde normal çapta ve kalınlıkta miyelinli aksonlar ve siyah ok; düzensiz çap (büzülmeye uğramış) ve sağlıklı görünüme sahip damar görülmektedir



Şekil 46. Obez kontrol grubuna ait elektron mikroskobik görüntümler. **A.** M; normal yapıdaki miyelinli aksonlar **B.** M; ince ve kalın miyelinli akson kılıfları, İnce siyah ok; belirgin sitoplazmik sınırları ve mitokondri içerikleriyle düzenli görünümde yerleşik olan miyelinsiz akson grupları, N; Schwann hücre çekirdeği, Hc; hafif heterokromazi gösteren çekirdek bölgeleri görülmektedir



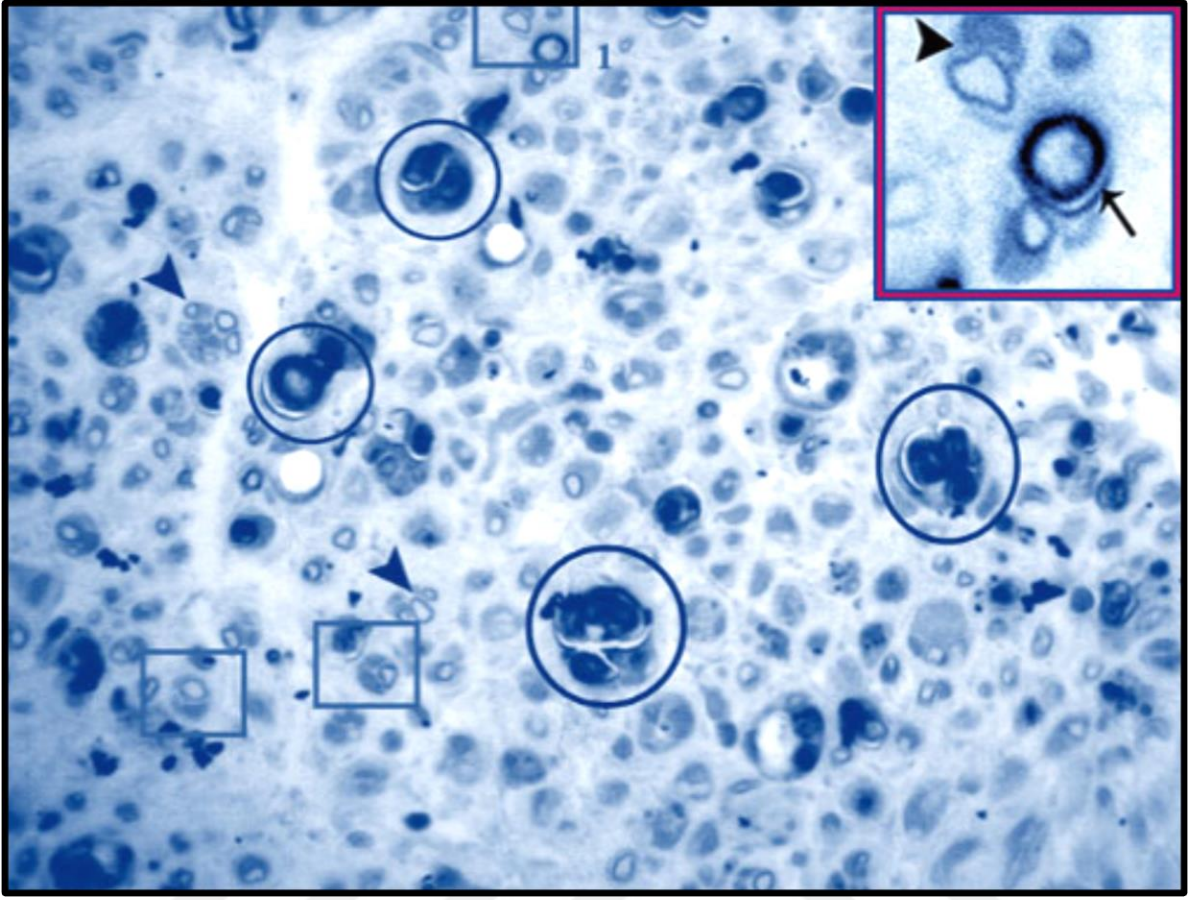
Şekil 47. Obez kontrol grubuna ait elektron mikroskopik görüntümler. **A.** M; ince ve kalın miyelinli akson kılıfları, İnce siyah ok; belirgin sitoplazmik sınırları ve mitokondri içerikleriyle düzenli görünümde yerleşik olan miyelinsiz akson grupları, N; Schwann hücre çekirdeği, Hc; hafif heterokromazi gösteren çekirdek bölgeleri **B.** Normal ve düzenli yerleşimleri ile miyelinli ve miyelinsiz aksonlar görülmektedir



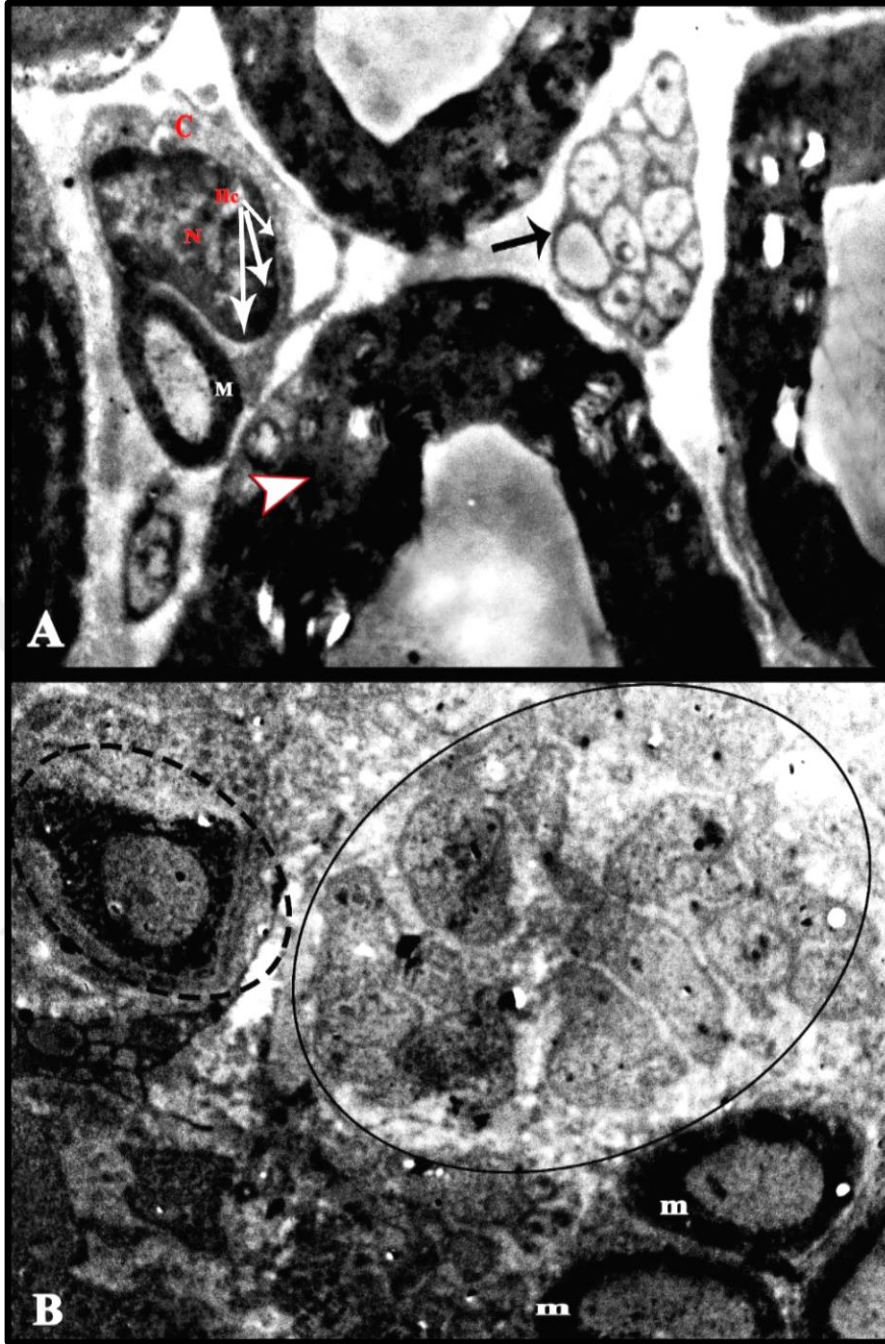
Şekil 48. Obez kontrol grubuna ait elektron mikroskopik görüntümler. **A.** normal yapıdaki miyelinli aksonlar **B.** Siyah ok: Endonöryumda yerleşik düzenli yapıda damar yapısı görülmektedir.

4. 5. 4. Obez Hasarlı Grup (OH)

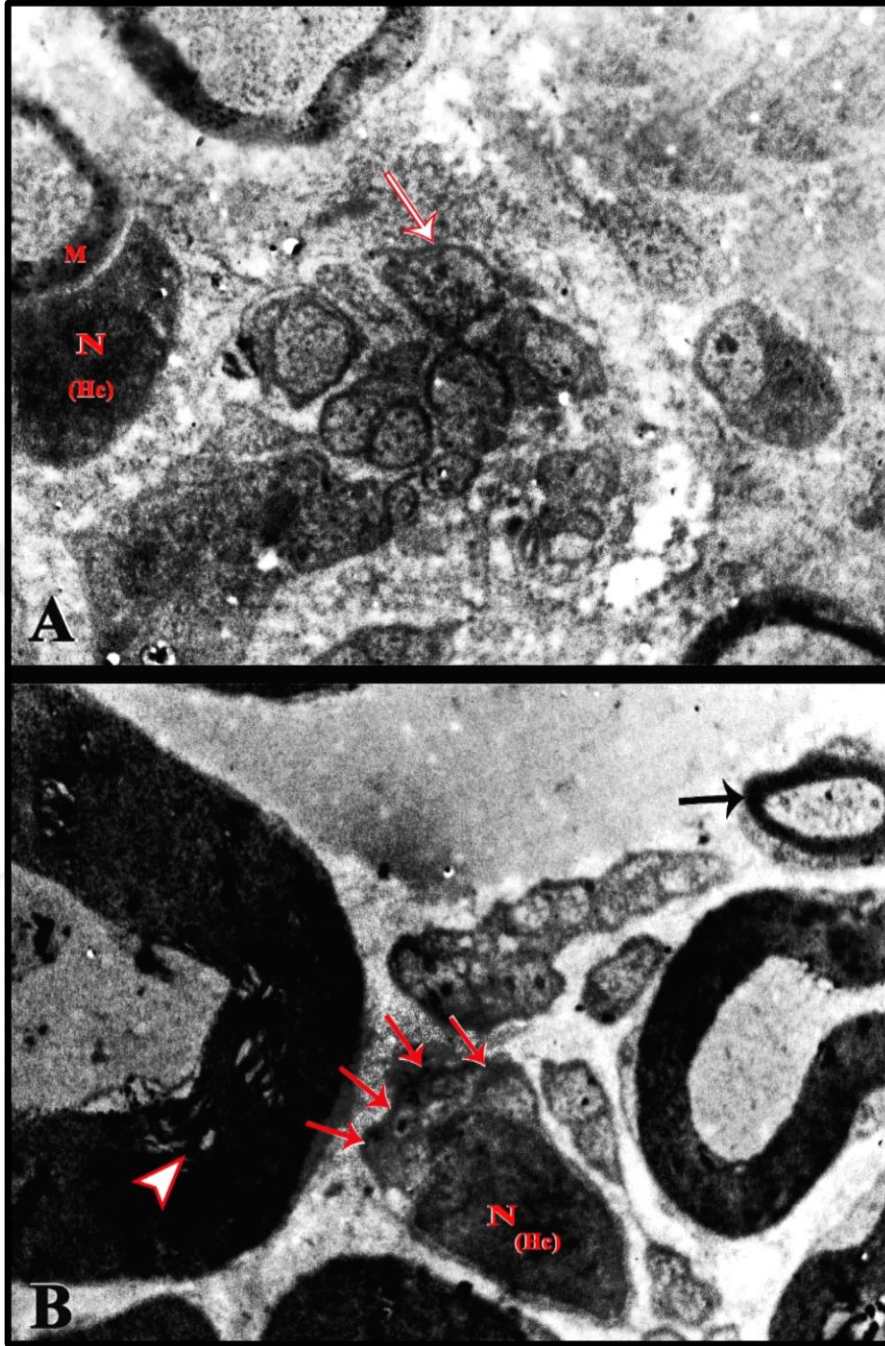
Rejenerasyon sürecinin ardından obez grubundan elde edilen siyatik sinir örneklerinin ışık ve elektron mikroskopik kesitlerini oluşturan aksonlar kontrol grubundakine kıyasla küçük boyutlu idi. Bu küçük çaplı aksonlar bazı alanlarda rejenerasyonu gösterir tarzda geniş çaplı ve sağlıklı görünümlü aksonların etrafında yerleşim göstermekteydi. Söz konusu küçük çaplı aksonlar arasında kontrol grubundakine kıyasla daha az sayıda geniş çaplı ve miyelin kılıfı dejenere olarak miyelin yığını haline gelmiş aksonlar da bulunmaktaydı. Endonöryuma bakıldığında kontrol grubundakine kıyasla daha yoğun içerikli olduğu ve içerisinde bulunan mast hücrelerinin sayıca fazla olması dikkat çekmekteydi. Schwann hücreleri ise koyu boyanmış sitoplâzmaları ve düzensiz sınırları ve heterokromazi gösteren çekirdekleri ile hasarlı görünümdeydi (Şekil 49-50-51).



Şekil 49. Obez hasarlı grubuna ait ışık mikroskopik görünüm. Hasar ve rejenerasyon sürecinin ardından kesitlere genel olarak bakıldığında dejenerasyon bulguları ile rejenerasyon bulguları birlikte görülmektedir. Verilen hasardan dolayı dejenerasyon bulguları rejenerasyon bulgularından sayıca fazla olduğu gözlenmektedir. Siyah yuvarlaklar; miyelin katmanlarının ayrışması, miyelin dejenerasyonu, kareler; Schwann hücre proliferasyon alanları, ok başı; miyelinli akson yoğunluğunda azalmanın yanında küçük çaplı ve ince miyelin kılıflı aksonlar (remiyelinizasyon) ve rejenerasyon odağı alanları görülmektedir. Sağ üst köşede kare 1'in yakınlaştırılması ile elde edilen görüntü. Ok başı; Schwann hücre proliferasyonu, ok; küçük çaplı ve ince miyelin kılıfa sahip akson görülmektedir



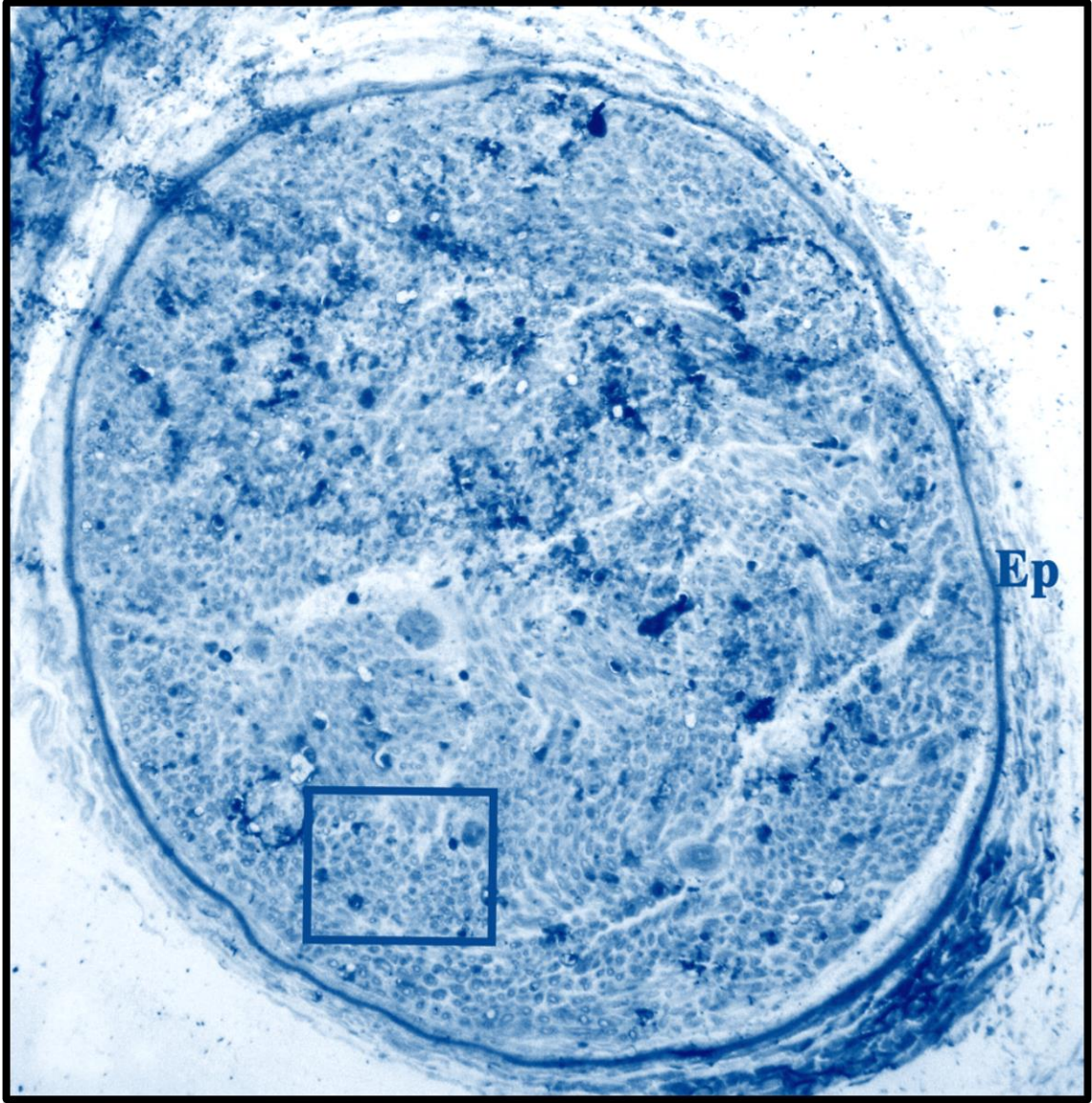
Şekil 50. Obez hasarlı grubuna ait elektron mikroskopik görüntümler. **A.** M; normal yapıdaki miyelinli akson, Ok başı; miyelin yapısı bozulmuş akson, Siyah ok; miyelinsiz akson grubu, C; Schwann hücre sitoplazması, N; Schwann hücre çekirdeği, Hc; yoğun heterokromazi gösteren çekirdek bölgeleri **B.** m; miyelinli akson, Elips şekli; yoğun içerikli endonöryum, Kesik çizgili elips; endonöryumda bulunan mast hücresi görülmektedir



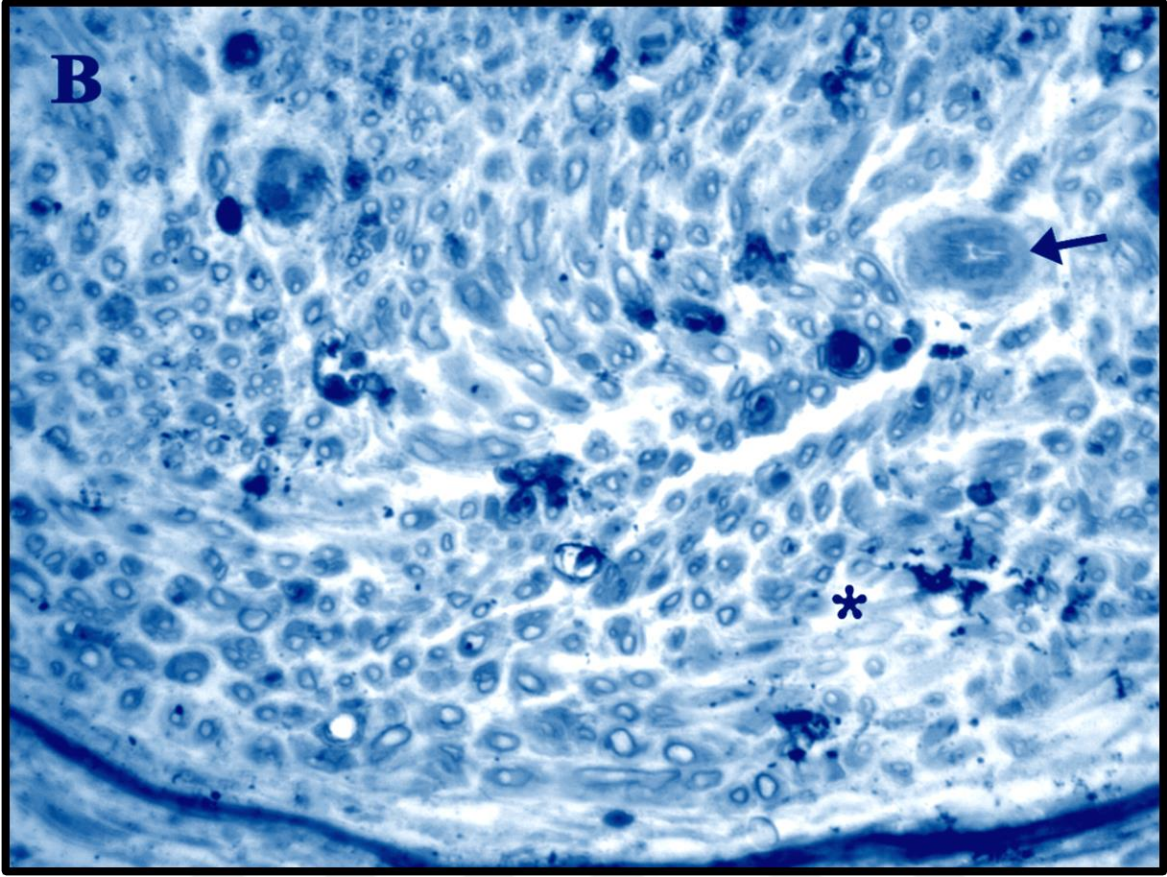
Şekil 51. Obez hasarlı grubuna ait elektron mikroskobik görüntümler. **A.** m; miyelinli akson, N; Schwann hücre çekirdeği, Hc; yoğun heterokromazi gösteren çekirdek, Kırmızı-beyaz ok; miyelinsiz akson grubu **B.** Ok başı; miyelin yapısı bozulmuş akson, N; Schwann hücre çekirdeği, Hc; yoğun heterokromazi gösteren çekirdek, kırmızı-beyaz ok; Schwann çekirdeği etrafındaki miyelinsiz akson grubu, Siyah ok; küçük çapta miyelinli akson görülmektedir

4. 5. 5. Kontrol Hasarlı Periferik Sinir Grubu (KPS)

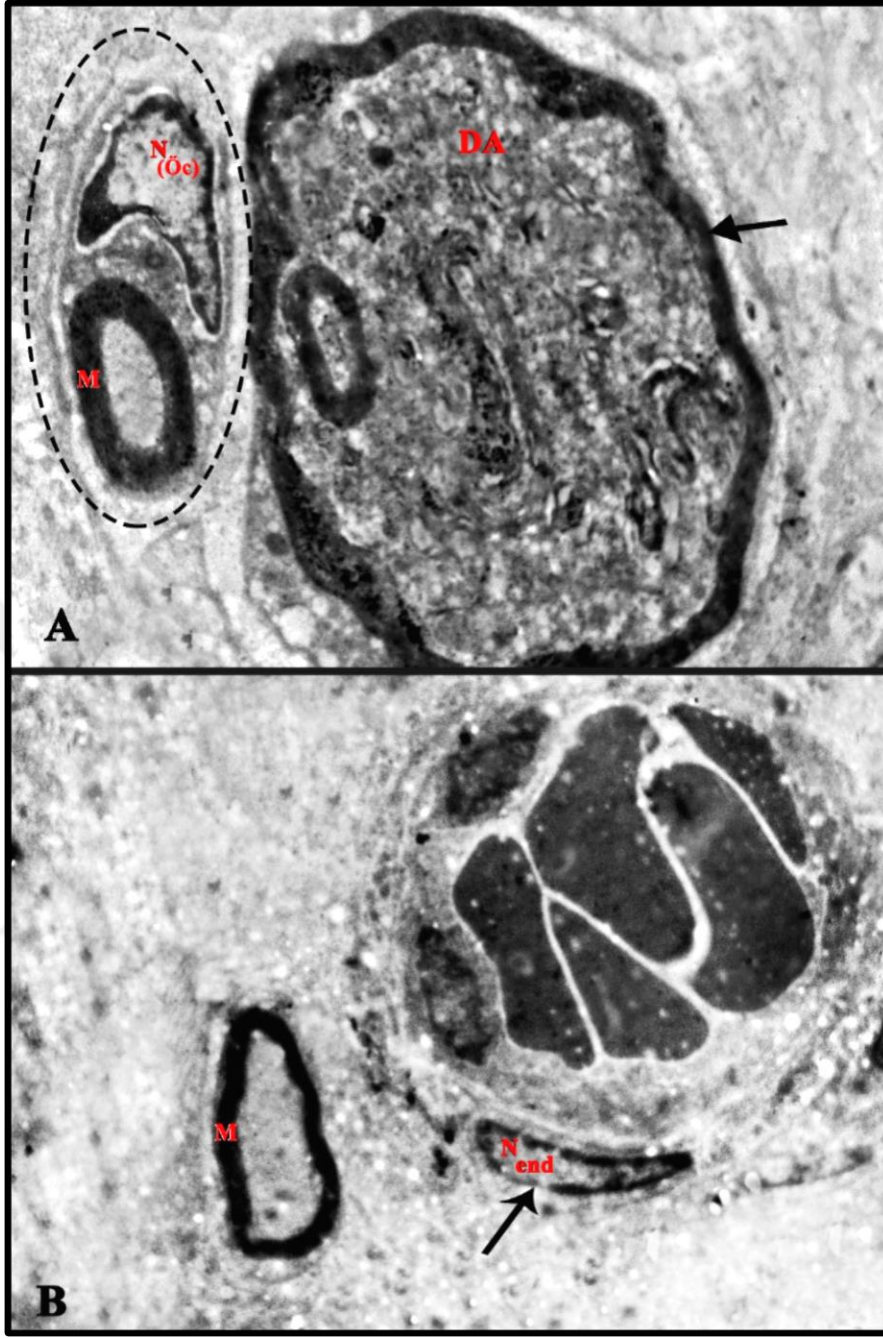
Kontrol hasarlı periferik sinir enjeksiyonu yapılan gruba ait sinir doku örneklerinin ince ve yarı ince kesitlerinde elektron mikroskobu ve ışık mikroskobu düzeyinde sinire ait bağ doku yapılanması, verilen hasarı tolere edecek düzeyde normale yakın görünümde gözlemlendi. KH gruba kıyasla bakıldığında, genel olarak miyelinli aksonlar ve miyelin kılıflar tedaviyi destekler nitelikte normale yakın, düzgün bir görünüme sahipti. Kontrol grubuna kıyasla daha fazla miyelinli akson yoğunluğu, daha küçük çapta miyelinli aksonlar ve daha kalın miyelin kılıf varlığı göze çarpmaktaydı. Bunun yanında kimi geniş çaplı aksonlar, içlerindeki miyelin yığınlarından ötürü dejenere miyelin kılıf yapısı göstermekteydi. Miyelinli aksonların arasında miyelinsiz aksonlar da bulunmaktaydı fakat hasar oluşturulmayan ve oluşturulan gruplara kıyasla daha seyrek yerleşimli ve daha az kümelenmiş durumları göze çarpmaktaydı. Hasar oluşturulan grupta bulgularan endonöryumdaki genişlemiş perivasküler bağ dokusu alanları bu grupta yoktu ve neredeyse normale yakın genel bir görüntünün varlığı dikkat çekiciydi. Schwann hücrelerinin, aksonların etrafında belirgin sitoplazmik sınırları ve ökromatik çekirdekleriyle sağlıklı görünümde oldukları izlendi. Ayrıca yer yer sinir doku içerisindeki bağ dokuda yerleşik düzenli damar yapılanmaları da göze çarpmaktaydı (Şekil 52-53-54-55-56).



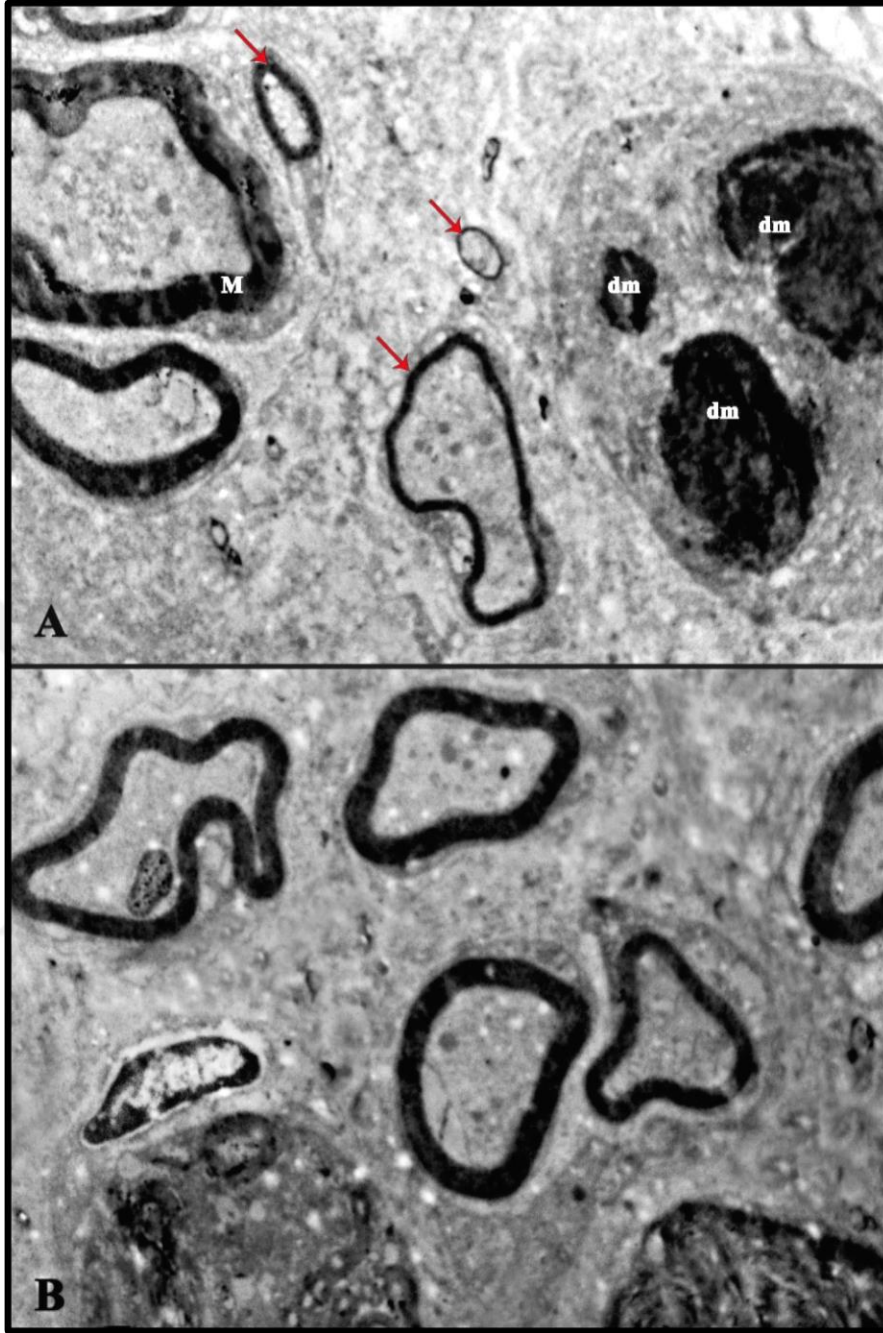
Şekil 52. Kontrol hasarlı periferik sinir enjekte edilen gruba ait ışık mikroskopik görünüm. Sinirin dıştan epinöryum (Ep) adı verilen fibröz bağ dokusuyla sarılı olduğu ve miyelinli ve miyelinsiz liflerden oluştuğu izlenmektedir. Sinir liflerinin aralarında kan damarları ve bağ dokusunun varlığı da gözlenmektedir



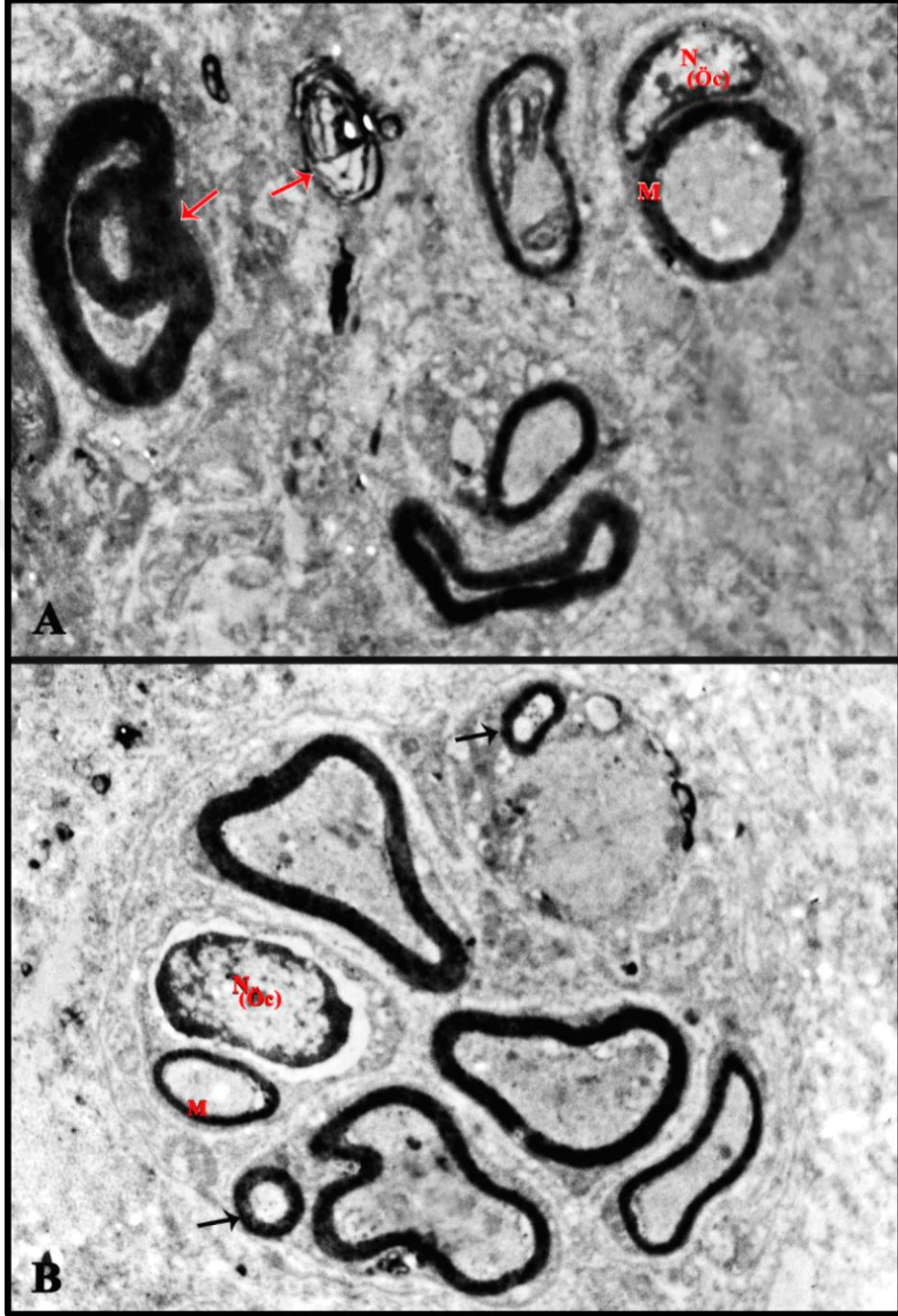
Şekil 53. Kontrol hasarlı periferik sinir enjekte edilen gruba ait ışık mikroskopik görünüm. Şekil 52’de kare içine alınan alanın yüksek büyütmedeki görüntüsüne bakıldığında genel olarak normale yakın, tedaviye yanıt veren yapıda bir siyatik sinir histolojisi gözlenmektedir. Siyah ok: sağlıklı görünüme sahip damar, yıldız; miyelinli ve miyelinsiz aksonlar arasını dolduran sağlıklı bağ dokusu (endonöryum), endonöryum içerisinde çok sayıda küçük çaplı ve Schwann hücrelerine sahip remiyelinize olan miyelinli aksonlar dikkat çekmektedir



Şekil 54. Kontrol hasarlı periferik sinir enjekte edilen gruba ait elektron mikroskopik görünüm. Rejenerasyon sürecinin ardından kesitlere genel olarak bakıldığında dejenerasyon bulguları çok az sayıda ve rejenerasyon bulgularının ise oldukça fazla olduğu gözlenmektedir. **A.** M; normal yapıdaki miyelinli akson, N; Schwann hücre çekirdeği, öc; ökromatik çekirdek, Ok; miyelin yapısı bozulmuş akson, DA; dev aksonal nöropati, genel olarak akson çapına göre ince miyelin kılıfına sahip lif **B.** m; miyelinli akson, N; düzenli sınıra sahip damardaki endotel çekirdeği, end; damar endotel hücresi görülmektedir



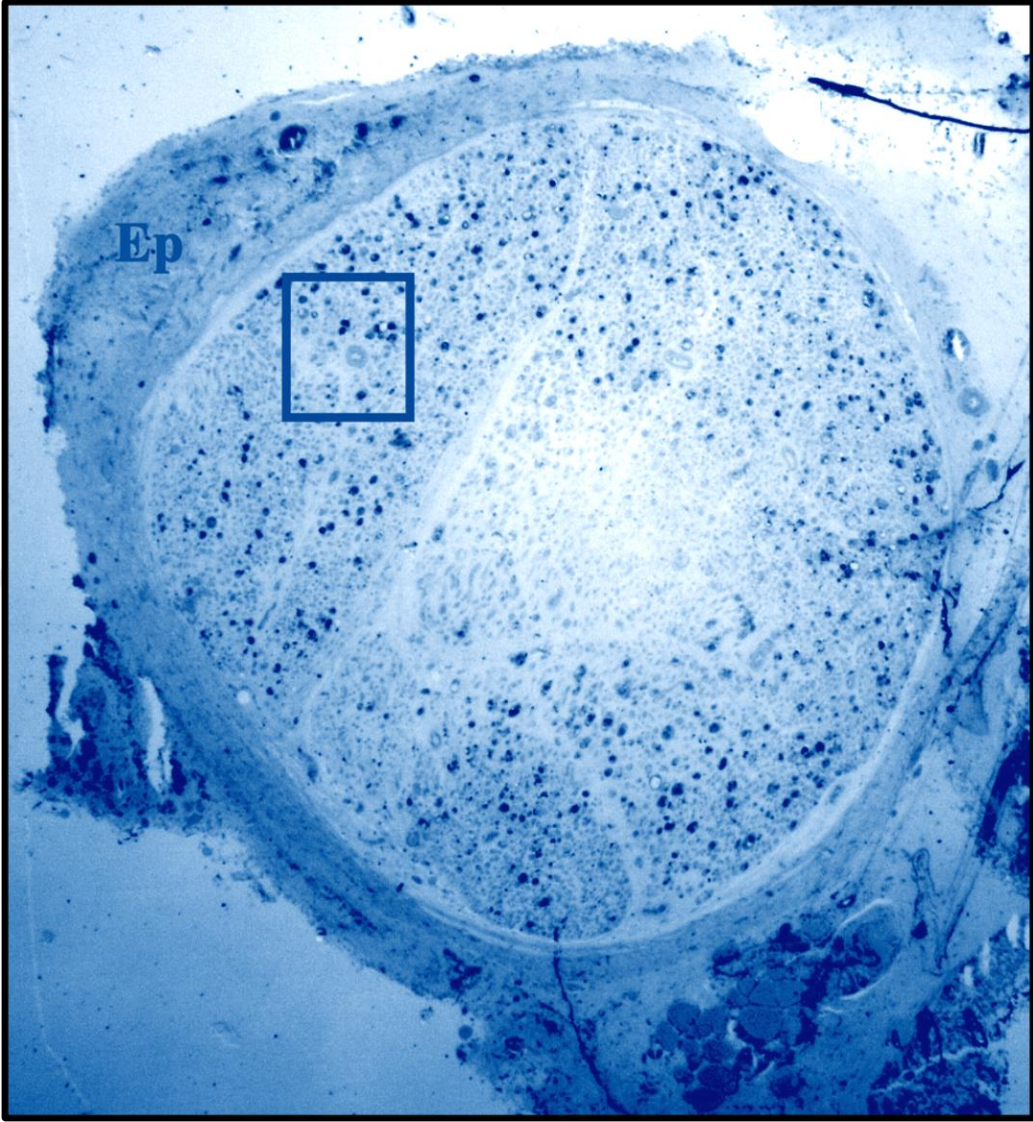
Şekil 55. Kontrol hasarlı periferik sinir enjekte edilen gruba ait elektron mikroskopik görünüm. **A.** M; normal çap ve kalınlıktaki miyelinli akson, Kırmızı ok; yeni miyelinleşme göstermiş, ince kılıfa sahip değişik çaplardaki aksonlar, dm; fokal olarak kendi üzerine katlanmış ve dejenere olmuş miyelinli aksonlar **B.** Normal çapa ve miyelin kılıf kalınlığına sahip sağlıklı aksonların genel görüntüsü görülmektedir



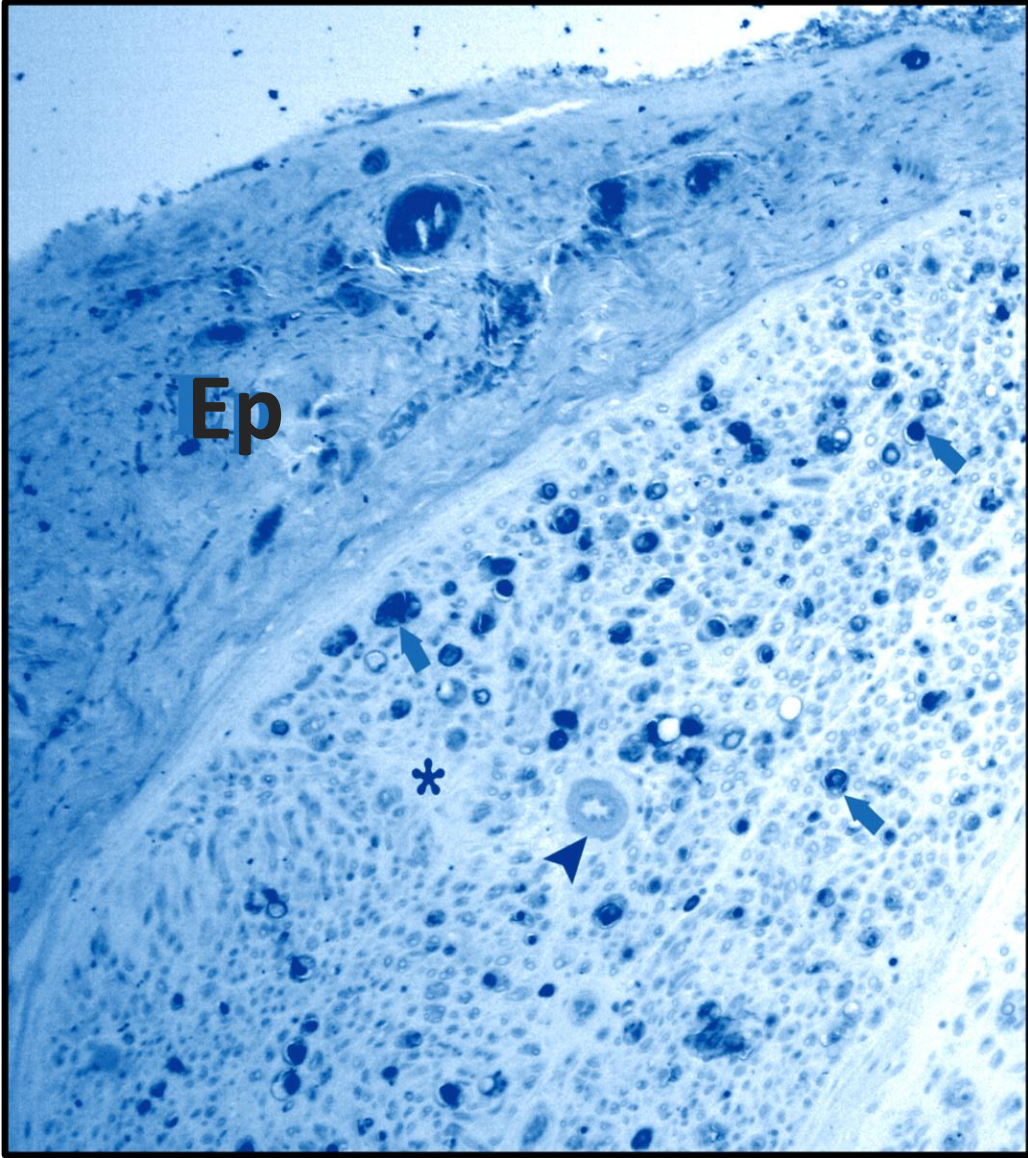
Şekil 56. Kontrol hasarlı periferik sinir enjekte edilen gruba ait elektron mikroskopik görünüm. **A.** Kırmızı ok; fokal olarak kendi üzerine katlanmış ve dejenere olmuş miyelinli aksonlar, M; normal yapıdaki miyelinli akson, N; Schwann hücre çekirdeği, Öc; ökromatik çekirdek **B.** siyah ok; büyük çaplı aksonların yanında küçük çapa sahip ama normal kılıf kalınlığına sahip sağlıklı aksonlar, N; Schwann hücre çekirdeği, Öc; ökromatik çekirdek, M; schwann hücresi etrafında yeni miyelinleşme gösteren henüz küçük çap ve ince miyelin kılıfa sahip akson

4. 5. 6. Kontrol Hasarlı Yağ Grubu (KY)

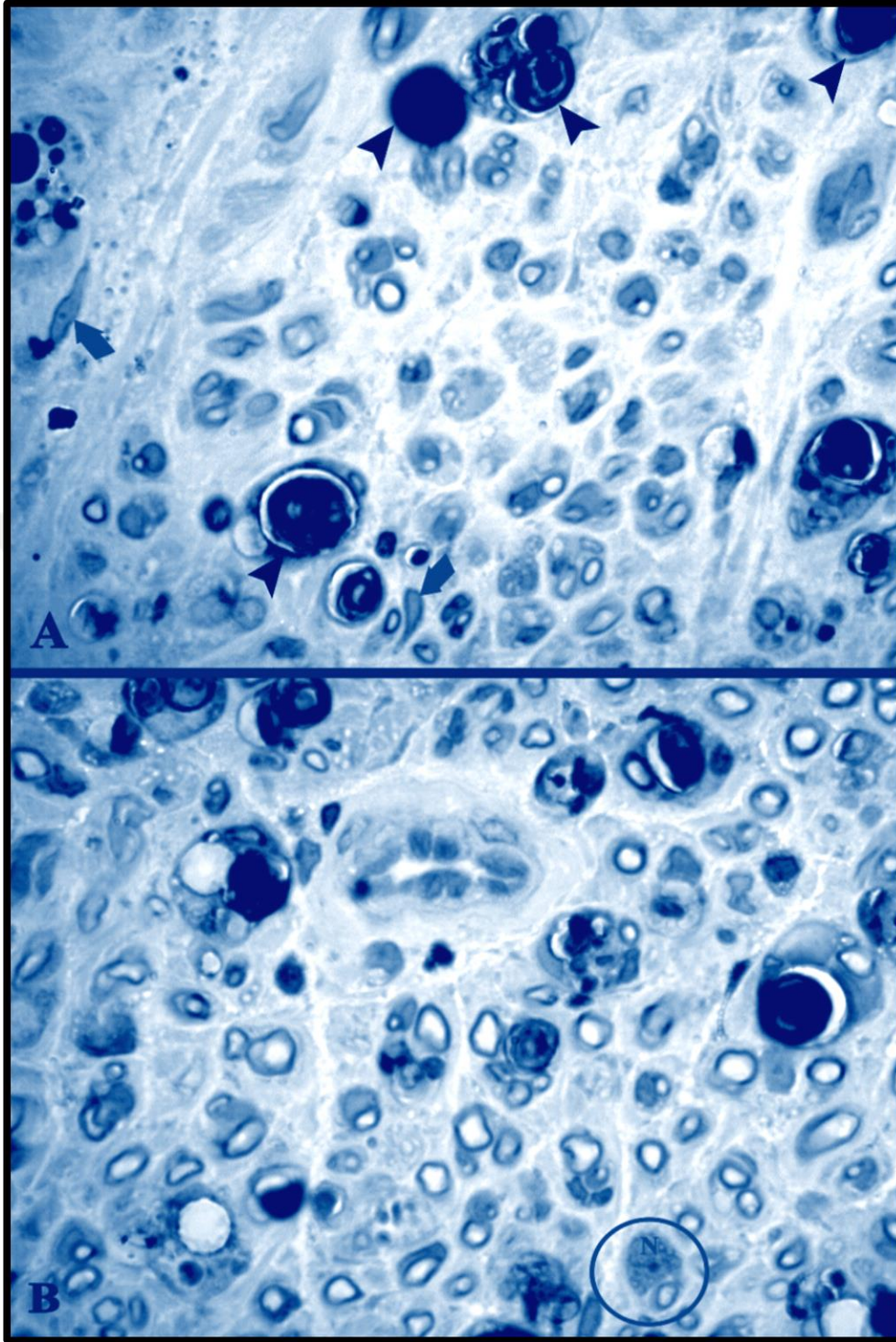
Kontrol hasarlı yağ enjeksiyonu yapılan gruba ait sinir doku örneklerinin ince ve yarı ince kesitlerinde elektron mikroskobu ve ışık mikroskobu düzeyinde sinire ait bağ doku yapılanması, verilen hasarı tolere edecek ve tedaviye yanıt vermiş düzeyde normale yakın görünümde gözlemlendi. Kontrol hasarlı grubuna kıyasla bakıldığında, genel olarak miyelinli aksonlar ve miyelin kılıflar tedaviyi destekler nitelikte normale yakın, düzgün bir görünüme sahipti. KPS grubuna kıyasla ise daha fazla miyelinli ve miyelinsiz akson yoğunluğu, daha küçük çapta miyelinli aksonlar ve daha ince miyelin kılıf varlığı göze çarpmaktaydı. Bunun yanında kimi aksonlar, içlerindeki miyelin yığınlarından ötürü dejenere miyelin kılıf yapısı göstermekteydi. Ayrıca ortamda, oval ya da yuvarlak nispeten ökromatik bir çekirdeğe sahip, sitoplazmalarında elektron dens birçok salgı granülünün bulunduğu mast hücreleri de yer almaktaydı. Özellikle dejenere alanlarda, mast hücrelerinin Schwann hücreleri ve sinir liflerine komşu yerleşimi ilgi çekici bulundu (Şekil 60). Miyelinli aksonların arasında miyelinsiz aksonlar da bulunmaktaydı fakat hasar oluşturulan gruba kıyasla daha sık yerleşimli ve daha fazla kümelenmiş durumları göze çarpmaktaydı. Hasar oluşturulan grupta bulunan endonöryumdaki genişlemiş perivasküler bağ dokusu alanları bu grupta yoktu ve neredeyse normale yakın genel bir görüntünün varlığı dikkat çekiciydi. Schwann hücrelerinin, aksonların etrafında belirgin sitoplazmik sınırları ve ökromatik çekirdekleriyle sağlıklı görünümde oldukları izlendi. Ayrıca yer yer sinir doku içerisindeki bağ dokuda yerleşik düzenli damar yapılanmaları da göze çarpmaktaydı. Miyelinsiz aksonlarda ise Schwann hücrelerinin birden fazla aksonu aynı zamanda sarmış olduğu görüldü (Şekil 57-58-59-60-61-62-63-64-65-66).



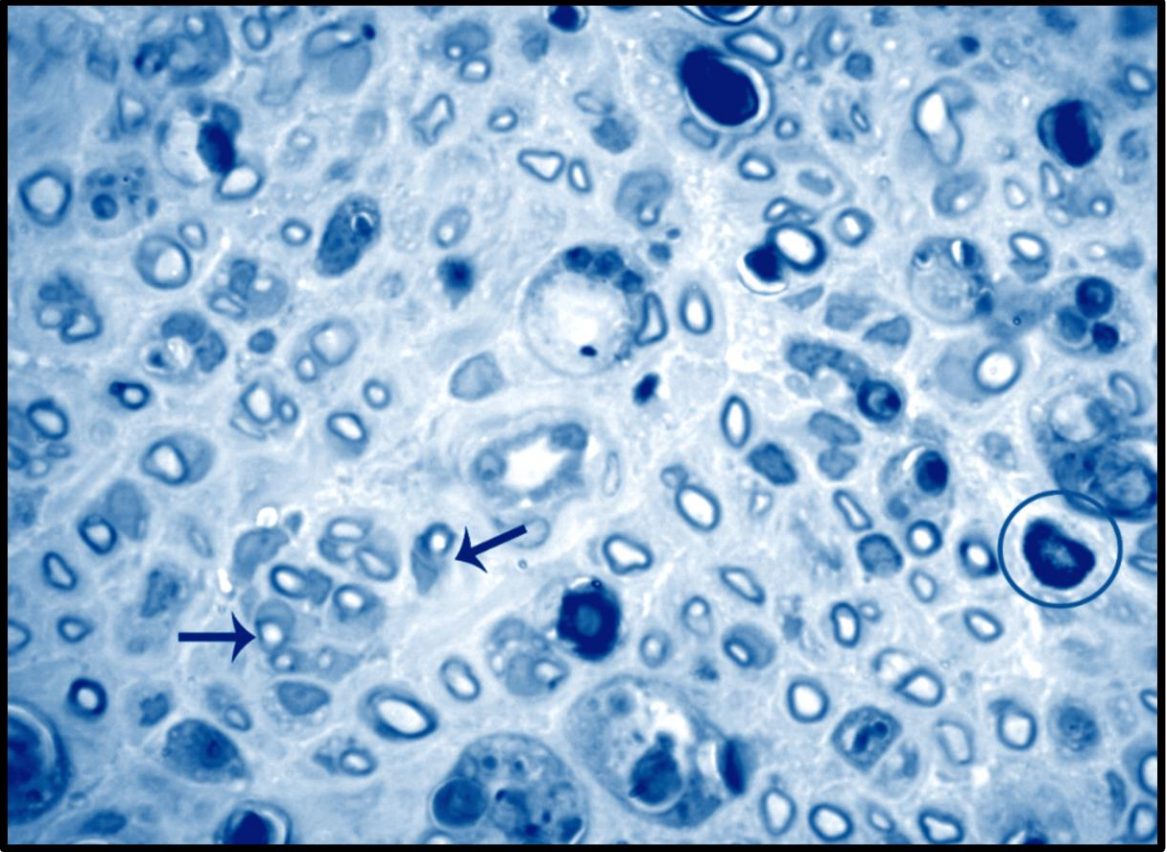
Şekil 57. Kontrol hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait ışık mikroskopik görünümler. **A.** Sinirin dıştan epinöryum (Ep) adı verilen fibröz bağ dokusuyla sarılı olduğu ve miyelinli ve miyelinsiz liflerden oluştuğu izlenmektedir. Sinir liflerinin aralarında kan damarları ve bağ dokusunun varlığı da gözlenmektedir



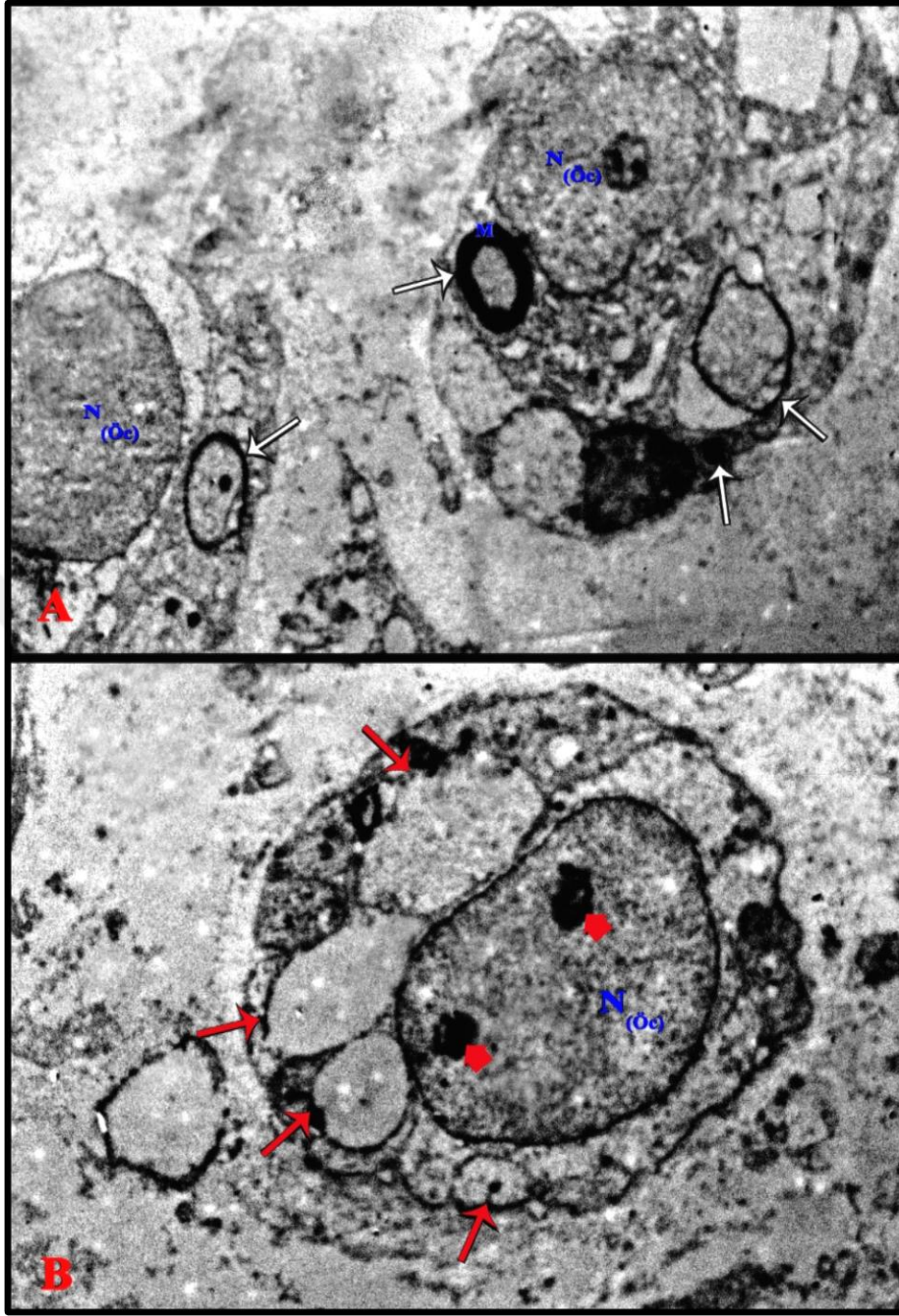
Şekil 58. Şekil 57’de kare içine alınan alanın yüksek büyütmedeki görüntüsüne bakıldığında genel olarak normale yakın, tedaviye yanıt veren yapıda bir siyatik sinir histolojisi gözlenmektedir. Ep; sağlıklı görünüme sahip, fibroblasttan ve damardan zengin epinöryum bağ dokusu, Ok başı: sağlıklı görünüme sahip damar, yıldız; miyelinli ve miyelinsiz aksonlar arasını dolduran sağlıklı bağ dokusu (endonöryum), endonöryum içerisinde çok sayıda küçük çaplı ve Schwann hücrelerine sahip remiyelinize olan miyelinli aksonlar dikkat çekmektedir, Oklar; remiyelinize olan çok sayıda aksonun etrafında bulunan dejenere olmuş miyelinli aksonlar görülmektedir



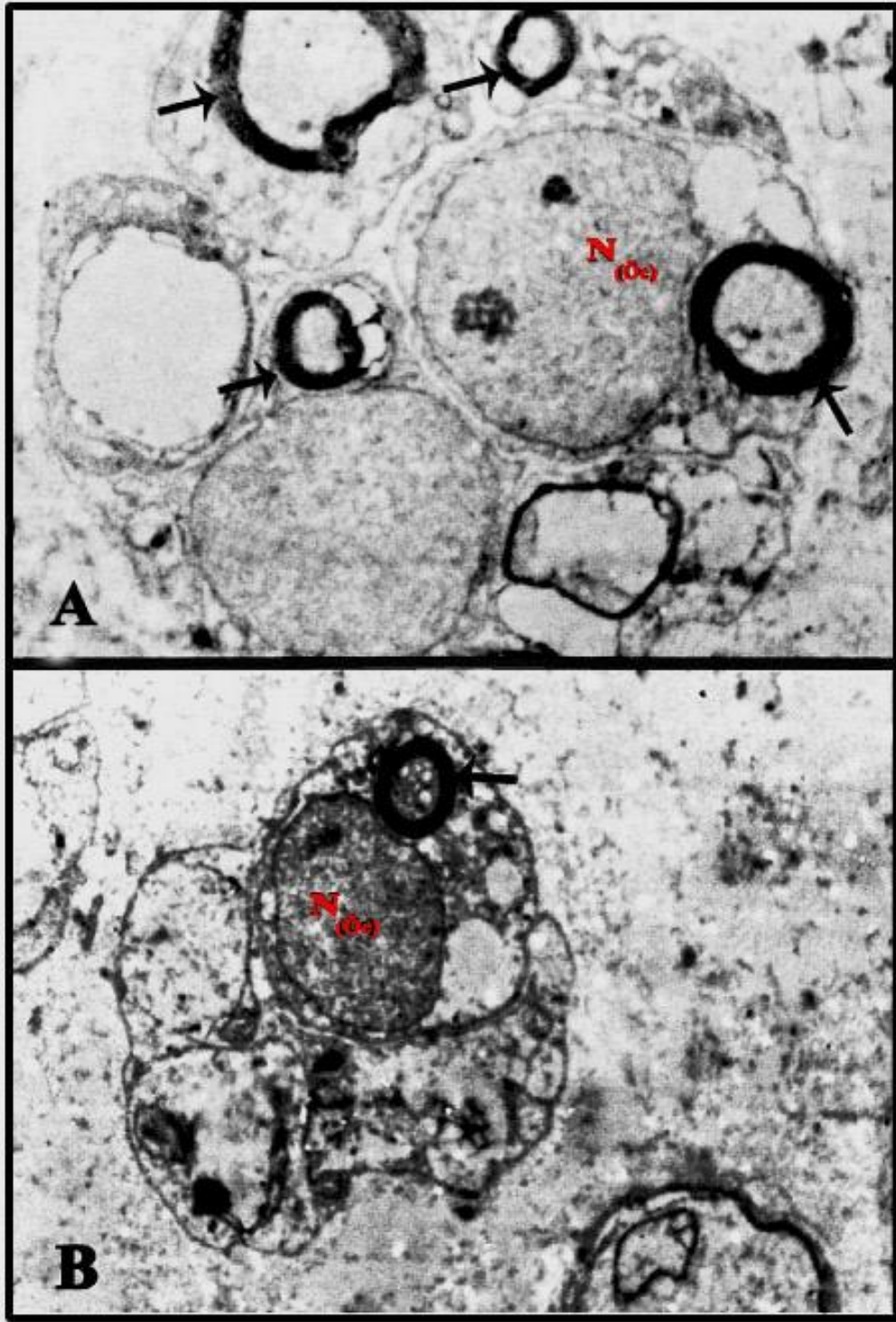
Şekil 59. Kontrol hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait ışık mikroskopik görüntümler. **A.** Ok; endonöryum ve epinöryum sınırı içindeki fibroblastlar, Kırmızı yuvarlak; Schwann hücresi ile birlikte bulunan çok sayıda miyelinli aksondan birisi, Ok başı; dejenere olmuş miyelinli aksonlar **B.** Yuvarlak; Schwann hücresi ile birlikte bulunan miyelinli akson, N; belirgin sitoplazmik sınıra, ökromatik çekirdeğe ve belirgin çekirdekçiğe sahip Schwann çekirdeği görülmektedir



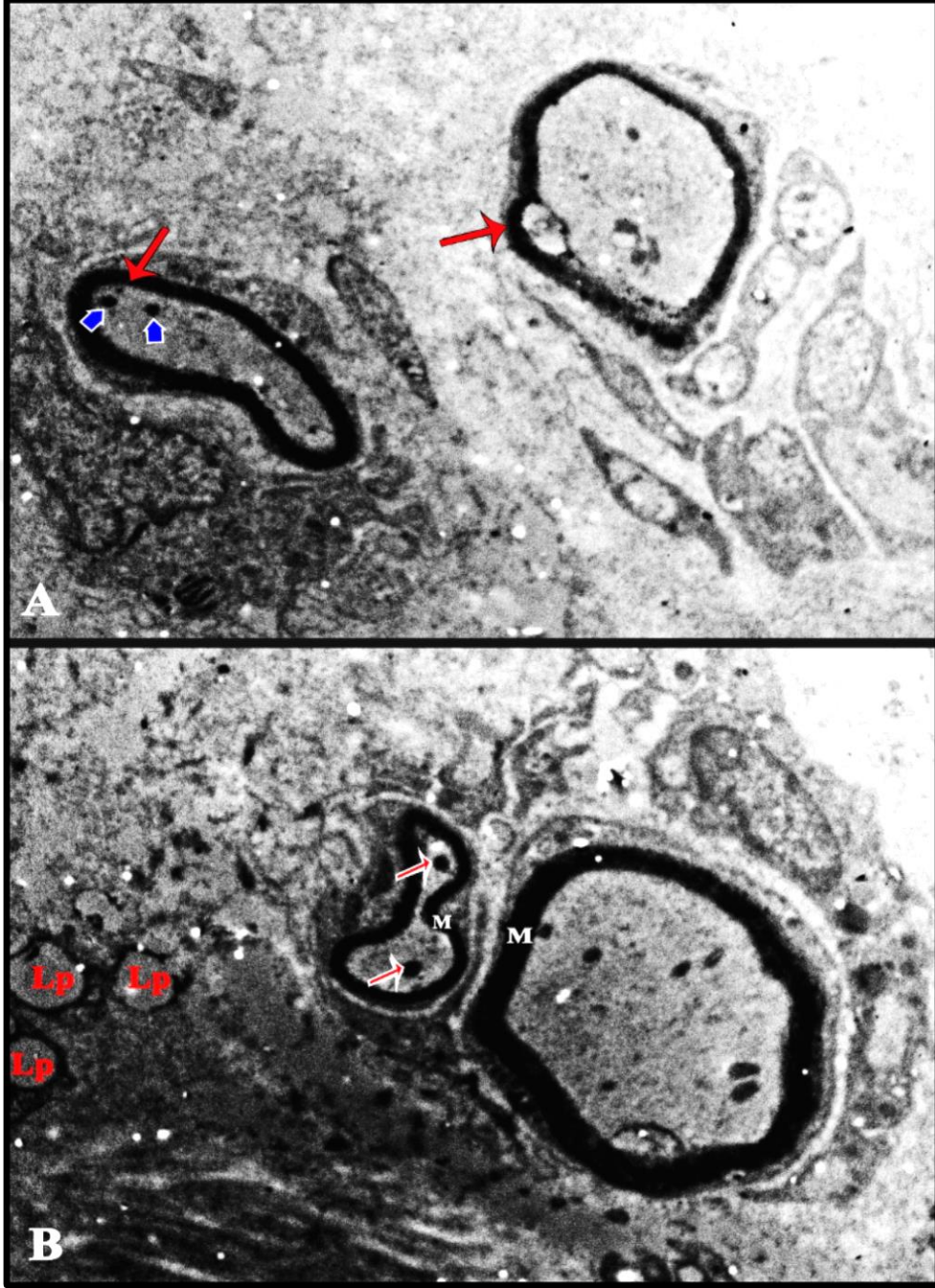
Şekil 60. Kontrol hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait ışık mikroskopik görünüm. Miyelinli aksonların kısmen yok olduğu, tüm alana Schwann hücre proliferasyonuna bağlı olarak soğan zarı görünümünün hâkim olduğu izlenmekte, Yuvarlak; mast hücresi, Oklar; rejenerasyon odakları gösterilmektedir



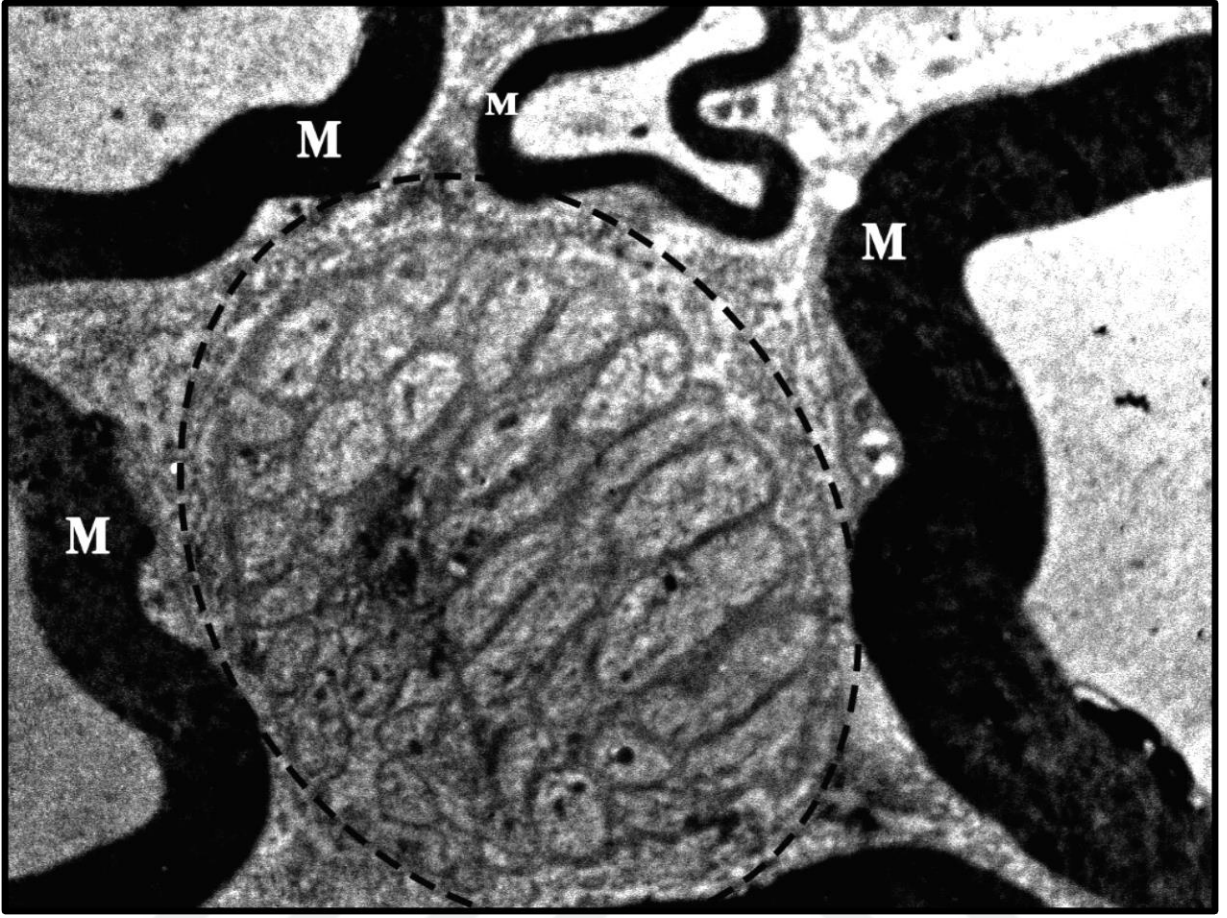
Şekil 61. Kontrol hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait elektron mikroskopik görüntümler. **A.** M; normal yapıdaki miyelinli akson, Beyaz ok; yeni miyelinleşmeye sahip olan akson grubu, N; Schwann hücre çekirdeği, Öc; Ökromazi gösteren çekirdek bölgeleri **B.** Kırmızı ok; Schwann hücresi etrafında yeni miyelinleşmeye sahip olan akson grubu, N; Schwann hücre çekirdeği, Ok başı; Schwann hücre sitoplazmasındaki mitokondriler görülmektedir



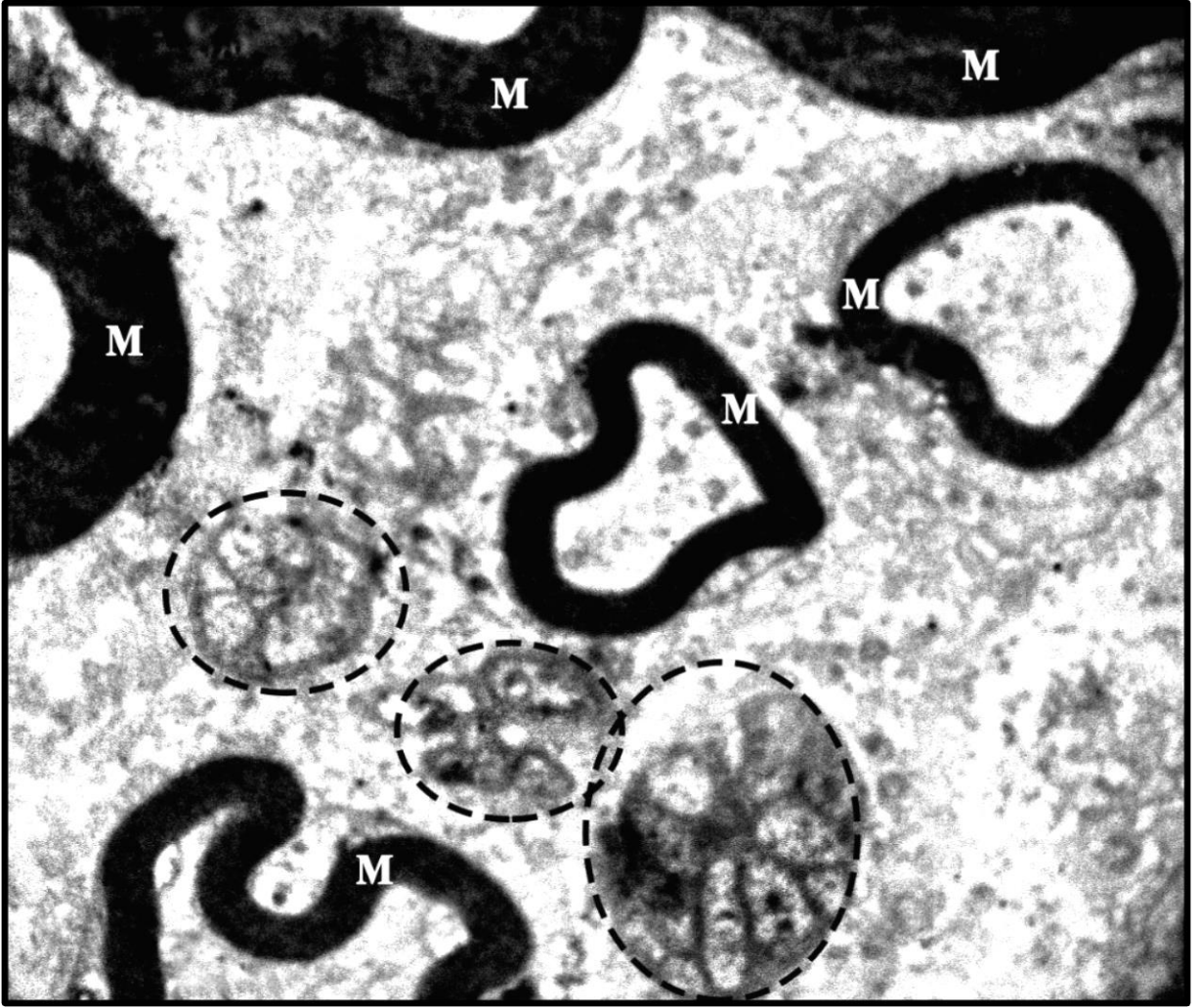
Şekil 62. Kontrol hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait elektron mikroskopik görüntümler. **A, B.** Siyah ok; Schwann hücresi etrafında yeni miyelinleşmeye sahip olan akson grubu, N; Schwann hücre çekirdeği, Öc; Ökromazi gösteren çekirdek bölgeleri görülmektedir



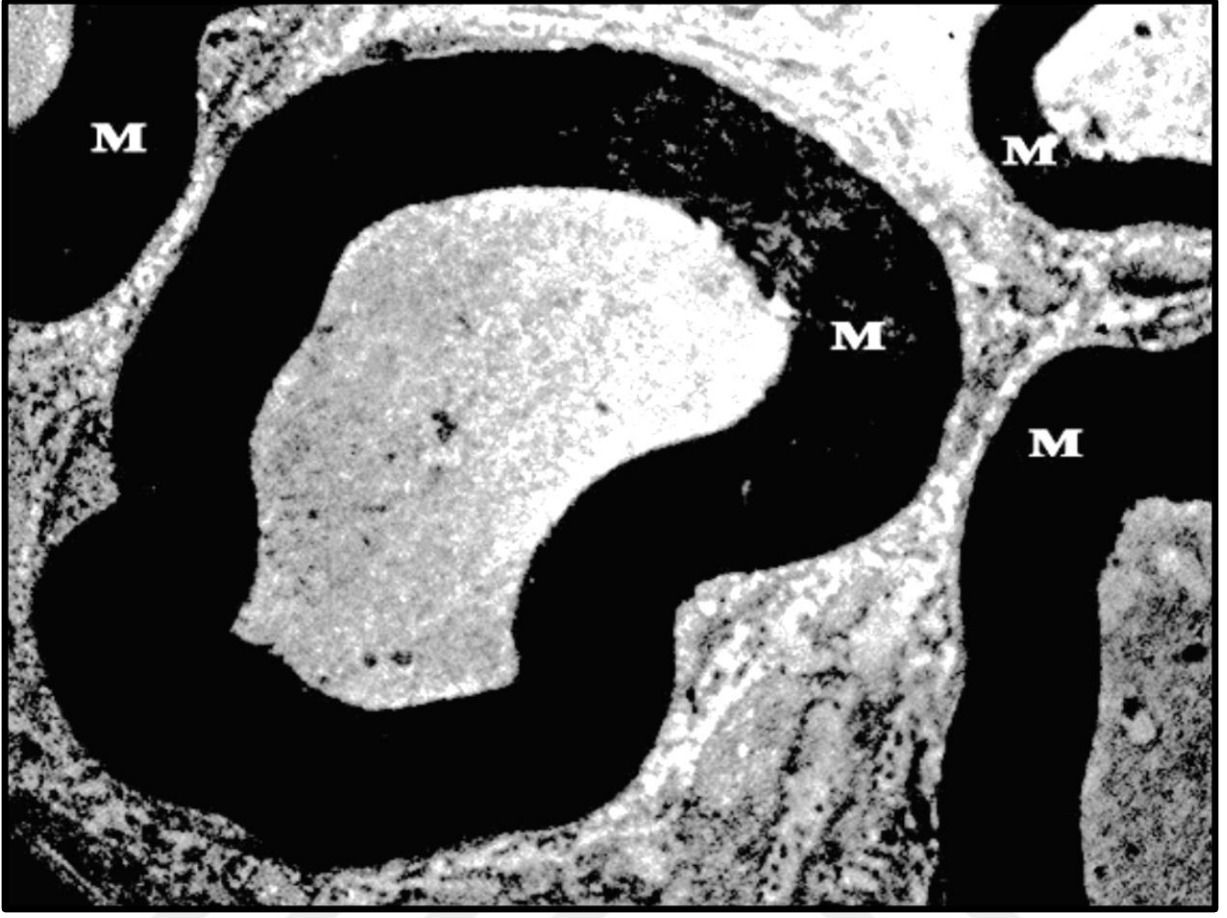
Şekil 63. Kontrol hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait elektron mikroskobik görüntümler. **A.** Kırmızı ok; yeni miyelinleşmeye sahip olan akson grubu, Mavi ok başı; Schwann hücre sitoplazmasındaki mitokondriler **B.** Kırmızı-beyaz ok; Schwann hücre sitoplazmasındaki mitokondriler, M; normal yapıdaki miyelinli akson, Lp; lipid damlacıkları görülmektedir



Şekil 64. Kontrol hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait elektron mikroskopik görünümler. M; normal yapıdaki miyelinli aksonlar, Elips şekli; rejenerasyonu destekleyen çok sayıda miyelinsiz akson grubu görülmektedir



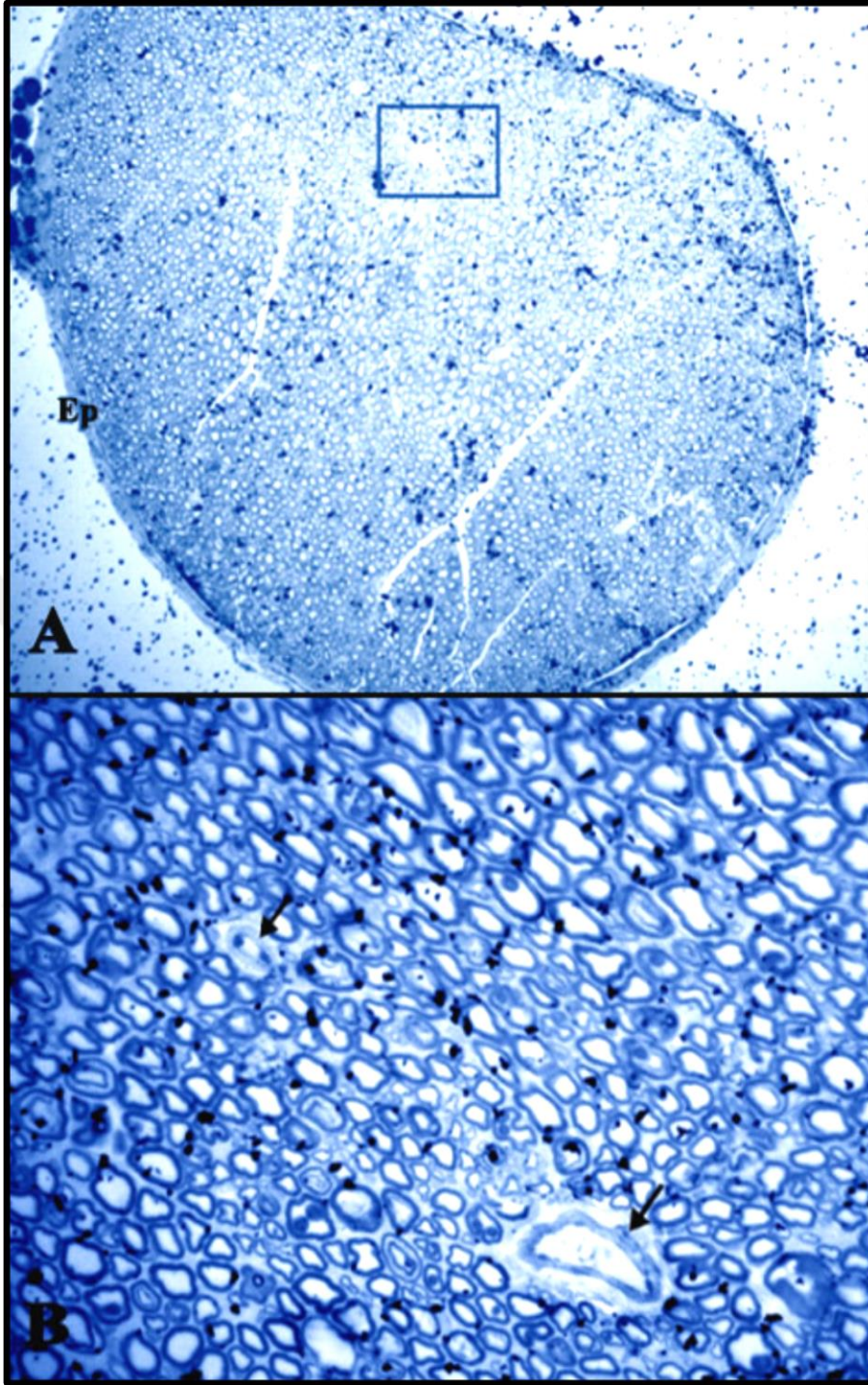
Şekil 65. Kontrol hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait elektron mikroskopik görüntümler. M; normal yapıdaki miyelinli aksonlar, Elips şekli; rejenerasyonu destekleyen çok sayıda miyelinsiz akson grubu görülmektedir



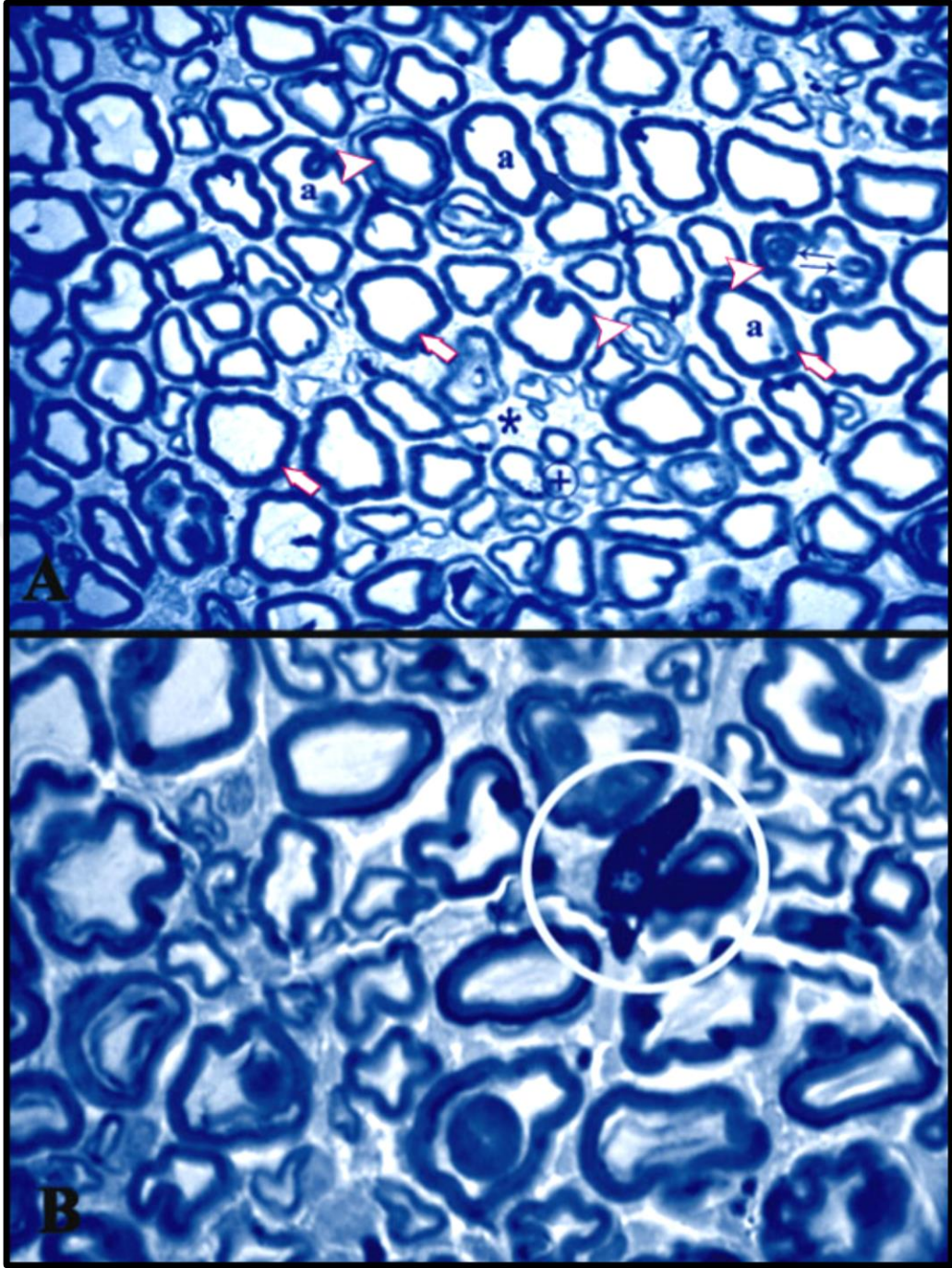
Şekil 66. Kontrol hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait elektron mikroskobik görüntümler. M; normal yapıdaki miyelinli aksonlar, Elips şekli; rejenerasyonu destekleyen çok sayıda miyelinsiz akson grubu görülmektedir

4. 5. 7. Obez Hasarlı Periferik Sinir Grubu (OPS)

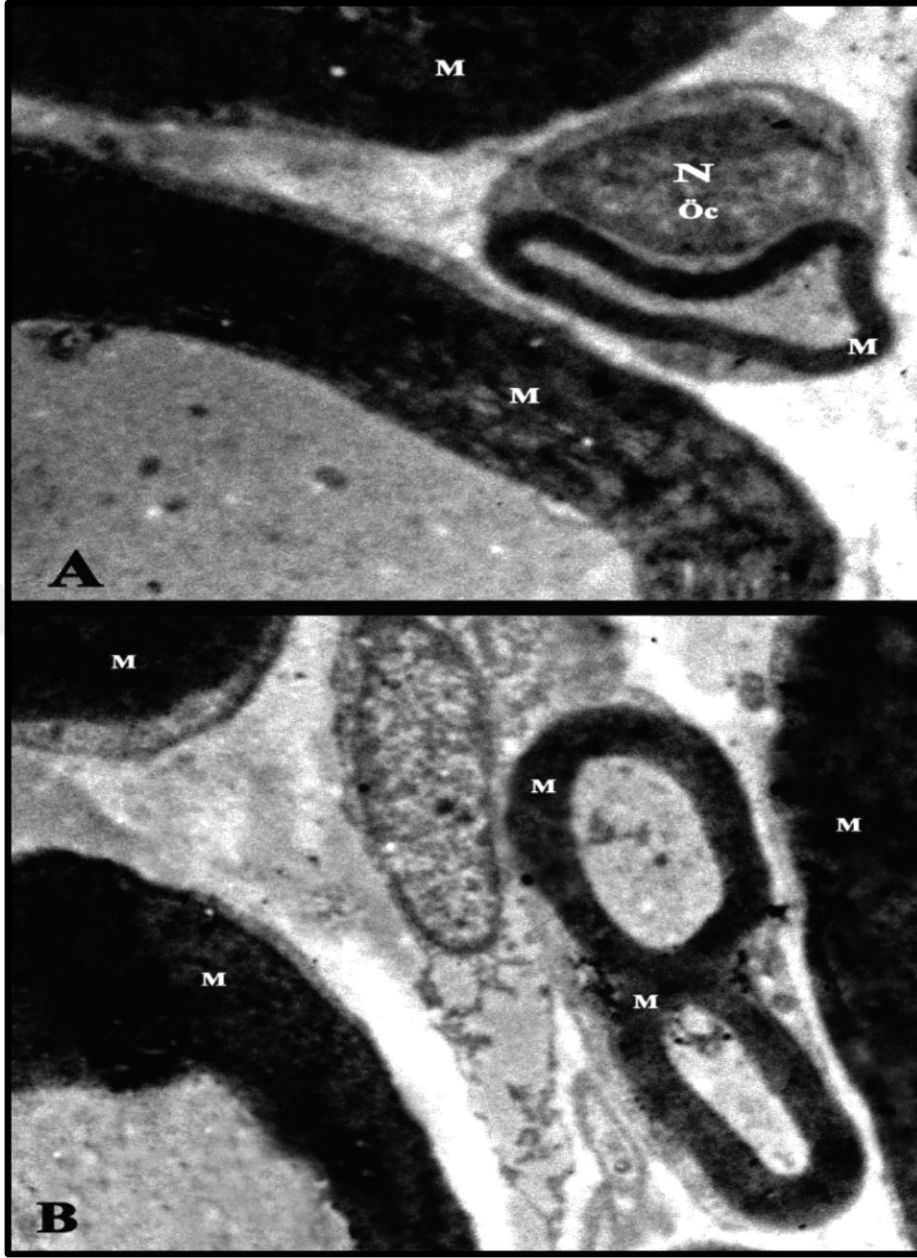
Obez hasarlı periferik sinir enjeksiyonu yapılan gruba ait sinir doku örneklerinin ince ve yarı ince kesitlerinde elektron mikroskobu ve ışık mikroskobu düzeyinde sinire ait bağ doku yapılanması, verilen hasarı tolere edecek düzeyde normale yakın görünümde gözlemlendi. OH gruba kıyasla bakıldığında, genel olarak miyelinli aksonlar ve miyelin kılıflar tedaviyi destekler nitelikte normale yakın, düzgün bir görünüme sahipti. Obez kontrol grubu ile kıyaslandığında hemen hemen aynı miyelinli akson yoğunluğuna sahip olduğu fakat verilen hasardan dolayı daha küçük çapta miyelinli aksonlar ve daha az kalınlıkta miyelin kılıf varlığı göze çarpmaktaydı. Miyelinli aksonların arasında miyelinsiz aksonlar da bulunmaktaydı fakat hasar oluşturulmayan gruba göre daha seyrek yerleşimli, hasar oluşturulan gruba kıyasla ise daha sık yerleşimli ve daha çok kümelenmiş durumları göze çarpmaktaydı. Hasar oluşturulan grupta bulgularanan endonöryumdaki genişlemiş perivasküler bağ dokusu alanları bu grupta yoktu ve neredeyse normale yakın genel bir görüntünün varlığı dikkat çekiciydi. Schwann hücrelerinin, aksonların etrafında belirgin sitoplazmik sınırları ve ökromatik çekirdekleriyle sağlıklı görünümde oldukları izlendi. Sinir liflerinin aralarında dejenere miyelin kılıf yapılarını fagosite etmiş halde izlenen çok sayıda makrofajın varlığı kaydedildi (Şekil 68-B). Makrofajların sitoplazmalarında çok sayıda fagozom bulunmaktaydı. Ayrıca yer yer sinir doku içerisindeki bağ dokuda yerleşik düzenli damar yapılanmaları da göze çarpmaktaydı (Şekil 67-68-69-70).



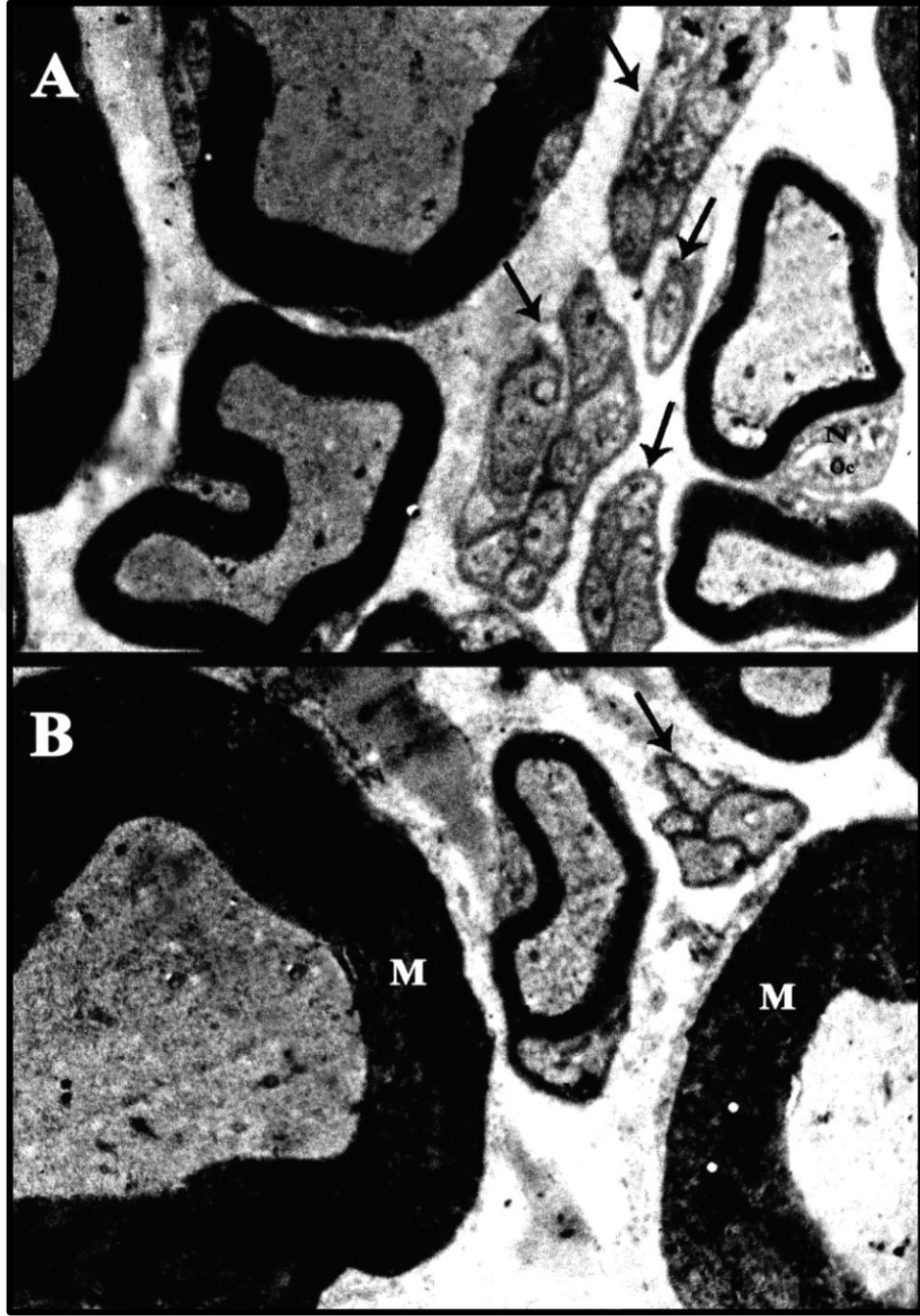
Şekil 67. Obez hasarlı periferik sinir enjekte edilen gruba ait ışık mikroskopik görüntümler. **A.** Sinirin dıştan oldukça düzgün bir epinöryum (Ep) ile sarılı olduğu ve miyelinli ve miyelinsiz liflerden oluştuğu izlenmektedir. Sinir liflerinin aralarında kan damarları ve bağ dokusunun varlığı da gözlenmektedir. **B.** A'da kare içine alınan alanın yüksek büyütmedeki görüntüsüne bakıldığında genel olarak oldukça düzgün, neredeyse normale yakın yapıda bir siyatik sinir histolojisi gözlenmektedir. Siyah Oklar; sağlıklı görünüme sahip damarları göstermektedir



Şekil 68. Obez hasarlı periferik sinir enjekte edilen gruba ait ışık mikroskopik görünüm. **A.** Miyelinli sinir liflerinin önemli bir kısmında miyelin kılıfın akson (a) içerisine doğru invajine olduğu (ikili ok) ve miyelin kılıf lamellerinin yer yer birbirinden ayrıldığı (ok başları) dikkati çekmektedir, yıldız; miyelinli ve miyelinsiz aksonlar arasını dolduran sağlıklı bağ dokusu (endonöryum), artı; endonöryum içerisinde çok sayıda küçük çaplı remiyelinize olan miyelinli aksonlar dikkat çekmektedir **B.** Yuvarlak; Sinir liflerinin aralarında hiperkromatik çekirdeğe sahip sitoplazmalarında geniş vakuoller ve fagozomlar içeren makrofaj hücresi görülmektedir



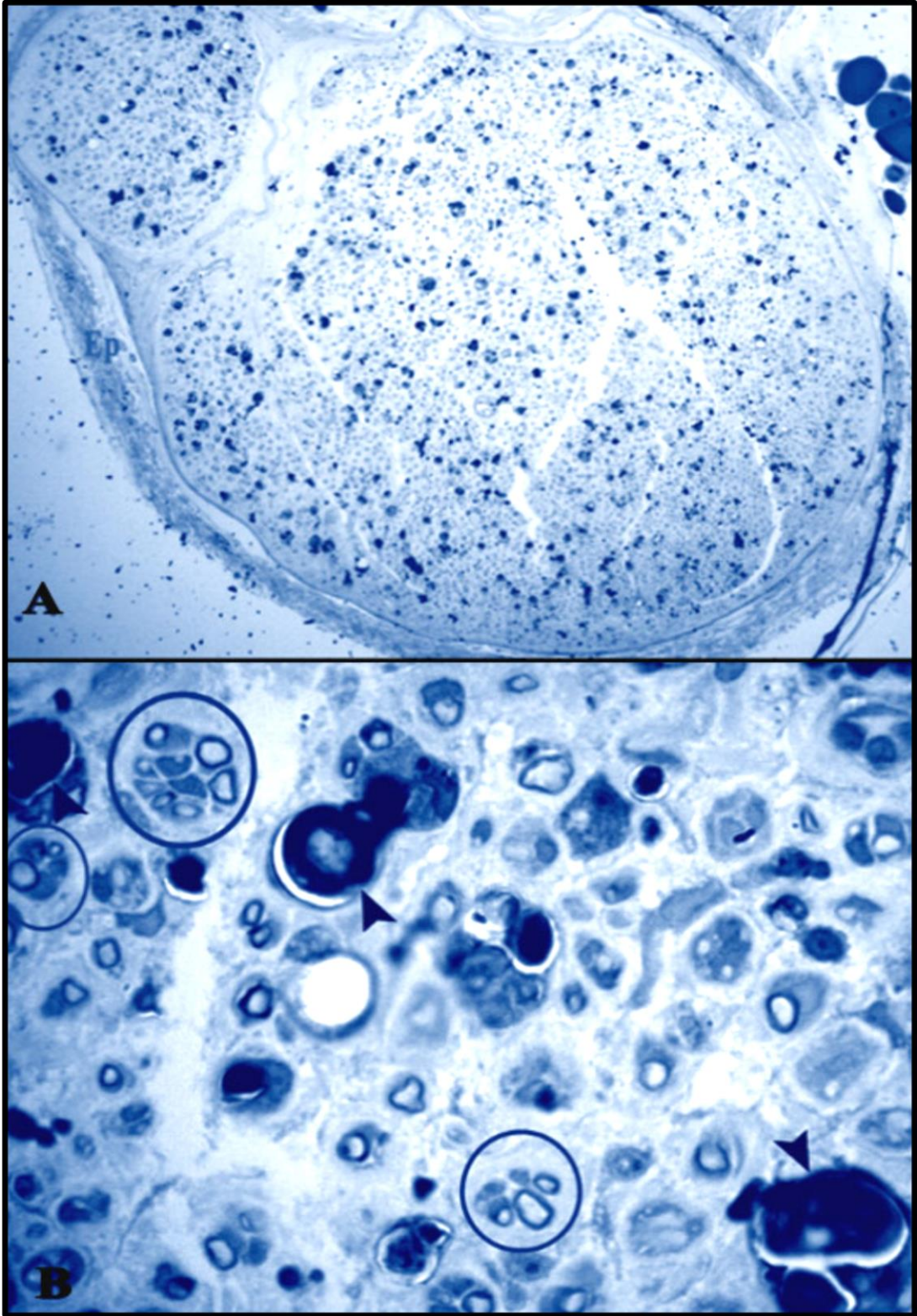
Şekil 69. Obez hasarlı periferik sinir enjekte edilen gruba ait elektron mikroskopik görüntümler. **A, B.** M; normal yapıdaki miyelinli aksonlar, N; Schwann hücre çekirdeği, Öc; Ökromazi gösteren çekirdek bölgeleri görülmektedir



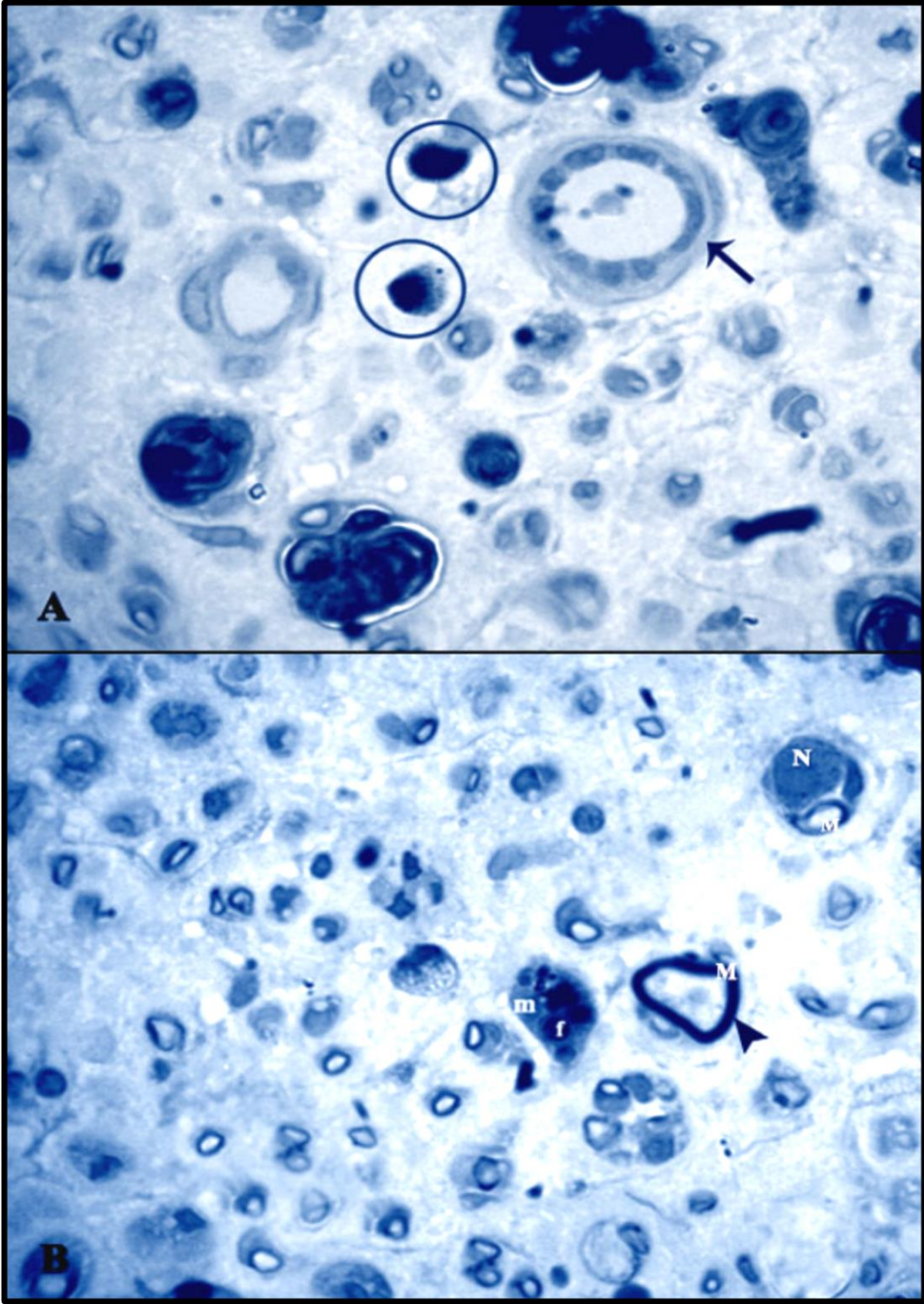
Şekil 70. Obez hasarlı periferik sinir enjekte edilen gruba ait elektron mikroskopik görüntümler. **A, B.** M; Schwann hücre çekirdeğine sahip normal miyelinli akson yapısı, N; Schwann hücre çekirdeği, Öc; Ökromazi gösteren çekirdek bölgesi, Siyah ok; rejenerasyonu destekleyen çok sayıda miyelinsiz akson grubu görülmektedir

4. 5. 8. Obez Hasarlı Yağ Grubu (OY)

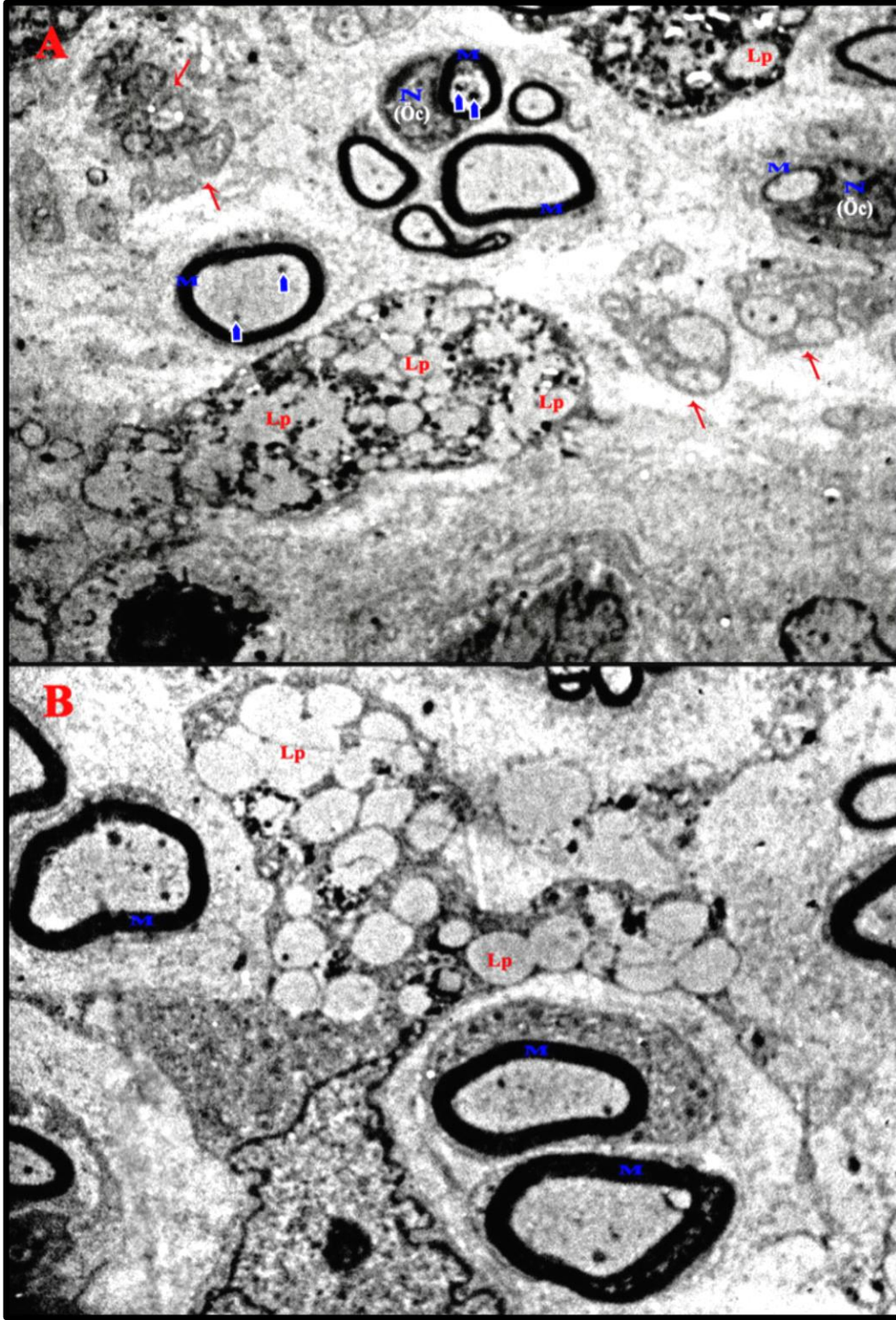
Obez hasarlı yağ enjeksiyonu yapılan gruba ait sinir doku örneklerinin ince ve yarı ince kesitlerinde elektron mikroskobu ve ışık mikroskobu düzeyinde sinire ait bağ doku yapılanması, tedaviye yanıt vermiş düzeyde normale yakın görünümde gözlemlendi. Genel olarak bakıldığında stereolojik bulguları destekler biçimde histolojik bulgular gözlenmekteydi. Obez hasarlı grubu ile karşılaştırıldığında, tedavinin başarılı olduğunu gösteren biçimde OH grubunun mikroskop görüntülerinden daha sağlıklı bir görünüm gözlenmekteydi. KY grubu mu daha başarılı OY grubu mu daha başarılı diye bakıldığında ise; OY grubu ortalama miyelin kılıf kalınlığı ve miyelinsiz akson sayısı bakımından hasarı daha iyi tedavi ettiği görülmekteydi. Bunun yanında çok az sayıda da olsa kimi aksonlar, içlerindeki miyelin yığınlarından ötürü dejenere miyelin kılıf yapısı göstermekteydi. Dejenarasyonun belirgin olduğu alanlarda, fibroblast sitoplazmalarında bol miktarda ribozom yanında, çeşitli büyüklüklerde lipid damlacıklarının birikimi de ilgi çekici bulundu. Sinir liflerinin aralarında dejenere miyelin kılıf yapılarını fagosite etmiş halde izlenen makrofajların varlığı kaydedildi. Makrofajların sitoplazmalarında çok sayıda fagozom bulunmaktaydı. Dejenarasyonun belirgin olduğulanlarda, fibroblast sitoplazmalarında çeşitli büyüklüklerde lipid damlacıklarının birikimi de ilgi çekici bulundu (Şekil 73-A,B; Şekil 74-A; Şekil 76-A,B). Özellikle dejenere alanlarda, mast hücrelerinin Schwann hücreleri ve sinir liflerine komşu yerleşimi ilgi çekici bulundu (Şekil 72-A,B). Bunun dışında, sinir liflerinin aralarında aktif fibroblastların yanında, farklı yönlerde düzenlenmiş, kollajen liflerden zengin fibröz bağ dokusunun artışı da izlendi (Şekil 74-B; Şekil 76-B). Miyelinli aksonların arasında miyelinsiz aksonlar da bulunmaktaydı fakat hasar oluşturulan gruba kıyasla daha sık yerleşimli ve daha fazla kümelenmiş durumları göze çarpmaktaydı. Hasar oluşturulan grupta bulgularan endonöryumdaki genişlemiş perivasküler bağ dokusu alanları bu grupta yoktu ve neredeyse normale yakın genel bir görüntünün varlığı dikkat çekiciydi. Schwann hücrelerinin, aksonların etrafında belirgin sitoplazmik sınırları ve ökromatik çekirdekleriyle sağlıklı görünümde oldukları izlendi. Ayrıca yer yer sinir doku içerisindeki bağ dokuda yerleşik düzenli damar yapılanmaları da göze çarpmaktaydı. Miyelinsiz aksonlarda ise Schwann hücrelerinin birden fazla aksonu aynı zamanda sarmış olduğu görüldü (Şekil 71-72-73-74-75-76).



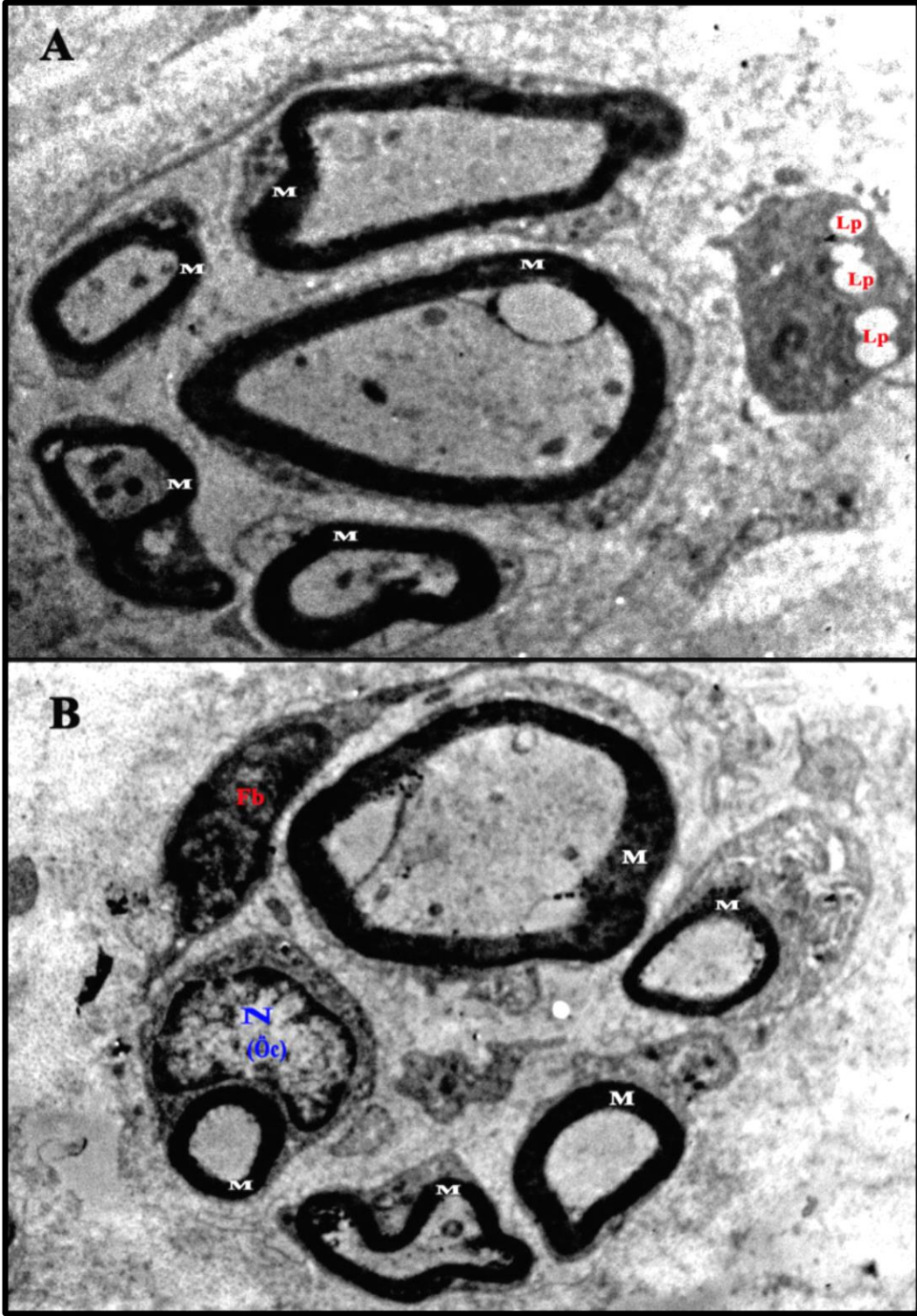
Şekil 71. Obez hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait ışık mikroskopik görüntümler. **A.** Sinirin düzgün bir epinöryum (Ep) dokusuyla sarılı olduğu görülmektedir **B.** Yuvarlaklar; Schwann hücresi ile birlikte bulunan çok sayıda miyelinli aksonlar ve bir rejenerasyon bulgusu olarak oluşturdukları soğan zarı görünümü görülmektedir



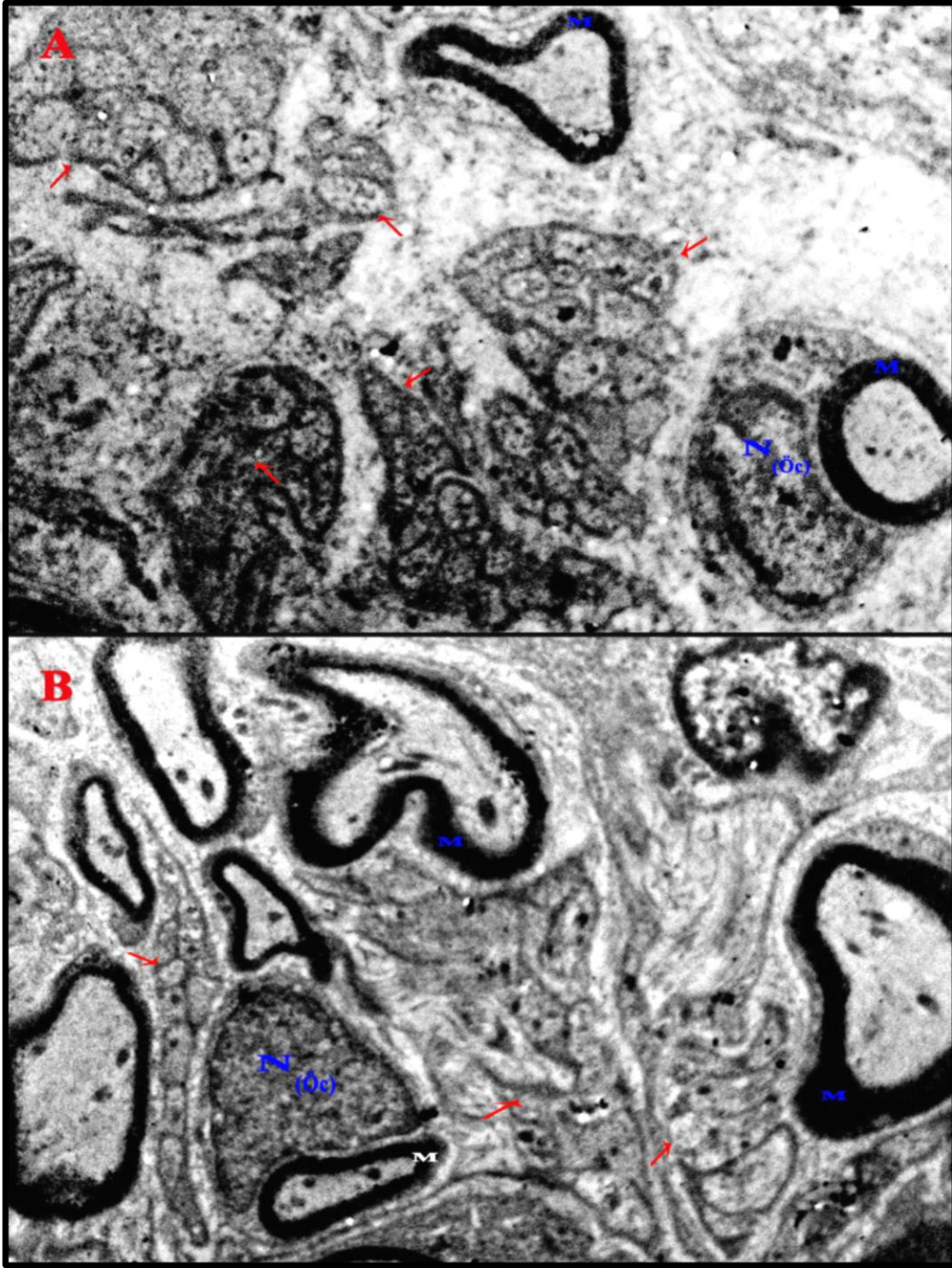
Şekil 72. Obez hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait ışık mikroskobik görünüm. **A.** Yuvarlak; mast hücresi, Siyah ok; sağlıklı görünüme sahip damar **B.** Ok başı; çapını ve miyelin kılıf kalınlığını arttırmakta olan miyelinli akson (M), N; belirgin sitoplazmik sınıra ve ökromatik çekirdeğe sahip Schwann çekirdeği, m;sinir liflerinin aralarında dejenere miyelin kılıf yapılarını fagosite etmiş halde izlenen makrofaj ve sitoplazmasındaki çok sayıda fagozom (f) görülmektedir



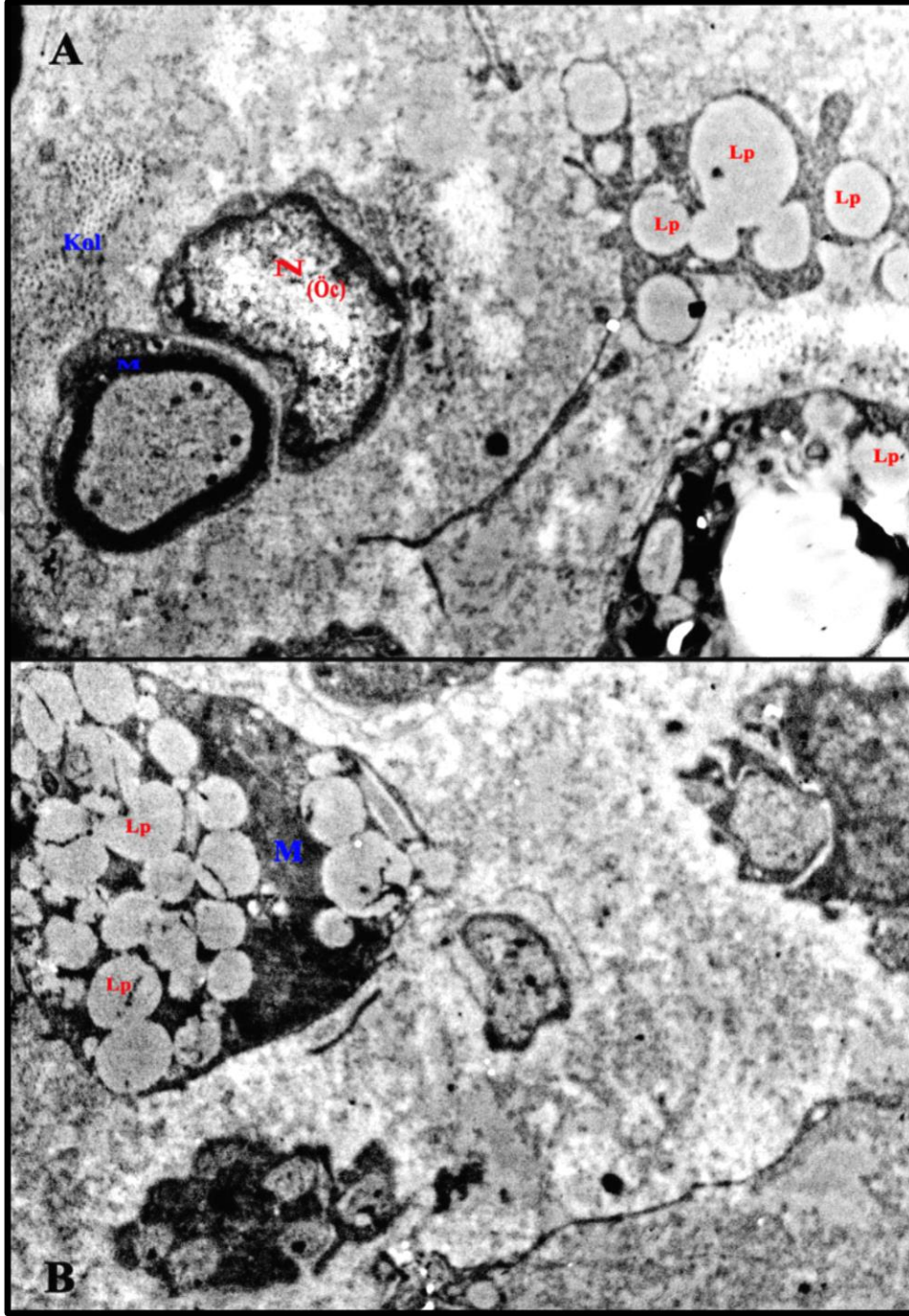
Şekil 73. Obez hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait elektron mikroskobik görüntüler. Rejenerasyon sürecinin ardından kesitlere genel olarak bakıldığında dejenerasyon bulguları çok az sayıda ve rejenerasyon bulgularının ise oldukça fazla olduğu gözlenmektedir. **A, B.** M; normal yapıdaki miyelinli akson, N; Schwann hücre çekirdeği, Öc; önkromatik çekirdek, Mavi ok; miyelinli akson sitoplazmasındaki mitokondriler, Kırmızı ok; miyelinsiz aksonlar, Lp; lipid damlacıkları görülmektedir



Şekil 74. Obez hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait elektron mikroskopik görünüm. **A, B.** M; normal yapıdaki miyelinli akson, N; Schwann hücre çekirdeği, Öc; ökromatik çekirdek, Siyah ok; miyelinsiz aksonlar, Lp; lipid damlacıkları, Fb; fibroblast görülmektedir



Şekil 75. Obez hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait elektron mikroskopik görüntümler. Rejenerasyon sürecinin ardından kesitlere genel olarak bakıldığında dejenerasyon bulguları çok az sayıda ve rejenerasyon bulgularının ise oldukça fazla olduğu gözlenmektedir. **A, B.** M; normal yapıdaki miyelinli akson, N; Schwann hücre çekirdeği, Öc; ökromatik çekirdek, Kırmızı ok; miyelinsiz aksonlar, Lp; lipid damlacıkları görülmektedir



Şekil 76. Obez hasarlı yağ enjekte edilen gruba ait elektron mikroskobik görüntümler. Rejenerasyon sürecinin ardından kesitlere genel olarak bakıldığında dejenerasyon bulguları çok az sayıda ve rejenerasyon bulgularının ise oldukça fazla olduğu gözlenmektedir. **A, B.** M; normal yapıdaki miyelinli akson, N; Schwann hücre çekirdeği, Öc; ökromatik çekirdek, Lp; lipid damlacıkları, Kol; endonöryum içerisindeki kollojen lifler, **M**; makrofaj sitoplazması görülmektedir

5. TARTIŞMA

Obezite; sosyal, kültürel, genetik, metabolik, fizyolojik, davranışsal ve psikolojik bileşenleri olan karmaşık, kronik bir hastalıktır. Birkaç yüzyıl önce obezite, " güzellik " sembolü olarak kabul edilirken, artık günümüzde hem estetik açıdan kabul görmemekte, hem de sağlığı tehdit eden önemli bir problem olarak kabul edilmektedir (Heysmfield ve ark., 1989). Son yirmi yıldan bu yana büyük bir artış hızı göstererek küresel ölçekte milyonlarca insanı etkileyen pandemik bir hastalık halini almıştır. Şişmanlık, vücutta lokalize veya yaygın bir şekilde aşırı yağ bulunması olarak tanımlanmakta ve pekçok hastalıkla ilişkilendirilmektedir (Mahan ve Escott-Stump, 1996; Bagchi ve Preuss, 2007). Obezitenin sağlık açısından önemi kuşkusuzdur. Olumsuz etkileri ilk olarak Hipokrat, Galen ve İbni Sina tarafından bildirilmiş olup obezitenin kanser, tip 2 diyabet, safra kesesi hastalıkları, yüksek kolesterol, ateroskleroz, kalp hastalığı, hipertansiyon, felç, depresyon, böbrek taşları, uyku apne sendromu ve böbrek yetmezliği gibi birçok kronik hastalıkla ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Abdel-Halim, 2005; Logue ve ark., 2011; Buschemeyer ve Freedland, 2007; Zimmerman ve ark., 2011; Kutlutürk ve ark., 2011; Gupta ve ark., 2010). İskelet kasları ve yağ dokusu gibi bazı vücut bölgelerinin düşük sempatik aktivitesinin kilo alımı ve obezite gelişimi için bir risk faktörü olabileceği ileri sürülse de obezitenin sinir sistemi üzerine olan etkileri ile ilgili yeterli sayıda literatür çalışması yoktur (Davy ve Orr, 2009).

Obezitenin giderek artış gösterdiği ve hayati önem taşıyan birçok sağlık sorununa yol açtığı yapılan çalışmalarda açıkça görülmektedir (Tubitak, 2007; Annagür, 2010). Tüm dünyayı ciddi derecede tehdit eden bu durumun organlar, sistemler ve metabolizma üzerine ne gibi etkilerinin olduğunu bilmek gerekir. Obezitenin sinir sistemine etkileri hakkında literatürde pek fazla çalışma bulunmamaktadır. Dolayısıyla PSS üzerine ne gibi etkileri olduğu da henüz aydınlanmamıştır (Bekar, 2011).

Periferik sinir rejenerasyonu ile ilgili çalışmalarda, sıçan sıkça kullanılan bir hayvandır. Kolay elde edilebilirliği, ucuz olması ve sinir trunkuslarının insanlardakine benzerliği, bu hayvanların tercih edilme sebepleri arasında sayılabilir. Özellikle sıçan siyatik siniri, uzun seyri, orta uyluk bölgesinde kolay disseksiyona izin vermesi ve manipülasyon için uygun bir alana sahip olması önemli bir seçim sebebidir (Martins ve ark., 2006). İnsanlarda siyatik sinir yaralanmaları nadir olmasına karşın, deneysel modellerde bu sinirin tercih edilmesindeki bir diğer neden de, unifasiküler karışık tip bir sinir olması ve farklı boyut ve

tiplerde aksonları içermesi nedeniyle kapsamlı bir araştırma olanağı sağlamasıdır. Böylelikle hem duyu, hem de motor fonksiyonlar aynı anda değerlendirilebilir (Luis ve ark., 2007; Varejao ve ark., 2004; Martins ve ark., 2006).

Periferik sinir araştırmalarında sıklıkla aksonotmezis hasar modeli için, sıçan siyatik siniri ezilme tarzı yaralanma modeli kullanılır (Özbayoğlu, 2008). Ezilme tarzı sinir yaralanma modeli, periferik sinir rejenerasyonunun hüresel ve moleküler mekanizmalarını ve rejenerasyon süreci üzerine farklı faktörlerin etkilerini incelemek için oldukça uygun bir modeldir (Özbayoğlu, 2008). Deneysel olarak periferik sinirlerde ezilme tarzı yaralanması oluşturmak için tanımlanmış pek çok teknik vardır. Bu tip deneysel çalışmalardaki temel sorun hasar miktarının standardize edilememesidir. Sabit bir basınç uygulanmış olsa bile, bazı sinir lifleri etkilenmeden devamlılıklarını koruyabilecekleri için, özellikle elektrofizyolojik ölçümlerde yanılmalara neden olabilir. Bu problemi en aza indirmek için 58 Newtonluk basınç uygulayan portegü özel olarak hazırlatılarak kullanıldı (Özbayoğlu, 2008).

Çeşitli çalışmalarda saptanan farklı fonksiyonel rejenerasyon zamanları, muhtemelen farklı basınçların sinir üzerinde oluşturdukları farklı ezilme hasarı derecelerine bağlıdır (Dijkstra ve ark., 2000; Varejao ve ark., 2004; Gasull ve ark., 2005; Hadlock ve ark., 2005; Luis ve ark., 2007). Bu çalışmada kullanılan özel hazırlanan portekü yardımı ile siyatik sinirlerin hemen hepsinde, benzer şekilde ve benzer derecede sinir hasarı oluşturulmaya çalışıldı. Tüm deneklerde portagü ile yapılan ezilme hasarı sonrasında tam fonksiyonel ve duyu kaybı gözlemlendi. Ayrıca histopatolojik olarak da ezilen sinirlerin bütünlüğünün ve içerdiği bileşenlerin (akson, bağ dokusu kılıflar ve hücreler) kontrol grubundaki gibi sağlıklı görünümünde olmadığı tespit edildi. Sinir hasarı sonrası PSS iyileşmesi MSS onarımından daha kolay olarak değerlendirilse de sinir rejenerasyonundaki mekanizmalar hala tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Çeşitli moleküllerin bu mekanizmalarda önemli roller oynadıkları gösterilmiş olmasına rağmen özellikle birbirleriyle olan etkileşimlerinin nasıl olduğu açık değildir (Allodi ve ark., 2012).

Bir periferik sinirin herhangi bir nedenle bütünlüğünün bozulması durumunda organizma bunu tamir etmek için gerekli doğal mekanizmalara sahiptir. Yine de rejenerasyon denilen bu sürecin başarılabilmesi için bazı şartlar gerekmektedir. PSS' de nöropraksinin ötesine geçen tüm yaralanmalarda sinirin distalinde Wallerian dejenerasyon gelişmekte ve ne kadar uzun bir sinir olduğundan bağımsız olarak proksimal kısım ile birlikte distal kısmın rejenere olması gerekmektedir. Burada sinir rejenerasyonunun en önemli aşaması olan

proksimal ve distal kısımlar arasında fiziksel olarak uygun bir bağlantının oluşması bu tip sinir bütünlüğünün bozulduğu durumlarda çok önemlidir (Horn ve Crumley, 1984).

Rejenerasyonun değerlendirilmesinde fonksiyonel ve morfolojik yaklaşımların kullanıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur (Luís ve ark., 2007; Tos ve ark., 2008; Piskin ve ark., 2009; Kaplan ve ark., 2010; Gärtner ve ark., 2012). Ancak pençe kavrama testi, elektrofizyolojik testler, yürüyüş yolu analizleri ve histomorfometrik değerlendirmelerin hiçbiri tek başına sinirin bütüncül fonksiyonuyla ilgili yeterli bilgi sunmamaktadır. Çünkü bu değerlendirme parametrelerinin her biri rejenerasyonun farklı bir aşaması hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlamakta ve bu yüzden aralarında çoğunlukla bir korelasyon olmamaktadır.

Miyelinli ve miyelinsiz akson sayısı sinirin bütüncül fonksiyonunu belirlemede yetersizdir. Kesit alanında var olan ancak hedef organa ulaşamamış aksonların olabileceği ve bunun da fonksiyonel değerlendirmeleri etkileyebileceği unutulmamalıdır (Kanaya ve ark., 1996). Yine akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı da sinirin fonksiyonel iyileşmesinden çok olgunluğuyla ilgili bilgi vermektedir. Çünkü aksonlar hedef organlara ulaşmadan da miyelinizasyon gerçekleşebilmektedir (Kanaya ve ark., 1996; Varejao ve ark., 2004). Yine elektrofizyolojik testler rejenerasyon alanı geçen en hızlı ve en çok miyelinize olmuş aksonlar hakkında bilgi veren bir yaklaşım olup sinirin bütüncül fonksiyonunu ölçmez (Kanaya ve ark., 1996). Olası rejenerasyonu tüm yönleri ile ortaya koyacak tek ve etkili bir yöntem henüz tanımlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada; rejenerasyonun olup olmadığını saptamak ve olası rejenerasyonun derecesinin ne olduğunu bulmak için elektrofizyolojik, histolojik ve stereolojik değerlendirme yöntemleri bir arada kullanılmıştır.

İlgili parametreler açısından, yetişkin mezenkimal kök hücrelerin periferik sinir rejenerasyonuna etkisi ve obezitenin bu rejenerasyon modelindeki yeri ile ilgili bulgular güncel literatür ışığında aşağıdaki şekilde açıklanabilir:

Aksonal rejenerasyon, doku onarımındansa hücre onarımının öncelikli olduğu biyolojik bir olaydır. Rejenerasyon esnasında temel amaç hücre sayısının artması değil, her bir hücrenin başlangıçtaki yani sağlıklı morfolojilerine geri dönüşümünün sağlanabilmesidir. Bu dönüşümün sağlanabilmesi için gerekli olaylar endotelial hücrelerin, fibroblastların ve Schwann hücrelerinin çoğalması gibi lokal yara iyileşme bölgelerinde meydana gelen değişikliklerden ibarettir (Lundborg, 2004).

Yapılan çalışmalarda, ezilme tarzı yaralanmalardaki aksonal rejenerasyon hızının kopma tarzı yaralanmalardan daha hızlı olduğu görülmüştür (Hadlock ve ark., 2005; Brushart, 2011; Önger, 2013). Ezilme tarzı yaralanmada akson filizlerinin sayısı kopma tarzı yaralanmalardakinden daha azdır (Brushart, 2011). Yaralanma modeli ve obezite durumu ne olursa olsun, periferik sinir yaralanmaları sonrasında, sinirdeki miyelinli ve miyelinsiz akson sayılarında verilen hasardan dolayı olağan olan bir azalma saptanmıştır (Önger, 2013). Sunulan bu çalışmada da siyatik sinir örnekleri üzerinde yapılan stereolojik değerlendirmelerde ortalama akson sayıları belirlendi. Gruplardan elde edilen veriler istatistiksel açıdan birbirleriyle kıyaslandığında, hem K ile KH grupları arasında hem de OK ile OH grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$). Çalışma gruplarımızdan KH ve OH gruplarında K ve OK gruplarına kıyasla miyelinli akson sayıları bakımından tespit edilen azalma mevcut literatür ile uyumludur (Önger, 2013).

Yine sunulan bu çalışmada Bekar (2011) ve Önger (2013)'in çalışmalarında olduğu gibi hasarlanan kontrol ve obez grupların rejenerasyon sürecine cevabının farklı olduğu görülmektedir. Bekar'ın çalışmasında yağlı diyet ile oluşturulan obezitenin siyatik sinir üzerinde rejenerasyon sonucu akson sayısına olumsuz etkileri olduğu saptanmıştır. Miyelinli akson sayısının, kontrol hasarlı grubuna göre obez hasarlı grubunda azaldığı ve farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu vurgulanmıştır ($p<0,05$) (Bekar, 2011). Bekar'ın çalışma sonuçlarından farklı olarak başka bir çalışmada obezitenin hasar öncesi ve sonrasında miyelinli akson sayısına olumlu etkileri olduğu saptanmıştır (Önger, 2013). Önger'in çalışmasında obez grubun (obez ve obez hasarlı), kontrol (kontrol ve kontrol hasarlı) grubuna kıyasla rejenerasyonda miyelinli akson sayısını daha da artırdığı belirlenmiştir ($p<0,05$). Sunulan bu çalışma sonuçlarında da Önger'in çalışmasında olduğu gibi, K/OK ve KH/OH grupları arasında miyelinli akson sayıları bakımından elde edilen artan yönde ileri derecede anlamlı istatistiksel fark ($p<0,01$), obeziteye bağlı vücutta artan yağ doku kitlesinin sahip olduğu yüksek kök hücre potansiyelinden ötürü rejenerasyona olumlu katkı sağladığı ile açıklanabilir (Önger, 2013).

Yine aksonal rejenerasyonda önemli rol oynayan fibroblastların büyük çoğunluğunun epinöral orijinli olduğu bilinmektedir. Endonöral fibroblastların çoğalma hızının rejenerasyonun başlamasından kısa bir süre sonra azalmaya başlamasına rağmen, epinöral fibroblastların çoğalma hızı hasardan sonraki 6. haftada bile yüksek oranda devam

etmektedir. Artan bağ doku elemanlarının sayısı da aksonal büyümei arttıran etkenlerden biridir (Lundborg, 2004). Çalışmamızdaki obezite gruplarında özellikle epinöryum etrafında yoğun olarak artan yağ doku kitlesi epinöral bağ doku elemanlarının sayısal değerlerinde adı geçen şekilde etki yapmış olabilir. Bu durum ise kontrol grubuna göre obez grupta daha ileri düzeyde bir aksonal rejenerasyonu açıklayabilir.

Rejenerasyon sürecinde miyelinli bir sinirden filizlenen akson, kendisini çevreleyen distal segmentteki Schwann hücrelerini miyelin kılıf oluşturması yönünde tetiklerken, miyelinsiz aksonlar başlangıçta miyelinli olan bir distal sinir lifine doğru rejenerer olsalar bile miyelinsiz olarak kalmaktadırlar (Lundborg, 2004). Bir çalışmada, hasar oluşumu sonrası çok sayıda miyelinsiz aksonun dejenere olması, bir kısmının distal kısma ulaşamaması ve ulaşanların da bahsedildiği şekilde miyelinsiz olarak kalması miyelinsiz akson sayısını rejenerasyon öncesi duruma göre oldukça azalttığı ileri sürülmüştür (Önger, 2013). Yapılan bu çalışma sonuçlarında da Önger'in çalışmasında olduğu gibi, miyelinsiz akson sayıları bakımından azalan yönde elde edilen K/KH arasında ileri derecede anlamlı ($p<0,01$); OK/OH grupları arasında ise anlamlı istatistiksel farklar ($p<0,05$) akson sayılarında verilen hasara bağlı olarak beklenen bir sonuçtur (Önger, 2013).

Myelinizasyon derecesi ve akson alanı aksonun olgunluğu ile ilişkilidir (Varejao ve ark., 2004). Oluşan hasardan sonra rejenerasyon aşamasında yeni akson filizleri oluşur. Oluşan bu yeni filizler distal kısma ulaşmayı başarmış aksonlardır. Proksimaldeki akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı ile distale ulaşan yeni akson filizlerinin akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı birbirinden farklıdır. Haliyle yeni filizlenen aksonların akson alanı ve kılıf kalınlıkları proksimaldeki durumlarına göre daha az ve daha incedir. Rejenerasyon devam ettikçe distal kısma ulaşabilen akson filizleri genişleyip olgunlaşarak başlangıçtaki normal çaplarına yakın bir boyuta ulaşırlar (Lundborg, 2004). Bu açıdan bakıldığında çalışma gruplarımızdan K ile KH ve OK ile OH grupları arasında hem akson alanı hem de miyelin kılıf kalınlığı açısından elde edilen azalan yönde istatistiksel fark beklenen bir sonuçtur. Çünkü hasar oluşumu sonrası aksonal rejenerasyonda yeni oluşan akson filizlerinin hem alanları hem de miyelin kılıf kalınlıkları başlangıçtaki duruma göre küçüktür ve tam bir olgunlaşma gerçekleşmemiştir (Önger, 2013). ENMG P(max), P-P arası mesafe değerleri miyelin kılıf kalınlığı ve miyelinizasyon derecesi sonuçlarıyla örtüşmesine de latans değerleri

ile örtüşmesi rejenere olan aksonların miyelin kılıf kalınlıkları ile ilgili görüşlerimizi desteklemektedir.

Miyelinizasyon derecesi ile ilgili olarak, latans değerleri bakımından çalışma gruplarımızdan kontrol ile kontrol hasarlı, obez kontrol ile obez hasarlı grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$). Hasar verilmeyen grupta latans değerleri daha düşük seviyelerde; yani iletinin kasa ulaşma süresi daha az iken hasar verilen grupta latans değerlerinde bir artış meydana gelmiştir yani ileti daha uzun sürede gerçekleşmiştir. Hasardan sonra meydana gelen miyelin kılıf kalınlıklarında ve akson alanlarındaki düşüş bu durumun oluşmasını desteklemektedir.

Özellikle son yıllarda moleküler ve hüresel biyoloji, biyomühendislik ve kök hücre alanındaki önemli gelişmelere paralel olarak periferik sinir rejenerasyonu hakkındaki bilgilerimiz artmaktadır. Son yıllarda periferik sinir yaralanmalarının tedavisinde kök hücrelerin kullanıldığı çalışmalarda önemli sonuçlar elde edilmiştir (Yu ve ark., 2010). Bu amaçla embriyonik, fetal ve erişkin mezenkimal kaynaklı kök hücrelerden yararlanılmaktadır. Mezenkimal kök hücreler kendini yenileyebilen ve kemik, kıkırdak, yağ, kas gibi multiple mezodermal dokulara farklılaşabilme yeteneğine sahip olan hücrelerdir. MKH'lerin potansiyel avantajları otolog donörden temin edilebilmesi ve allojenik MKH'nin nonimmunojenik olmasıdır. MKH'lerin ayrıca *in vitro* ortamda nöronal morfoloji kazanmaları ve nöronal ve nöroglial marker eksprese etmeleri sinir sistemi hasarında kullanımına olan ilgiyi arttırmaktadır. Günümüzde insanlar üzerinde mezenkimal kök hücrelerin Parkinson hastalığında, beyin hasarında, serebral infarktta ve spinal kord hasarında transplantasyonu ile ilgili çalışmalar literatürde mevcuttur (Parr ve ark., 2007; Venkataramana ve ark., 2009; Venkataramana ve ark., 2010). Farklılaşmanın yanısıra kök hücrelerin hasarlı nöronlara rejenerasyon sürecinde trofik destek sağlaması da başka bir olası mekanizmadır (Schwarz ve Schwarz, 2010). Kök hücre tedavisinin bazı durumlarda kayıp nöronların yerini almaktan çok nöronal koruma ve anti-inflamatuvar özellikleri ile tedaviye katkıda bulunduğunu gösterir bilgiler elde edilmiştir (Einstein ve ark., 2007; Vercelli ve ark., 2008).

Bu yüzden bu çalışmada, literatürde bulunmayan bir yaklaşım olarak, obezitenin periferik sinir rejenerasyonunda periferik sinir ve yağ dokusu kökenli mezenkimal kök hücre uygulamaları ile birlikte ve tek başına nasıl bir rol oynadığı araştırıldı. Bu amaçla sıçan siyatik

sinirinde ezilme tipi hasar oluşturuldu ve devamında meydana gelen rejenerasyon dereceleri gözlemlendi.

Daha önceki çalışmalarda periferik sinir rejenerasyonunda Schwann hücrelerinin primer rolleri yanında, eksojen olarak uygulanan nörotropinler, nörokinler ve bazı büyüme faktörlerinin de yararlı etkileri açıklanmıştır. Bu hücrelerin rejenerasyon esnasında sinir büyüme faktörü (NGF) gibi pek çok nörotropik faktörün sentezlenerek retrograd iletimle perikaryona ulaştırıldığı ve nöronda iyileştirici etkiyi başlattıkları kabul edilmektedir (Sencar, 2007). Normalde, akson hasarı sonrası perikaryonda bazı değişiklikler meydana gelir. Bu değişikliklerden biri kromatolizdir (Stoll ve Müller, 1999; Zochodne, 2000; Stoll ve ark., 2002; Ross ve Pawlina, 2006). Kromatolizde nöronlar ‘sinyal iletim’ modundan ‘büyüme’ moduna geçmeye başlarlar. Yani protein sentezi, nörotransmitter yapısına katılacak maddelerin üretimi yerine, aksonal yeniden yapılandırma için gerekli maddelerin üretimi yönüne kayar. Örneğin; büyüme-ilişkili protein 45 (growth-associated protein 45) aksonal büyümede önemli bir role sahiptir ve aksonal transportla hızlıca taşınan bir fosfoproteindir. Akson hasarı sonrası reinnervasyondaki bir azalma, arka kök gangliyonunda bulunan büyüme-ilişkili protein 45’ in seviyesinde 100 kata kadar bir artışa neden olur (Lundborg, 2004). Bir sinir hasarı sonrası, özellikle hasar alanında olmak üzere, hasar alanının proksimal ve distal uçları ile perikaryonda morfolojik ve metabolik değişimlere bağlı kompleks patofizyolojik değişiklikler meydana gelir (Geuna ve ark., 2009). Schwann hücreleri ve makrofajlar, dejenere miyelin kılıf ve akson yıkıntılarını fagosite ederek, yaralanma bölgesini bir haftadan bir aya kadar değişebilen bir süre içerisinde temizlerler (Jones ve ark.,2001; Pagnotta ve ark., 2002; Hirata ve Kawabuchi, 2002; Burnett ve Zager, 2004). Schwann hücreleri tarafından üretilen bir bazal membran sinir lifini sarar ve bu membran rejenerasyonda önemli bir rol oynar. Periferik sinir rejenerasyonunda, aksonun proksimal ucunun hasara yakın kısmı kısa bir alanda bozunur ve daha sonrasında artıklar, makrofajlar ve Schwann hücreleri tarafından temizlenir temizlenmez büyüme başlar. Makrofajlar, interlökin-1’i üretirler. İnterlökin-1 ise Schwann hücrelerini, sinir büyümesini kolaylaştırıcı maddeler salgılamaya iten bir maddedir. Sinir rejenerasyonu proksimal uçtan dışa doğru büyüme şeklinde olur. Yaklaşık bir gün sonunda aksonun proksimal kesit ucu büyüme konisi şeklinde çıkıntı yapar. Büyüme konisi, aksonun proksimal kesit ucundaki aksoplazmik büyüme alanıdır. İnternal aktin filamentler ve miyozin içerir, membranı dışa çıkıntı yapan ameboid tarzda kasılan pekçok filopod içerir (Tennyson, 1970; Selzer, 1980; Letourneau, 1981). İleri doğru hareket bununla sağlanır. Filopod tarafından

uygun bir tutunacak madde algılandığında yapışma olur ve distal segmente ulaşım bağlantı yapmış olunur.

Son çalışmalar göstermiştir ki, Schwann hücreleri, sinir rejenerasyonunda özellikle hasar alanında bu aksonal filizlere önemli ölçüde fiziksel rehberlik yaparlar. Bu fiziksel rehberlik filizlerin distal segmente ulaşmasını sağlar. Öyle ki aksonal rejenerasyon oranı aksonal büyümeden ziyade Schwann hücrelerinin bu fiziksel rehberlikleri tarafından belirlenmektedir (Son ve Thompson, 1995). Dejenarasyon sırasında Schwann hücreleri miyelin ve aksonal artıkların yıkımında başrolü oynar ve kalan endonöral bağ dokusu tabakasının bazal laminası içerisinde polifere olurlar (Satinsky ve ark., 1964).

Bu çalışmada da bu bilgilerin ışığında daha önce hiç çalışılmamış bir uygulama olarak deneklere sinir hasarının hemen ardından 1mm sinir içerisine, perinöryuma periferik sinirden elde edilen sinir homejenatı ve yağ doku homejenatı enjekte edilerek ameliyat bölgesi kapatıldı ve rejenerasyon sürecine bırakıldı. İlgili parametreler açısından, siyatik sinirden ve yağ dokudan elde edilen homejenatların, periferik sinir rejenerasyonuna etkileri ve obezitenin bu rejenerasyon modelindeki yeri ile ilgili bulgular, literatür bilgileri ışığında aşağıdaki şekilde açıklanabilir;

Bu çalışmada, rejenerasyon sürecinden sonra tedavi gruplarındaki miyelinli akson sayıları karşılaştırıldığında; KH-KPS grupları arasında rejenerasyon sürecinde kontrollerde miyelinli akson sayısının artan yönde istatistiksel bir artış göstermesi kontrollerde periferik sinir homejenatından elde edilen kök hücrelerin rejenerasyon sürecine olumlu bir etki yaptığını göstermektedir. KH-KY grupları kıyaslandığında rejenerasyon sürecinde kontrollerde daha fazla artan yönde istatistiksel bir artış göstermesi yağ dokusu homejenatlarından elde edilen kök hücrelerin kontrollerde rejenerasyon sürecine çok daha olumlu bir etki yaptığını göstermektedir. OH-OPS grupları kıyaslandığında rejenerasyon sürecinde obezlerde artan yönde istatistiksel bir artış göstermesi obezlerde periferik sinir homejenatından elde edilen kök hücrelerin rejenerasyon sürecine olumlu bir etki yaptığını göstermektedir. OH-OY grupları arasında; obezlerde artan yönde istatistiksel bir artış göstermesi obezlerde yağ dokusu homejenatlarından elde edilen kök hücrelerin rejenerasyon sürecine olumlu bir etki yaptığını göstermektedir.

KPS ile KY birbirleriyle kıyaslandığında ise; KPS ile KY arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$). Kontrol hasarlılarda yağ homejenatının, periferik sinir

homejenatına göre daha başarılı sonuç verdiği bulunmuştur. Kontrol sıçanların vücutlarında yağ doku kütlesi obez sıçanlara göre daha azdır. Bundan dolayı, kontrol hayvanların rejenerasyon sürecine obez hayvanlara göre hazırlıksız diyebileceğimiz bir noktadan veya geri bir seviyeden başladığını düşünmekteyiz. Gruplardaki periferik sinir ve yağ homejenatı uygulamaları kıyaslandığında; kontrollerde yağ homejenatı uygulamasının periferik sinir homejenatı uygulamasına göre daha olumlu bir etki göstermesi, bünyelerinde hâlihazırda bulunmayan yağ dokusunu dışarıdan bir müdahale ile direkt olarak hasarlı bölgeye vererek tedavi edici bir şok etkisi meydana getirilmesi ile açıklanabilir. Şöyle ki; obez hayvanların epinöryum ve endonöryumunda zaten halihazırda bir yağ kütlesi var ve dolayısıyla fibroblast sayısı çoktur. Çünkü, yağ dokudaki kök hücre yoğunluğu kemik iliğindeki kök hücre yoğunluğundan 100 ila 1000 kat daha fazladır (Terenghi ve ark., 2009). Bu bilgiden yola çıkarak diyebiliriz ki zaten obezlerin kendi bünyelerinde bir kök hücre potansiyeli vardır. Obezitedeki bu yağlanma epinöryum ve endonöryumlarını da etkileyerek bu yağ dokularının da bir kök hücre potansiyeli taşımaya olanak sağlamaktadır.

Obezlerde periferik sinir homejenatı uygulamasının yağ homejenatı uygulamasına göre daha olumlu bir etki göstermesi ise; obez hayvanların epinöryum ve endonöryumunda zaten hâlihazırda bir yağ dokusu var ve dolayısıyla fibroblast sayısı yeterli düzeyde olabilir. Buna tekrar yağ homejenatı verildiğinde çok anlamlı derecede tedavi edici bir şok etki meydana getirmemiş olabilir. Zaten kendi bünyesindeki koruyucu etki ile sıfır seviyesinden yüksek ve iyi bir seviyede kalmayı başaran metabolik ve mekanik mekanizmaya, tekrar aynı etkiyi vererek çok anlamlı olmayacak şekilde az bir iyileşme sağlanmış olduğu söylenebilir. Ayrıca; yapılan çalışmalarda; Schwann hücrelerinin, periferik sinirlerde miyelin kılıf bileşenlerinden olan protein sıfır (P0) ve periferik miyelin protein (PMP) 22'nin ekspresyonunu yaptıkları gösterilmiştir (Mantovani ve ark., 2010). Bu çalışmada uygulanan periferik sinir homejenatı ile direkt olarak Schwann hücresi, fibroblast hücresi ve miyelin kılıf proteinleri (P0, P22) enjekte etme olanağı buluruz; adipoz doku kökenli kök hücrelerin ise farklanma süresi uzundur. Periferik sinir kök hücreleri için ise farklanma süresi beklemeden, yani zaman kaybetmeden, yitirilen Schwann hücrelerinin, fibroblast hücrelerinin ve miyelin kılıf proteinlerinin hızlı bir şekilde yerine temin etmiş olabiliriz. İlaveten; sağlam siyatik sinir Schwann hücrelerinde CNTF (Ciliary neurotrophic factor)' nin yüksek yoğunlukta bulunduğu gösterilmiştir (Terenghi, 1999; Makwana ve Raivich, 2005). CNTF normal periferik sinirlerde bol miktarda bulunduğu, başlıca Schwann hücre stoplazmasında yer aldıkları

bildirilmiştir (Friedman ve ark., 1992; Rende ve ark., 1992). CNTF'nin duyu ve sempatik nöronlarda sinir büyümesini ilerlettiği ve *in vitro* koşullarda, motor nöronların yaşamını desteklediği ve motor nöronların apoptozunu engellediği gösterilmiştir. Ek olarak, sıçanlarda yapılan çalışmalarda da, CNTF'nin aksotomi sonrası motor nöron ölümünü engellediği, aksotomiden sonra CNTF mRNA düzeylerinin belirgin olarak azaldığı, aksonların rejenerasyonundan sonra ise tekrar yükseldiği gözlenmiştir. Böylece CNTF'nin PSS'nin akson rejenerasyonuna yardım ettiği kanaatine varılmıştır (Newman, 1996). Ayrıca, normal siyatik sinir yapısında bulunan Schwann hücrelerinin sitoplazmalarında TGF- β 1 ile TGF- β 3 ve az miktarda TGF- β 2 mevcut olduğu bildirilmiştir (Scherer ve ark., 1993; Shah ve ark., 1995). TGF- β türü sitokinler hücre proliferasyonu ve farklılaşması, matriks oluşumu ve immünoreaktivite üzerine önemli etkileri olan çok fonksiyonlu düzenleyici proteinlerdir (Wang ve ark., 2000; Sulaiman ve Gordon, 2002; Davison ve ark., 1999). Yapılan çalışmalarda, TGF- β 'nin Schwann hücre proliferasyonunda rol oynadığı ileri sürülmüştür (Guenard ve ark., 1995; Stark ve ark., 2001). Bu kanaatlerin ışığında; sağlam bir siyatik sinirden elde edilen homojenatın enjekte edilmesi sonucu zaten homejanat içerisinde doğal olarak bulunan bu nörotrofik maddelerin de hasarı tedavi edici bir etki göstermiş olabileceği düşünülmektedir. Tedavi öncesi ve sonrası periferik sinir örneklerinin MKH potansiyelleri açısından flow sitometrik profillerine bakıldığında ise; özetle, kontrol grupta CD 45 pozitif kök hücrelerin rejenerasyondan sonra azaldığı belkide differensiyasyon olarak rejenerasyona katkı sağladığı düşünüldü. Obez gruplarda ise kontrol gruplara kıyasla CD45 pozitif hücrelerin yanı sıra CD 90 pozitif hücrelerin de rejenerasyon sürecinin ardından sayılarının azaldığı ve böylece obez deneklerde hem CD 45 hem de CD 90 pozitif kök hücrelerin rejenerasyona katkı sağlayabileceği belirlendi.

Obezite konusunda ise özellikle PSS üzerine olan olası etkileri hakkında bir çalışmaya literatür kayıtlarında rastlanılmamıştır. Fakat obezitenin birçok sağlık sorununa yol açtığı bilinen bir gerçektir (Annagür, 2010). Obezite ve sinir sistemi ile yapılan çalışmalarda, obezitenin periferik nöropatiye neden olabileceği, MSS aktivitesini düşürdüğü, yüksek yağlı diyetle beslenerek obez ve prediyabet oluşturulan farelerde nöropati oluştuğu gözlenmiştir (Çolak ve ark., 1997; Okutan, 2001; Miscio ve ark., 2005). Gebelikte obezitenin, fetüs üzerinde konjenital MSS defektleri ile ilişkisi değerlendirilmiştir (Watkins ve ark., 2003). Maternal obezitenin neden olduğu sinir sistemi defektlerinde; spina bifida, anensefali,

hidrosefali, holopronsefali, nöral tüp defektlerinin yer aldığı bildirilmiştir (Watkins ve ark., 2003).

Aksotomi sonrası nükleusun yeni mRNA ve bu sayede aktin, tubulin gibi hücre iskeleti proteinlerini üretmesi gerektiği ve bu durumda üretimi artan GAPs (growth-associated proteins) (büyüme ile ilişkili proteinler) grubu bir protein olduğu açıklanmıştır (Shen ve ark., 2002). Rejenerasyonda akson gelişirken büyüme konisi yakınında, membranda GAP 43 fosfoproteininin bulunduğu ve bu proteinin üretiminin aksotomi sonrasında yaklaşık 100 katına çıktığı açıklanmıştır. Büyüyen ve rejeneren olan nöral membranın iç yüzeyinde bulunan ve aksonal transportu sağlayan bu fosfoproteinlerin protein kinaz C'nin substratını oluşturdukları ve büyüme bölgesinin ilerlemesinde rol aldıkları bildirilmiştir (Fawcett ve Keynes, 1990). Obezlerde, obeziteden dolayı büyüme faktörlerinden biri olan GAP-43 ün azaldığı ve bu yüzden rejenerasyona cevabın obezlerde düşük olduğu bildirilmiştir (Bekar, 2011).

Rejenerasyon sürecinden sonraki miyelinsiz akson sayıları karşılaştırıldığında; K-KH grupları arasında ileri derecede anlamlı fark mevcuttu ($p < 0,01$) ve hasardan sonra miyelinsiz akson sayılarının azaldığı görülmüştür. OK-OH grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$) ve hasardan sonra miyelinsiz akson sayılarının azaldığı görülmüştür. KH-KPS grupları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$). KH-KY grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$) ve hasardan sonra uygulanan yağ homejenatının kontrollerde miyelinsiz akson sayısını artırdığı görülmüştür. OH-OPS grupları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$). OH-OY grupları arasındaki fark istatistiksel olarak ileri derecede anlamlıydı ($p < 0,01$) ve hasardan sonra uygulanan yağ homejenatının obezlerde miyelinsiz akson sayısını artırdığı görülmüştür. Gruplardaki periferik sinir ve yağ homejenatı uygulamaları kıyaslandığında; yağ homejenatı uygulaması periferik sinir homejenatı uygulamasına göre miyelinsiz akson sayılarında bir artış meydana getirdiği bulunmuştur. Miyelinsiz akson sayısında meydana gelen bu artış olumlu yöndedir. Miyelinsiz akson sayısındaki artış ile tedavinin olumlu olması arasında doğru bir orantı bulunur. Çünkü; yapılan çalışmalarda rejenerasyon sürecinde miyelinli bir sinirden filizlenen akson kendisini çevreleyen distal segmentteki Schwann hücrelerini miyelin kılıf oluşturması yönünde tetiklerken, miyelinsiz aksonların başlangıçta miyelinli olan bir distal sinir lifine doğru rejeneren olsalar dahi miyelinsiz olarak kalabildikleri bildirilmiştir (Lundborg, 2004; Önger, 2013). Gap oluşumu sonrası çok sayıda miyelinsiz aksonun dejenere olması, bir kısmının

distal kısma ulaşamaması ve ulaşanların da bahsedildiği şekilde miyelinsiz olarak kalması miyelinsiz akson sayısını rejenerasyon öncesi duruma göre oldukça azaltmış olduğu bildirilmiştir (Önger, 2013). Bu azalış; tıpkı K-KH ve OK-OH grupları arasında olduğu gibi, hasar verilen ve hiçbir tedavi uygulanmayan gruplar için normaldir. Bu bilgilerin ışığında miyelinsiz akson sayısının fazla olması; başlangıçta proksimal segmentte bulunan miyelinsiz aksonların hasar sonrasında bahsedildiği şekilde distal sinir lifine doğru rejenerasyon olabildiklerini ve miyelinsiz olarak kaldıklarını göstermektedir. Bu yüzden hasardan sonra kontrol ve obez gruplara uygulanan yağ homejanatının hasar sonrası miyelinsiz aksonların distal uca doğru rejenerasyon olabileme potansiyelini artırdığına işaret etmektedir. Hasardan sonra kontrol ve obez gruplarda uygulanan periferik sinir homejanatı ise hasar sonrası miyelinsiz aksonların distal uca doğru rejenerasyon olabileme potansiyelinde hiçbir fark oluşturmadığına işaret etmektedir. Fakat; bu sonuçlar değerlendirilirken miyelinsiz akson sayısının belirlenmesindeki bazı dezavantajlar göz önünde bulundurulmalıdır. Histomorfometrik incelemelerde sağlıklı verilere ulaşabilmek için örnekleme tekniği büyük önem taşır. Geuna ve arkadaşlarına göre histomorfometrik analizlerde altın kural tüm sinir liflerinin örnek içerisinde bulunması ve değerlendirmede benzer fırsat eşitliğine sahip olmalarıdır. Sinir lifleri genellikle kesit alanında heterojen bir dağılım gösterir, yani bir alanda oldukça yoğun bulunurlarken, başka bir alanda seyrek olarak izlenebilirler. Ek olarak, alanlar arasında aynı sinir fasikülünde de değişken çaplarda lifler bulunabilmektedir. Sonuç olarak, histolojik olarak incelenen örnekleme alanına göre sonuçlar çok farklı bulunabilir. Bu nedenle histomorfometrik analiz yapılacak bölgeler ve her bir örnekleme alanı içerisinde bulunan sinir lifleri titizlikle seçilmelidir (Geuna ve ark., 2004; Kıraç, 2014).

Elektrofizyolojik analizler hasar sonrası periferik sinir rejenerasyonunu değerlendirmede sıkça kullanılırlar. Sinir liflerinin kas liflerini uyarmaları ile oluşan aksiyon potansiyellerinin, bir amplifikatör aracılığı ile büyütülerek incelenmesi esasına dayanır. Elde edilen aksiyon potansiyelleri bileşik kas aksiyon potansiyelleri olup, bunların üzerinden çeşitli parametreler ölçülerek değerlendirilmede kullanılabilir (Kıraç, 2014).

Elektrofizyolojik testler, sinir onarım hattını geçen aksonlarla ilgili bilgi sunmuş olsa da, bu aksonların yeterli sayıda distal bağlantı yapıp yapamadıkları hakkında bilgi sunamayabilir. Myelinli aksonlarca oluşturulan elektrik voltajını, amplitüdü gösterir. Tüm sinir liflerindeki aktiviteyi göstermekte yetersiz kalır; en hızlı ve en çok miyelinize olmuş olan sinir lifi popülasyonu hakkında bilgi verir. Yani bu parametre de total sinir fonksiyonunu

analiz etmekte yetersizdir (Kanaya ve ark., 1996). Varejao ve ark.'nın 2004 yılında belirttiklerine göre, Cragg ve Thomas isimli araştırmacıların 1964 yılında yapmış oldukları ezilme hasarı sonrası uzun dönem takipli çalışmalarında, rejenere olan liflerin elektrofizyolojik ölçümlerinin hiçbir zaman tam olarak normale dönemediğini ortaya koymuşlardır. Zaten elektrofizyolojik ölçümlerin total sinir fonksiyonunu ölçmekten ziyade, lif çapı ve myelinizasyon derecesi ile ilişkili olarak, en hızlı sinir liflerinin fonksiyonları hakkında bilgi verebildiği, sonuçlar yorumlanırken akılda tutulması gereken önemli bir Ktadır (Kıraç, 2014).

Myelinizasyon derecesi ve akson alanı aksonun olgunluğu ile ilişkilidir (Varejao ve ark., 2004). Oluşan hasardan sonra rejenerasyon aşamasında yeni akson filizleri oluşur. Oluşan bu yeni filizler distal kısma ulaşmayı başarmış aksonlardır. Proksimaldeki akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı ile distale ulaşan yeni akson filizlerinin akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı birbirinden farklıdır. Haliyle yeni filizlenen aksonların akson alanı ve kılıf kalınlıkları proksimaldeki durumlarına göre daha az ve daha incedir. Rejenerasyon devam ettikçe distal kısma ulaşabilen akson filizleri genişleyip olgunlaşarak başlangıçtaki normal çaplarına yakın bir boyuta ulaşırlar (Lundborg, 2004). Bu açıdan bakıldığında çalışma gruplarından K ve OK grubuna göre KH ve OH gruplarında hem akson alanı hem de miyelin kılıf kalınlığı bakımından azalan yöndeki istatistiksel farkın; aksonal rejenerasyonda yeni oluşan akson filizlerinin hem alanları hem de miyelin kılıf kalınlıklarının başlangıçtaki duruma göre küçük oluşu ve tam bir olgunlaşma gerçekleşmeyişi ile açıklanabilmektedir. KH ile KPS kıyaslandığında; miyelin kılıf kalınlıkları bakımından anlamlı bir fark olmasa da, KPS grubunda KH grubuna göre miyelin kılıf kalınlıklarında bir artış meydana gelmiştir. KH-KPS grupları kıyaslandığında rejenerasyon sürecinde kontrollerde artan yönde istatistiksel bir artış göstermesi kontrollerde periferik sinir homejenatından elde edilen kök hücrelerin rejenerasyon sürecine olumlu bir etki yaptığı söylenebilir. KH ile KY kıyaslandığında; miyelin kılıf kalınlıkları bakımından anlamlı bir fark olmasa da, KY grubunun rejenerasyon sürecine olumlu yönde istatistiksel bir artış göstermesi kontrollerde yağ dokusu homejenatlarından elde edilen kök hücrelerin rejenerasyon sürecine olumlu bir etki yaptığını göstermektedir.

ENMG sonuçlarından P(max) ve P-P arası mesafe değerlerinin latans değerleri ile örtüşmesi de rejenere olan aksonların miyelin kılıf kalınlıkları ile ilgili görüşlerimizi desteklemektedir. Miyelinizasyon derecesi ile ilgili olarak, latans değerleri bakımından çalışma gruplarımızdan, KH ile KPS ve KH ile KY grupları arasında ileri derecede anlamlı

fark bulundu ($p<0,01$). OH ile OPS ve OH ile OY grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0,01$). KH ile KPS ve KH ile KY grupları kıyaslandığında; hasar verilen ama tedavi uygulanmayan grupta (KH) latans değerleri daha yüksek seviyelerde yani iletinin kasa ulaşma süresi daha uzun olduğu görülürken, hasar verilen ve periferik sinir ve yağ homejenatı ile tedavi uygulanan gruplarda latans değerlerinde önemli derecede bir azalış meydana gelmiştir. Yani ileti daha kısa sürede iletmeye başlanmıştır. Bu sonuçlar; rejenerasyon sürecinde, periferik sinir ve yağ homejenatı uygulamalarının miyelin kılıf kalınlıklarını da arttırması ile örtüşmektedir. Yani tedaviye olumlu yanıtın oluştuğunu desteklemektedir. Bir de gruplardaki periferik sinir ve yağ homejenatı uygulamalarını, latans değerlerindeki değişim açısından kıyaslandığımızda, periferik sinir homejenatı uygulamasının yağ homejenatı uygulamasına göre latans değerlerini daha fazla azaltması yani diğer bir ifade ile iletinin hızlı iletilmesinde daha olumlu bir etki göstermiştir.

Elektrofizyolojik ölçümler total sinir fonksiyonunu ölçmekten ziyade, lif çapı ve myelinizasyon derecesi ile ilişkili olarak, en hızlı sinir liflerinin fonksiyonları hakkında bilgi vermektedir. Bu nedenle, sonuçlar yorumlanırken bu durumun akılda tutulması önemlidir (Kıraç, 2014). Bu bağlamda latans değerlerinde gözlenen değişimler, periferik sinirden elde edilen homejenatın Schwann hücresi ve myelin kılıf proteinleri açısından potansiyelinin diğer homejenata göre hazır ve yüksek olduğu göz önünde tutularak açıklanabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Deneysel siyatik sinir yaralanmasında, periferik sinir ve adipoz kökenli kök hücre uygulamalarının etkilerinin stereolojik, elektrofizyolojik, ışık ve elektron mikroskopik yöntemlerle araştırılmasının amaçlandığı bu çalışma sonucunda;

- 1- Siyatik sinir hasarı yapılan ve obezite modeli oluşturulmayan KH deneklerinde K grubuna göre; epinöryum bağ doku yapılanmasının olağan görünümünü kaybettiği,
- 2- KH deneklerinde K grubuna göre; rejenerasyon sürecinden sonra miyelinli, miyelinsiz akson sayılarında ve miyelin kılıf kalınlıklarında bir azalışın meydana geldiği, bu azalışın istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olduğu ($p<0,01$), latans değerlerinin de bu azalış ile ters orantılı olarak artış gösterdiği, elde edilen histopatolojik bulgular, stereolojik bulgular ile latans bulgularının birbirlerini destekledikleri,
- 3- Obezite modeli oluşturulan fakat siyatik sinir hasarı yapılmayan OK deneklerinde; sinire ait bağ doku yapılanmasının düzgün olduğu, miyelinli aksonların ve miyelin kılıfların düzenli bir görünüme sahip olduğu, miyelinsiz akson kümelerinin de belirgin sitoplazmik sınırları ve mitokondri içerikleriyle bulunduğu,
- 4- OK grubunda K grubuna kıyasla daha fazla sayıda fakat daha küçük çaplı miyelinli aksonların bulunduğu, miyelin kılıf kalınlığı açısından bakıldığında ise stereolojik bulguları destekler nitelikte aralarında anlamlı bir fark olmadığına histolojik olarak da gözlemlendiği, yine histolojik olarak miyelinsiz aksonların dağılımının stereolojik bulguları destekler nitelikte aralarında anlamlı bir fark olmadığı, Schwann hücrelerinin, aksonların etrafında belirgin fakat düzensiz sitoplazmik sınırları ve heterokromatik çekirdekleriyle izlendiği, endonöryumda yerleşik damarlarda düzensiz çap ve büzüşmelerin meydana geldiği,
- 5- Obezite modeli oluşturulan ve siyatik sinir hasarı yapılan OH deneklerin derejenerasyon sürecinin ardından; siniri oluşturan aksonların OK grubuna kıyasla küçük boyutlu oldukları, daha az sayıda geniş çaplı akson olduğu, bu geniş çaplı aksonların ise miyelin kılıflarının dejenere olarak miyelin yığını haline geldiği, endonöryuma bakıldığında; kontrol grubundakine kıyasla daha yoğun içerikli olduğu ve içerisinde bulunan mast hücrelerinin sayıca fazla olduğu, Schwann hücrelerinin ise

koyu boyanmış sitoplâzmaları ve düzensiz sınırları ve heterokromazi gösteren çekirdekleri ile hasarlı görünümde oldukları,

- 6- OH deneklerinde OK grubuna göre; rejenerasyon sürecinden sonra OH grubunda miyelinli, miyelinsiz akson sayılarında ve miyelin kılıf kalınlıklarında bir azalış meydana geldiği, bu azalışın istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olduğu ($p<0,01$), latans değerlerinin de bu azalış ile ters orantılı olarak artış gösterdiği elde edilen histopatolojik bulgular, stereolojik bulgular ile özellikle olarak latans bulgularının birbirlerini destekledikleri,
- 7- Kontrol olan ve hasar uygulandıktan sonra periferik sinir kökenli kök hücre homejanatı enjekte edilen deneklere (KPS) rejenerasyon sürecinden sonra bakıldığında; sinire ait bağ doku yapılanmasının verilen hasarı tolere edecek düzeyde normale yakın görünümde izlendiği, KH grubuna kıyasla bakıldığında, genel olarak miyelinli aksonların ve miyelin kılıfların tedaviyi destekler nitelikte normale yakın, düzgün bir görünüme sahip oldukları,
- 8- KPS deneklerinde KH grubuna göre; miyelinli, miyelinsiz akson sayılarında ve miyelin kılıf kalınlıklarında bir artışın meydana geldiği, bu artışın istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olduğu ($p<0,01$), latans değerlerinin de bu artış ile ters orantılı olarak azalış gösterdiği, elde edilen histopatolojik bulgular ve stereolojik bulgular ile özellikle olarak latans bulgularının birbirlerini destekledikleri, bu sonuçlar bağlamında kontrollerde periferik sinir homejanatından elde edilen kök hücrelerin rejenerasyon sürecine olumlu bir etki gösterdiği,
- 9- Kontrol olan ve hasar uygulandıktan sonra adipoz doku kökenli kök hücre homejanatı enjekte edilen deneklere (KY) rejenerasyon sürecinden sonra bakıldığında; sinire ait bağ doku yapılanmasının verilen hasarı tolere edecek düzeyde normale yakın görünümde gözleendiği,
- 10- KY deneklerinde KH grubuna göre; rejenerasyon sürecinden sonra miyelinli, miyelinsiz akson sayılarında ve miyelin kılıf kalınlıklarında bir artışın meydana geldiği, bu artışın istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olduğu ($p<0,01$), latans değerlerinin de bu artış ile ters orantılı olarak azalış gösterdiği, elde edilen

histopatolojik bulgular ve stereolojik bulgular ile özellikli olarak latans bulgularının birbirlerini destekledikleri, bu sonuçlar bağlamında kontrol deneklerde yağ homojenatından elde edilen kök hücrelerin rejenerasyon sürecine olumlu bir etki gösterdiği, KY deneklerinde KPS grubuna kıyasla; daha fazla miyelinli ve miyelinsiz akson yoğunluğunun olduğu, fakat; KY grubunda daha küçük çapta ve daha ince miyelin kılıf yapısına sahip miyelinli aksonların olmasından ötürü de latans değerlerinin yüksek çıktığı,

- 11-** Obez olan ve hasar uygulandıktan sonra periferik sinir kökenli kök hücre homejanatı enjekte edilen deneklere (OPS) rejenerasyon sürecinden sonra bakıldığında; sinire ait bağ doku yapılanmasının verilen hasarı tolere edecek düzeyde normale yakın görünümde olduğu, OH grubuna kıyasla bakıldığında, genel olarak miyelinli aksonların ve miyelin kılıfların tedaviyi destekler nitelikte normale yakın, düzgün bir görünüme sahip oldukları,
- 12-** Obez olan ve hasar uygulandıktan sonra adipoz doku kökenli kök hücre homejanatı enjekte edilen deneklere (OY) rejenerasyon sürecinden sonra bakıldığında; sinire ait bağ doku yapılanmasının verilen hasarı tolere edecek düzeyde normale yakın görünümde gözlemlendiği, OH grubu ile karşılaştırıldığında, tedavinin başarılı olduğunu gösteren biçimde OH grubunun mikroskop görüntülerinden daha sağlıklı bir görünüm elde edildiği, verilen hasarı tedavi etmekte KY grubu mu daha başarılı OY grubu mu daha başarılı diye bakıldığında ise; ortalama miyelin kılıf kalınlığı, miyelinsiz akson sayısı ve latans değerleri bakımından değerlendirildiğinde OY grubunun hasarı daha iyi tedavi ettiği, OH grubunda bulgularanan endonöryumdaki genişlemiş perivasküler bağ dokusu alanlarının OY grubunda bulunmayışı ve neredeyse normale yakın genel bir görüntüsünün olmasının OY grubunda daha yoğun rejenerasyon potansiyelinin bulunduğunu gösterir nitelikte olduğu, OY deneklerinde OPS grubuna kıyasla; daha az sayıda miyelinli akson olması ve daha fazla sayıda miyelinsiz akson yoğunluğunun olması, bunun yanında da OY grubunda daha küçük çapta ve daha ince miyelin kılıf yapısına sahip miyelinli aksonların bulunmasından ötürü de latans değerlerinin yüksek çıkması dikkati çekti.

13- Flow sitometrik bulgulara göre; hasar sonrası uygulanan tedavilerin ardından gruplardaki MKH potansiyelleri ilgili markerlara göre kıyaslandığında diğer bulguları da destekleyecek şekilde potansiyel bulundurduğu görülmüştür. CD34+/CD45+ hücre potansiyelleri bakımından; Obez>Kontrol ve CD90+ bakımından; Obez<Kontrol olduğu, yani Obez gruptaki kök hücre sayılarının (CD34+/CD45+) Kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede olduğu; fakat Kontrol gruptaki mezenkimal kök hücre farklılaşması (CD90+) Obez grubundakilere göre daha fazla olduğu bulundu. Buna göre CD90+ potansiyeline göre; KY >KPS = KH > OH > OPS/OY sıralanır ve bu sıralama obezlerde MKH farklılaşma potansiyelinin uygulanan kök hücre homejenatlarına rağmen düşük oranda kaldığı; fakat verilen hasardan sonra enjekte edilen periferik sinir ve yağ homejenatlarının CD34+/CD45+ potansiyellerine bakılarak iskemi ve fibrozisin kaldırılmasında, doku hasarının morfolojik ve fonksiyonel tedavi edilmesinde olumlu etki göstermesi dikkati çekti. Kontrollerde ise; CD34+ bakımından; KH<KPS/KY<OH<OPS/OY, CD90+ bakımından; OPS/OY<OH<KH=KPS<KY sıralanır ve bu sıralamaya göre Kontrollerde MKH farklılaşma potansiyelinin daha yüksek olduğu özellikle yağ homejenatı enjekte edilen grupta, CD34+ markerına bakılarak ise; hasardan sonra enjekte edilen yağ ve sinir doku homejenatları ile EPH ve HKH yoğunluğunun arttığı ve bunun doku hasarının morfolojik ve fonksiyonel olarak üstesinden gelinmesinde umut verici etki göstermesi dikkati çekti.

Bütün bu sonuçlar dikkate alındığında, kök hücre homejenatlarının antiinflamatuvar ve anti-ödematöz etkisiyle, yaralı bölgede sinir rejenerasyonuna engel olabilecek fibrozis ve ödemi azalttığı, periferik sinir kökenli kök hücrelerin hem kontrollerde hem de obez deneklerde tedavide daha başarılı olduğu; KY ve OY karşılaştırıldığında kontrol deneklerde uygulanan yağ homejenatının daha başarılı olduğu ve KPS ve OPS karşılaştırıldığında kontrol deneklerde uygulanan periferik sinir kökenli kök hücrelerin tedavide daha başarılı olduğu görüldü. Bu nedenle, obez olmayan deneklerde tedavilerin daha başarılı olduğu ve periferik sinir rejenerasyonunda bu tedavi yöntemlerinin dikkate alınabileceği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

- Abdallah, B.M., Kassem, M. The use of mesenchymal stem cells for treatment of degenerative diseases: current status and future perspectives. *J. Cell Physiol.* 2009; 218: 9- 12.
- Abdel-Halim, R.E. Obesity: 1000 years ago. *Lancet.* 2005; 366: 16-22.
- Ades, E.W., Zwerner, R.K., Acton, R.T., Balch, C.M. Isolation and partial characterization of the human homologue of Thy-1. *J. Exp. Med.* 1980; 151: 400–406.
- Allodi, I., Udina, E., Navarro, X. Specificity of peripheral nerve regeneration: interactions at the axon level. *Prog Neurobiol.* 2012; 98: 16-37.
- Altunkaynak, B.Z., Özbek, E. Obezite: Nedenleri ve Tedavi Seçenekleri. *Dicle Tıp Dergisi.* 2007; 34: 144-149.
- Altunkaynak, ME., Özbek, E., Altunkaynak, BZ., Can, İ., Ünal, D., Ünal, B. The effects of high-fat diet on the renal structure and morphometric parametric of kidneys in rats. *J. Anat.* 2008; 212: 845-852.
- Altunkaynak, B.Z., Onger, M.E., Altunkaynak, M.E., Ayrancı, E., Canan, S. A Brief Introduction to Stereology and Sampling Strategies: Basic Concepts of Stereology. *Neuroquantology.* 2012; 10: 31-43.
- Annagür, BB. Obezitede Çeşitli Risk Faktörleri ve Dürtüsellik. *Current Approaches In Psychiatry.* 2010; 2: 572-582.
- Anselin, A.D., Fink, T., Davey, D.F. An alternative to nerve grafts in peripheral nerve repair: Nerve guides seeded with adult Schwann cells. *Acta Churgica Austriaca.* 1998; 147: 19-24.
- Asahara, T., Murohara, T., Sullivan, A., Silver, M., van der Zee, R., Li, T., Witzenbichler, B., Schatteman, G., Isner, JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science.* 1997; 275: 964–967.
- Atalay, F.Ö., Üstün, H. Periferik sinir sisteminde nöronal dejenerasyon, rejenerasyon ve nörodejeneratif hastalıklarda yeni tedavi modaliteleri. *Fiziksel Tıp.* 2004; 7: 157-162.
- Bagchi, D., Preuss, H.G. Obesity: Epidemiology, Pathophysiology and Prevention. *CRC Pres.* 2007.
- Barry, F.P. Mesenchymal stem cell therapy in joint disease. *Novartis. Found Symp.* 2003; 249: 86–96.
- Bekar E. Sıçanlarda yüksek yağlı diyetle oluşturulan obezitenin periferik sinir rejenerasyonu üzerine etkisinin araştırılması. Yüksek lisans tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı. Samsun. 2011; 6.

- Berger, S.A, Mak, T.W., Paige,C.J. Leukocyte common antigen (CD45) is required for immunoglobulin E-mediated degranulation of mast cells.JEM. 1994; 180: 471.
- Bobis, S., Jarocho, D., Majka, M. Mesenchymal stem cells: Characteristics and clinical applications Folia Histochem Cytobiol. 2006; 44: 215–230.
- Brushart, T.M. Nerve repair and grafting. In Green DP, Hotchkiss RN, Pederson WC, editors. Green's operative hand surgery. 4th ed., Philadelphia; Churchill Livingstone. 1999; 2: 1381-1403.
- Bryan, D.J., Wang, K.K., Chakalis-Haley, DP. Effect of Schwann cells in the enhancement of peripheral-nerve regeneration. J Reconstr Microsurg. 1996; 12: 439–436.
- Burnett, M.G., Zager, E.L. Pathophysiology of peripheral nerve injury: A brief review. Neurosurg. Focus. 2004; 16: 1-7.
- Buschemeyer, W.C. 3rd, Freedland SJ. Obesity and prostate cancer: Epidemiology and clinical implications. Eur Urol. 2007; 52: 331-343.
- Castro, R.F., Jackson, K.A., Goodell, M.A., Robertson, C.S., Liu, H., Shine, HD. Failure of bone marrow cells to transdifferentiate into neural cells in vivo. Science 2002; 297: 1299.
- Chen, Y., Shao, J.Z., Xiang, L.X. Mesenchymal stem cells: A promising candidate in regenerative medicine Int. J. Biochem Cell Bio. 2008; 40: 815- 820.
- Cragg, B.G.,Thomas, P.K. The conduction velocity of regenerated peripheral nerve fibers. J. Physiology. 1964; 171: 164.
- Çolak, R., Dönder, E., Karaoglu, A., Ayhan, O., Yalnız, M. Obesity and the Activity of the Autonomic Nervous System. Türk J Med Sci. 1997; 30.
- Ersoy, R., Çakır, B. Obezite, Turkish Medical Journal. 2007; 1: 107-116.
- Ertaş, M. Periferik sinirlerin anatomi, fizyoloji ve patolojik süreçleri. ÖGE A.E. Editör, İstanbul Tıp Nöroloji Kitabı. 1.baskı, İstanbul; Nobel Matbaacılık. 2004; 555- 562.
- Ertekin, C. Sentral ve periferik ENMG anatomi- fizyoloji- klinik. 2.Baskı, İzmir, Meta Basım. 2006; 73-154.
- Daneyemez, M.K., Seçer, H.İ. Periferik sinir yaralanmaları ve fizyopatolojisi. Demircan N, Zileli M. Editör, Periferik Sinir Cerrahisinin'de, 1.Baskı, İstanbul; Buluş Tasarım ve Matbaacılık. 2008; 99-108.
- Das, U.N. Obesity: genes, brain, gut, and environment. Nutrition. 2010; 26: 459-473.
- Davison, S.P., McCaffrey, T.V., Porter, M.N., Mandres, E. Improved Nerve Regeneration with Neutralization of Transforming Growth Factor-beta 1. Laryngoscope. 1999; 109: 631-635.

- Davy, K.P., Orr, J.S. Sympathetic nervous system behavior in human obesity. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2009; 33: 116-124.
- Deans, R.J., Moseley, A.B. Mesenchymal stem cells: Biology and potential clinical uses. Deans R.J., Moseley A.B. *Exp Hematol*. 2000; 28: 875-884.
- Deng, Y.B., Liu, X.G., Liu, Z.G., Liu, X.L., Liu, Y., G.Q. Zhou Implantation of bm mesenchymal stem cells into injured spinal cord elicits de novo neurogenesis and functional recovery: Evidence from a study in rhesus monkeys. *Cytherapy*. 2006; 8: 210–214. <http://dx.doi.org/10.1080/14653240600760808>
- Deshpande, D.M., Kim, Y.S., Martinez, T., Carmen, J., Dike, S., Shats, I., Rubin, L.L., Drummond, J., Krishnan, C., Hoke, A., Maragakis, N., Shefner, J., Rothstein, J.D., Kerr, D.A. Recovery from paralysis in adult rats using embryonic stem cells. *Ann Neurol*. 2006; 60: 32–44.
- Dezawa, M., Takahashi, I., Esaki, M., Takano, M., Sawada, H. Sciatic nerve regeneration in rats induced by transplantation of in vitro differentiated bone-marrow stromal cells. *Eur. J. Neurosci*. 2001; 14, 1771–1776.
- Dijkstra, J.R., Meek, M.F., Robinson, P.H., Gramsbergen, A. Methods to evaluate functional nerve recovery in adult rats: Walking track analysis, video analysis and the withdrawal reflex. *J. Neurosci Methods*. 2000; 96: 89–96.
- Dixon, J.E., Denu, J.M. Protein tyrosine phosphatases: mechanisms of catalysis and regulation. *Curr Opin Chem Biol*. 1998; 2: 633–641.
- Dormady, S.P., Bashayan, O., Dougherty, R., Zhang, X.M., Basch, R.S. Immortalized multipotential mesenchymal cells and the hematopoietic microenvironment. *J Hematother Stem Cell Res*. 2001; 10, 125-140.
- Dvali, L., Mackinnon, S. Peripheral nerve repair and transfers. In McCarthy JG, Galiano RD, Boutros SG, (ed). *Current therapy in plastic surgery*. Philadelphia: Saunders Elsevier. 2006; 568-573.
- Einstein, O., Fainstein, N., Vaknin, I., Mizrachi-Kol, R., Reihartz, E., Grigoriadis, N., Lavon, I., Baniyash, M., Lassman, H., Ben-Hur, T. Neural precursors attenuate autoimmune encephalomyelitis by peripheral immunosuppression. *Ann Neurol*. 2007; 61: 209-218.
- Erices, A., Conget, P., Minguell, J.J. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol*. 2000; 109: 235-242.
- Ersoy, R., Çakır, B. Obezite. *Turkish Medical Journal*. 2007; 1: 107-116.
- Fa Fernandez, E., Pallini, R., Lauretti, L., Scogna, A. Neurosurgery of the peripheral nervous system: Injuries, degeneration and regeneration of the peripheral nerves. *Surg Neurol*. 1997; 48: 446-447.

- Fawcett, J.W., Keynes, R.J. Peripheral nerve regeneration. *Annu Rev Neurosci.* 1990; 13: 43-60.
- Ferrari, G., Cusella-De Angelis, G., Coletta, M., Paolucci, E., Stornaiuolo, A., Cossu, G., Mavilio, F. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science* 1998; 279: 1528-1530.
- Friedenstein, A.J., Gorskaja, J.F., Kulagina, N.N. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol.* 1976; 4: 267-674.
- Friedman, B., Scherer, S.S., Rudge, J.S., Helgren, M., Morrisey, D., McLain, J. Regulation of ciliary neurotrophic factor expression in myelin-related Schwann cells in vivo. *Neuron.* 1992; 9: 295-305.
- Frostick, S.P., Yin, Q., Kemp, G.J. Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. *Microsurgery.* 1998; 18: 397-405.
- Geuna, S., Gigo-Benato, D., Rodrigues Ade, C. On sampling and sampling errors in histomorphometry of peripheral nerve fibers. *Microsurgery.* 2004; 24: 72-76.
- Geuna, S., Raimondo, S., Ronchi, G., Di Scipio, F., Tos, P., Czaja, K., Fornaro, M. Chapter 3: Histology of the peripheral nerve and changes occurring during nerve regeneration. *Int Rev Neurobiol.* 2009; 87: 27-46.
- Guenard, V., Rosenbaum, T., Gwynn, L.A., Doetschman, T., Ratner, N., Wood, P.M. Effect of Transforming Growth Factor-beta 1 and -beta 2 on Schwann Cell Proliferation on Neurites, *Glia.* 1995; 13: 309-318.
- Garbay, B., Heape, A.M., Sargueil, F., Cassagne, C. Myelin synthesis in the peripheral nervous system. *Prog Neurobiol.* 2000; 61: 267-304.
- Gärtner, A., Pereira, T., Armada-da-Silva, P.A.S., Amorim, I., Gomes, R., Ribeiro, J., França, M.L., Lopes, C., Porto, B., Sousa, R., Bombaci, A., Ronchi, G., Fregnan, F., Varejão, A.S.P., Luís, A.L., Geuna, S., Maurício, A.C. Use of poly (DL-lactide-ε-caprolactone) membranes and mesenchymal stem cells from the Wharton's jelly of the umbilical cord for promoting nerve regeneration in axonotmesis: In vitro and in vivo analysis. *Differentiation.* 2012; 84: 355-365.
- Gartner, L.P., Hiatt, J.L. *Color Textbook of Histology.* Philadelphia, Saunders Elsevier. 2007; 204-206.
- Gasull, X., Liao, X., Dulin, M.F., Phelps, C. Walters E.T. Evidence that long-term hyperexcitability of the sensory neuron soma induced by nerve injury in Aplysia is adaptive. *J Neurophysiol.* 2005; 94: 2218-2230. Epub 2005 Jun 8.
- Giordano, A., Galderisi, Marino I.R. From the laboratory bench to the patient's bedside: An update on clinical trials with mesenchymal stem cells. 2007; 211: 27-35.

- Goebel-Goody, S.M., Wilson-Wallis, E.D., Royston, S., Tagliatela, S.M., Naegele, J.R., Lombroso, P.J. Genetic manipulation of STEP reverses behavioral abnormalities in a fragile X syndrome mouse model. *Genes, Brain, and Behavior*. 2012; 11: 586–600.
- Gocmen, S., Sirin, S., Oysul, K., Ulas, U.H., Oztas, E. The effects of low-dose radiation in the treatment of sciatic nerve injury in rats. *Turk Neurosurg*. 2012; 22: 167-73. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.5039-11.1.
- Gundersen, H.J.G. Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary particles: The edge effect. *J Microsc*. 1977; 111: 219-223.
- Gundersen, H.J.G. Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones in memory of william r thomson. *J Microsc*. 1986; 143: 3-45.
- Gundersen, H.J.G., Jensen, E.B.V., Kieu, K., Nielsen, J. The efficiency of systematic sampling in stereology-reconsidered. *J Microsc*. 1999; 193: 199-211.
- Gupta, R.K., Chandra, A., Verm, A.K., Kumar, S. Obstructive sleep apnoea: A clinical review. *J Ass Physicians India*. 2010; 58: 438-441.
- Gutman, E., Sanders, F.K. Recovery of Fibre Numbers and Diameters in the Regeneration of Peripheral nerves. *J. Physiology*. 1943; 489-518.
- Hadlock, T.A., Sundback, C.A., Hunter, D.A., Vacanti, J.P., Cheney, M.L. A new artificial nerve graft containing rolled Schwann cell monolayers. *Microsurgery*. 2001; 21: 96–101.
- Hadlock, T.A., Heaton, J., Cheney, M., Mackinnon, S.E. Functional recovery after facial and sciatic nerve crush injury in the rat. *Arch Facial Plast Surg*. 2005; 7: 17–20.
- Heysmfield, S.B., Wang, J., Lichtman, S., Karnen, Y., Kehayias, J., Pierson, R.N Jr. Body composition In elderly subjects. A critical appraisal of clinical methodology. *Am J Clin Nutr*. 1989; 50: 1167-1175.
- Kazuho, H., Masaru, K. Myelin phagocytosis by macrophages and nonmacrophages during wallerian degeneration. *Microscopy Research and Technique*. 2002; 57: 541-547.
- Honig, MG., Hume, RI. Carbocyanine dyes. Novel markers for labelling neurons. *Trends Neurosci*. 1989; 12: 336-338.
- Horn, K.L., Crumley, R.L. The physiology of nerve injury and repair. *Otolaryn. North Am*. 1984; 17: 321-333.
- Howard, C.V., Reed, M.G. Unbiased Stereology. Three-dimensional measurements in microscopy. Bios Scientific Publishers. 1998.

- Jones, L.L., Oidega, M., Bunge, M.B., Tuszynski, M.H. Neurotrophic factors, cellular bridges and gene therapy for spinal cord injury. *J Physiology*. 2001; 533: 83-89.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J. *Temel Histoloji*. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. 2006; 178-185.
- Kalan, I., Yeşil, Y. Obezite ile ilişkili kronik hastalıklar. *Mised*. 2010; 23: 78-81.
- Kamei, N., Atesok, K., Ochi, M. The Use of Endothelial Progenitor Cells for the Regeneration of Musculoskeletal and Neural Tissues. *Stem Cells International*. 2017; Volume 2017, Article ID 1960804, 7 pages <https://doi.org/10.1155/2017/1960804>
- Kanaya, F., Firrell, J.C., Breidenbach, W.C. Sciatic function index, nerve conduction tests, muscle contraction, and axon morphometry as indicators of regeneration. *Plast Reconstr Surg*. 1996; 98: 1264-1271, discussion 1272-1274.
- Kaplan, S., Odaci, E., Unal, B., Sahin, B., Fornaro, M. Chapter 2: Development of the peripheral nerve. *Int Rev Neurobiol*. 2009; 87: 9-26.
- Kaplan, S., Geuna, S., Ronchi, G., Ulkay, M.B., von Bartheld, C.S. Calibration of the stereological estimation of the number of myelinated axons in the rat sciatic nerve: A multicenter study. *Journal of Neuroscience Methods*. 2010; 187: 90-99.
- Kaplan, S., Canan, S., Altunkaynak, M.E., Odaci, E., Aslan, H., Unal, B. An Unbiased Way to Estimate Total Quantities: The Fractionator Technique. *Neuroquantology*. 2012a; 10: 54-65.
- Kaplan, S., Odaci, E., Canan, S., Onger, M.E., Aslan, H., Unal, B. The Disector Counting Technique. *Neuroquantology*. 2012b; 10: 44-53.
- Keil, U., Kuulasmaa, K. WHO MONICA Project: Risk factors. *Int J Epidemiol*. 1989; 18: 46-55.
- Keilhoff, G., Goihl, A., Stang, F., Wolf, G., Fansa, H. Peripheral nerve tissue engineering: Autologous Schwann cells vs. transdifferentiated mesenchymal stem cells. *Tissue Eng*. 2006; 12: 1451-1465.
- Kıraç, Y. Siyatik sinir kesi modelinde eritropoetin ile Gelsolin'in rejenerasyon üzerine etkisinin karşılaştırılması. *Uzmanlık Tezi*. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı. Konya. 2014; 106.
- Knecht, S., Ellger, T., Levine, J.A. Obesity in neurobiology. *Prog Neurobiol*. 2008; 84: 85-103.
- Krampera, M., Sartoris, S., Liotta, F., Pasini, A., Angeli, R., Cosmi, L., Andreini, A., Mosna, F., Bonetti, B., Rebellato, E., Testi, M.G., Frosali, F., Pizzolo, G., Tridente, G., Maggi, E., Romagnani, S., Annunziato, F. Immune regulation by mesenchymal stem cells derived from adult spleen and thymus. *Stem Cells Dev*. 2007; 16: 797-810.

- Kraussis, D., Kassis, I. The potential use of mesenchymal stem cells in multiple sclerosis: An overview of precinical experience. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 2008; 110: 889- 896.
- Kutlutürk, F., Öztürk, B., Yıldırım, B., Özüğurlu, F., Çetin, İ., Etikan, İ., Sazlıdere, H., Tetikçok, R., Akbaş, A., Şahin, İ. Obesity prevalence and its association with metabolic risk factors: Tokat province prevalence study. *Int J Med Sci.* 2011; 31: 156-163.
- Leong, K.S., Wilding, J.P. Obesity and diabetes. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 1999; 13: 221-237.
- Letourneau, P.C. Immunocytochemical evidence for colocalization in neurite growth cones, of actin and myosin and their relationship to cell-substratum adhesions. *Dev. Biol.* 1981; 85: 113.
- Liechty, K.W., MacKenzie, T.C., Shaaban, A.F., Radu, A., Moseley, A.M., Deans, R., Marshak, D.R., Flake, A.W. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep. *Nat Med.* 2000; Nov; 6: 1282-1286.
- Liu, Z.J., Zhuge, Y., Velazquez, O.C. Trafficking and differentiation of mesenchymal stem cells. *J. Cell. Biochemst.* 2009; 106: 984- 991.
- Logue, J., Murray, H.M., Welsh, P., Shepherd, J., Packard, C., Macfarlane, P., Cobbe, S., Ford, I., Sattar, N. Obesity is associated with fatal coronary heart disease independently of traditional risk factors and deprivation. *Heart.* 2011; 97: 564-568.
- Luis, A.L., Amado, S., Geuna, S., Rodrigues, J.M., Simões, M.J., Santos, J.D., Fregnan, F., Raimondo, S., Veloso, A.P., Ferreira, A.J., Armada-da-Silva, P.A., Varejão, A.S., Mauricio, A.C. Long-term functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. *J Neurosci Methods.* 2007; 163: 92–104.
- Lundborg, G. Nerve regeneration and repair. A review. *Acta Orthop Scand.* 1987; 58: 145-69.
- Lundborg, G. The nerve trunk, Nerve injury and repair. New York, Churchill Livingstone. 1988: 32-63.
- Lundborg, G. Nerve injury and repair. Regeneration, reconstruction and cortical remodelling. Philadelphia, Churchill Livingstone. 2004; 114-155.
- Mackinnon, S.E. New directions in peripheral nerve surgery. *Ann Plast Surg.* 1989; 22- 257.
- Maggi, S.P., Lowe, J.B., Mackinnon, S.E. Pathophysiology of nerve injury. *Clin Plast Surg.* 2003; 30: 109-126.

- Mahan, L.K., Escott-Stump, S. Weight management and eating disorders. "Krause's food, nutrition and diet therapy, Ed: Mahan LK, Arlin M, WB Saunders Company, 9th Ed, Philadelphia. 1996; 315.
- Makwana, M., Raivich, G. Molecular mechanisms in successful peripheral regeneration. *FEBS Journal*. 2005; 272: 2628-2638.
- Mantovani, C., Mahay, D., Kingham, M., Terenghi, G., Shawcross, S.G., Wiberg, M. Bone marrow- and adipose-derived stem cells show expression of myelin mRNAs and proteins. *Regen Med*. 2010; 5: 403-410.
- Marion, N.W., Liang, W., Reilly, G., Day, D. E., Rahaman, M. N., and Mao, J. J. Borate glass supports the in vitro osteogenic differentiation of human mesenchymal stemcells. *Mech. Adv. Mater. Struct*. 2005; 3, 239–246.
- Martins, R.S., Siqueira, M.G., da Silva, C.F., Plese, J.P. Correlation between parameters of electrophysiological, histomorphometric and sciatic functional index evaluations after rat sciatic nerve repair. *Arq Neuropsiquiatr*. 2006; 64: 750–756.
- Matino, G., Pluchino, S. The therapeutic potential of neural stem cells. *Nat Rev Neurosci*. 2006; 7: 395-406.
- Matsumoto, T., Kawamoto, A., Kuroda, R., Ishikawa, M., Mifune, Y., Iwasaki, H., Miwa, M., Horii, M., Hayashi, S., Oyamada, A., Nishimura, H. Therapeutic potential of vasculogenesis and osteogenesis promoted by peripheral blood CD34-positive cells for functional bone healing. *Am J Pathol*. 2006; 169: 1440 1457.
- Mayhew, TM., Gundersen, HJG. If you assume, you can make an ass out of you and me: A decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *J Anat*. 1996; 188: 1-15.
- McDonald, J.W., Liu, X.Z., Qu, Y., Liu, S., Mickey, S.K., Turetsky, D., Gottlieb, D.I., Choi, D.W. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nat. Med*. 1999; 5: 1410–1412. <http://dx.doi.org/10.1038/70986>
- Miller, H.R. The promise of stem cells for neural repair. *Brain Research*. 2006; 1091: 258-264.
- Miscio, G., Guastamacchia, G., Brunani, A., Priano, L., Baudo, S., Mauro, A. Obesity and peripheral neuropathy risk: A dangerous liaison. *Journal of the Peripheral Nervous System*. 2005; 10: 354–358.
- Mosahebi, A., Fuller,P., Wiberg, M., Terenghi,G. Effect of allogeneic Schwann cell transplantation on peripheral nerve regeneration. *Exp. Neurol*. 2002; 173: 213–223.

- Munoz-Elias, G., Marcus, A.J., Coyne, T.M., Woodbury, D., Black, I.B. Adult bone marrow stromal cells in the embryonic brain: Engraftment, migration, differentiation, and longterm survival. *J Neurosci*. 2004; 24: 4585-4595.
- Murakami, T., Fujimoto, Y., Yasunaga, Y., Ishida, O., Tanaka, N., Ikuta, Y., Ochi, M. Transplanted neuronal progenitor cells in a peripheral nerve gap promote nerve repair. *Brain Res*. 2003; 974: 17-24.
- Muratori, L., Ronchi, G., Raimondo, S., Giacobini-Robecchi, M.G., Fornaro, M., Geuna, S. Can regenerated nerve fibers return to normal size? A long-term post-traumatic study of the rat median nerve crush injury model. *Microsurgery*. 2012; 32: 383-387.
- Müller, I., Lymperi, S., Dazzi, F. Mesenchymal stem cell therapy for degenerative inflammatory disorders. *Curr Opin Organ Transplant*. 2008; 13: 639- 644.
- Naggert, J., Harris, T., North, M. The genetics of obesity. *Curr Opin Genet Dev*. 1997; 7: 398-404.
- Nakamura, Y., Muguruma, Y., Yahata, T., Miyatake, H., Sakai, D., Mochida, J., Hotta, T., Ando, K. Expression of CD90 on keratinocyte stem/progenitor cells. *Br J Dermatol*. 2006; 154: 1062-1070.
- Neuhuber, B., Himes, B.T., Shumsky, J.S., Gallo, G., Fischer, I. Axon growth and recovery of function supported by human bone marrow stromal cells in the injured spinal cord exhibit donor variations. *Brain Res*. 2005; 1035: 73-85.
- Newman, J.P. Ciliary neurotrophic factors enhances periferal nerve regeneration. *Achives of otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 1996; 122: 399-403.
- Okutan, Ö. Periferik sinir sisteminin anatomisi. Demircan N, Zileli M., Editörler. *Periferik Sinir Cerrahisi*. 2.baskı, İstanbul; Buluş Tasarım ve Matbaacılık. 2008: 7-26.
- Önger, M. Obez ve nonobez ratlarda bazı nöroprotektif maddelerin periferik sinir rejenerasyonuna etkisi. Doktora tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı. Samsun. 2013; 6.
- Özata, M. Obezite Tanı ve Tedavisi. <http://www.gata.edu.tr/dahilibilimler/ichastalıkları/files/kitaplar/126.pdf>(erişim:24.07.2007)(2003).
- Özbayoğlu, A.C. Deneysel sıçan siyatik sinir ezilme tarzı yaralanma modelinde sinir rejenerasyonunda trombosit zengin plazmanın etkileri. Uzmanlık Tezi. Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi. Eskişehir. 2008;84-100.
- Özmen, S. Uç-yan sinir anastomozunda alıcı sinir distal ucunda epinörium rezeksiyonunun rejenerasyona etkisi. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara. Uzmanlık Tezi. 2002; 2-65.

- Pagnotta, A., Tos, P., Fornaro, M., Gigante, A., Geuna, S., Battiston, B. Neurotrophins and their receptors in early axonal regeneration along muscle-vein-combined grafts. *Microsurgery*. 2002; 22: 300-303.
- Parr, A.M., Tator, C.H., Keating, A. Bone marrow derived mesenchymal stromal cells for the repair of central nervous system injury. *Bone Marrow Transplantation*. 2007; 40: 609-619.
- Patel, S.A., Sherman, L., Munoz, J. Immunological properties of mesenchymal stem cells and clinical implications. *Arch Immunol. Their Exp*. 2008; 56: 1-8.
- Paul, S., Lombroso, P.J. Receptor and nonreceptor protein tyrosine phosphatases in the nervous system. *Cell. Mol. Life Sci*. 2003; 60: 2465–2482.
- Pereira, R.F., Halford, K.W., O'Hara, M.D., Leeper, D.B., Sokolov, B.P., Pollard, M.D., Bagasra, O., Prockop, D.J. Cultured adherent cells from marrow can serve as long-lasting precursor cells for bone, cartilage, and lung in irradiated mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995; 92: 4857-4861.
- Pfeifer, K., Vroemen, M., Blesch, A., Weidner, N. Adult neural progenitor cells provide a permissive guiding substrate for corticospinal axon growth following spinal cord injury. *Eur. J. Neurosci*. 2004; 20: 1695–1704.
- Pfister, L.A., Papaloizos, M., Merkle, H.P., Gander, B. Nerve conduits and growth factor delivery in peripheral nerve repair. *J. Peripher. Nerv*. 2007; 12: 65–82.
- Phinney, D.G. Biochemical heterogeneity of mesenchymal stem cell populations: clues to their therapeutic efficacy. *Cell Cycle*. 2007; 6: 2884-2889. Epub 2007 Sep 24.
- Piskin, A., Kaplan, S., Aktas, A., Ayyildiz, M., Raimondo, S., Alic, T., Bozkurt, H.H., Geuna, S. Platelet gel does not improve peripheral nerve regeneration: An electrophysiological, stereological, and electron microscopic study. *Microsurgery*. 2009; 29: 144-153.
- Pittenger, M.F., Mackay, A.M., Beck, S.C., Jaiswal, R.K., Douglas, R., Mosca, J.D., Moorman, M.A., Simonetti, D.W., Craig, S. Marshak D.R. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999; 2: 143-147.
- Prokop, D.J. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science*. 1997; 276: 71-76.
- Quan, D., Bird, S. Nerve conduction studies and electromyography in the evaluation of peripheral nerve injuries. *Orthopaedic Journal*. 1999; 12: 45-51.
- Robinson, L.R. Traumatic injury to peripheral nerves. *Muscle & Nerve*. 2000; 23: 863-873.
- Rende, M., Muir, D., Ruoslahti, E., Hagg, T., Varon, S., Manthorpe, M. Immunolocalisation of ciliary neurotrophic factor in adult rat sciatic nerve. *Glia*. 1992; 5: 25-32.

- Robinson, L.R. Traumatic injury to peripheral nerves. *Muscle Nerve*. 2000; 23: 863-873.
- Rojas, M, Xu, J., Woods, C.R., Mora, A.L., Spears, W., Roman, J., Brigham, K.L. Bone marrowderived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2005; 33: 145-152.
- Ross, M.H., Pawlina, W. *Histology: A text and atlas*. Baltimore, Philadelphia, 5th ed, Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
- Ross, M.H., Pawlina, W. *Histology: A text and atlas: with correlated cell and molecular biology*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. 2011; 352-389.
- Sansoy, V. Obesity, abdominal obesity and their relation with other risk factors in Turkish adults. In: Onat A, editor. 1st Ed., Istanbul; TEKHARF. MAS. 2003; 64–69.
- Satinsky, D, Pepe, F.A., Liu, C.N. The neurolemma cell in peripheral nerve degeneration and regeneration. *Exp. Neurol*. 1964; 9: 441-451.
- Satman, İ., Sengül, A.M., Uygur, S., Satman, I., Yilmaz, T., Sengül, A., Salman, S., Salman, F., Uygur, S., Bastar, I., Tütüncü, Y., Sargin, M., Dinççag, N., Karsidag, K., Kalaça, S., Özcan, C., King, H. The TURDEP Group Population based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: Results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*. 2002; 25: 1551-1556.
- Scherer, S.S., Kamholz, J., Jakowlew, S.B. Axons Modulate the Expression of Transforming Growth Factor-betas in Schwann Cells. *Glia*. 1993; 8: 265-276.
- Schünke, M., Schulte, E., Schumacher, U., Voll, M., Wesker, K. *Prometheus Anatomi Atlası*. Almanya, Thieme. 2005; 56-63.
- Schwarz, S.C, Schwarz, J. Translation of stem cell therapy for neurological diseases. *Transl Res*. 2010; 156: 155-60.
- Seckel, B.R. Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve*. 1990; 13: 785–800.
- Selzer, M.E. Regeneration of peripheral nevre; In Sumner A.J,(Ed), *The physiology of Peripheral Nerve Disease*. 3st Ed., Philadelphia; W.B Saunders Company. 1980; 358-431.
- Sencar, L. Deneysel siyatik sinir yaralanmasında Betametazon ve sinir büyüme faktörünün sinir Rejenerasyonuna ultrastrüktürel etkileri.Yüksek lisans tezi. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı. Adana. 2007; 7-66.
- Shah, M., Foreman, D.M., Ferguson, M.W.J. Neutralisation of TGF- β 1 and TGF- β 2 or Exogenous Addition of TGF- β 3 to Cutaneous Wounds Reduces Scarring. *Journal of Cell Science*. 1995; 108: 983-1002.

- Shen, Y., Mani, S., Donovan, S.L., Schwob, J.E., Meiri, K.F. Growth-Associated Protein-43 Is Required for Commissural Axon Guidance in the Developing Vertebrate Nervous System. *The Journal of Neuroscience*. 2002; 22: 239-247.
- Shenaq, S.M., Kim, J.Y.S. Repair and grafting of peripheral nerve. Mathes SJ, editor. *Plastic surgery*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier. 2006; 1: 719-43.
- Shimizu, S., Kitada, M., Ishikawa, H., Itokazu, Y., Wakao, S., Dezawa, M. Peripheral nerve regeneration by the in vitro differentiated-human bone marrow stromal cells with Schwann cell property. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007; 359: 915-920.
- Sigurjonsson, O.E., Perreault, M.C., Egeland, T., Glover, J.C. Adult human hematopoietic stem cells produce neurons efficiently in the regenerating chicken embryo spinal cord. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102: 5227-5232.
- Snell, R.S. *Clinical Neuroanatomy for Medical Students*. Second edition. Little Brown and Company, Boston. 1980: 47-75.
- Son, Y.J., Thompson, W.J. Schwann cell processes guide regeneration of peripheral axons. *Neuron*. 1995; 14: 125-132.
- Spitkovsky, D., Hesheler, J. Adult mesenchymal stromal stem cells for therapeutic applications. *Minim Invasive Ther Allied Technol*. 2008; 17: 79- 90.
- Stark, B., Carlstedt, T., Risling, M. Distribution of TGF-beta, the TGF-beta Type I Receptor and the R-II Receptor in Peripheral Nerves and Mechanoreceptors; Observations on Changes after Traumatic Injury. *Brain Research*. 2001; 913: 47-56.
- Sterio, D.C. The unbiased estimation of number and size of arbitrary particles using the disector. *J Microsc.* 1984; 134: 127-136.
- Stoll, G., Müller, H.W. Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: Basic insights. *Brain Pathology*. 1999; 9: 313-325.
- Stoll, G., Jander, S., Myers, R.R. Degeneration and regeneration of the peripheral nervous system: From Augustus Waller's observations to neuroinflammation. *J Peripheral Nervous System*. 2002; 7: 13-27.
- Styne, D.M. Childhood and adolescent obesity. Prevalence and significance. *Pediatr Clin North Am*. 2001; 48: 823-854.
- Sulaiman, O.A., Gordon, T. Transforming Growth Factor-beta and Forskolin Attenuate the Adverse Effects of Long-term Schwann Cell Denervation on Peripheral Nerve Regeneration in vivo. *Glia*. 2002; 37: 206-218.
- Sunderland, S. The anatomy and physiology of nerve injury. *Muscle Nerve*. 1990; 13: 771-784.

- Takahashi, T, Kalka, C, Masuda, H, Chen, D, Silver, M, Kearney, M, Magner, M, Isner, JM, Asahara, T. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med.* 1999; 5: 434–438.
- Tennyson, V.M. The fine structure of the axon the growth cone of the dorsal root neuroblast of the rabbit embryo. *J.Cell Biol.* 1970; 44: 62-79.
- Terenghi, G. Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors. *J Anat.* 1999; 194: 1-14.
- Terenghi, G., Wiberg, M., Kingham, P.J. Chapter 21: Use of stem cells for improving nerve regeneration. *Int Rev Neurobiol.* 2009; 87: 393-403.
- Terzis, J.K, Smith, K.L. Repair and grafting of the peripheral nevre. In McCarthy JG, May JW, Litter WJ, editors. *Plastic surgery.* Philadelphia; WB Saunders. 1990; 1: 630–697.
- Thomas, P.K. The Deposition of collagen in relation to schwann cell basement membrane during peripheral nerve regeneration. *J.Cell Biol.* 1964; 23: 375-382.
- Thomas, P.K, Landon D.N, and King, R.H.N. Normal structural of the peripheral nevre. Adams, J.H, and Corcellis, J., and Duchen, L.W. Editors. *Greenfield's Neuropathology.* 3st Ed., Newyork; John Wiley and Sons. 1984; 41- 93.
- Thomas, P.K., Berthold, C.H., Ochoa, J. Microscopic anatomy of the peripheral nervous system. In Dyck P., Saunders WB., editors. *Peripheral Neuropathy.* 3st Ed., Philadelphia. 1993: 28-80.
- Tohill M., Mantovani C., Wiberg M., Terenghi G. Rat bone marrow mesenchymal stem cells express glial markers and stimulate nerve regeneration. *Neurosci Lett.* 2004; 362: 200–203.
- Tonks, N.K., Charbonneau, H., Diltz, C.D., Fischer, E.H., Walsh, K.A. Demonstration that the leukocyte common antigen CD45 is a protein tyrosine phosphatase. *Biochemistry.* 1988; 27: 8695-8701.
- Tos, P., Ronchi, G., Nicolino, S., Audisio, C., Raimondo, S., Fornaro, M., Battiston, B., Graziani, A., Perroteau, I., Geuna, S. Employment of the mouse median nerve model for the experimental assessment of peripheral nerve regeneration. *Journal of Neuroscience Methods.* 2008; 169: 119-127.
- Tubitak. Bilim ve Teknik. Obezite. Mart. 2007; 1-15.
- Tüzün, M. obezite tanım, sıklık, tanı, sınıflandırma, tipleri, dereceleri ve Komplikasyonları. İn. Yılmaz C. Ed. *Obezite ve tedavisi.* 1.baskı, İstanbul; Mart matbaacılık sanatları Ltd. 1999: 1-18.

- Unalan, D., Senol, V., Bayat, M., Mazicioglu, M.M., Ozturk, A., Kurtoglu, S., Hatipoglu, N., Ustunbas, H.B. Change in waist circumference over 3 years in Turkish children and adolescents. *Ann Hum Biol.* 2013.
- Uzun, A. Maternal obezitenin prenatal ve postnatal gelişim üzerine etkileri. Yüksek lisans tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı. Isparta. 2011; 1-3.
- Wang, R., Ghahary, A., Shen, Q., Scott, P., Roy, K., Tredget, E.E. Hypertrophic Scar Tissues and Fibroblasts Produce more Transforming Growth Factor- β 1 mRNA and Protein than Normal Skin and Cells, *Wound Repair and Regeneration.* 2000; 8: 128-137.
- Wang, L., Yu, Q., Xiong, Y., Liu, L., Zhang, X., Zhang, Z., Wu, J., Wang, B. Variant rs1421085 in the FTO gene contribute childhood obesity in Chinese children aged 3-6 years. *Obes Res Clin Pract.* 2013; 7: 14-22.
- Watkins, M.L., Rasmussen, A.S., Honein, M.A., Botto, L.D., Moore, C.A. Maternal Obesity and Risk for Birth Defects. *Pediatrics.* 2003; 111: 1152- 1158.
- Prevention and management of the global epidemic of obesity. Report of the WHO Consultation on Obesity (Geneva, June, 3–5, 1997). Geneva: WHO. (litaratürden)
- Varejao, A.S., Cabrita, A.M., Meek, M.F., Bulas-Cruz, J., Melo-Pinto, P., Raimondo, S., Geuna, S., Giacobini-Robecchi, MG. Functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. *J Neurotrauma.* 2004; 21: 1652–1670.
- Venkataramana, N.K., Bansal, A., Balaraju, S., Jan, M., Chandra, R., Dixit, A., Rauthan, A., Murgod, U., Totey, SM. Ex vivo-expanded autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in human spinal cord injury/paraplegia: A pilot clinical study. *Cytotherapy.* 2009; 11: 897-911.
- Venkataramana, N.K., Kumar, S.K., Balaraju, S., Rdahakrishnan, R.C., Bansal, A., Dixit, A., Rao, D.K., Das, M., Jan, M., Gupta, P.K., Totey, S.M. Open-labeled study of unilateral autologous bone-marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in Parkinson's disease. *Transl Res.* 2010; 155: 62-70.
- Vercelli, A., Mereuta, O.M., Garbossa, D., Muraca, G., Mareschi, K., Rustichelli, D., Ferrero, I., Mazzini, L., Madon, E., Fagioli, F. Human mesenchymal stem cell transplantation extends survival, improves motor performance and decreases neuroinflammation in mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis.* 2008; 31: 395-405.
- Xu, Y., Tamamaki, N., Noda, T., Kimura, K., Itokazu, Y., Matsumoto, N., Dezawaa, M., Idea, C. Neurogenesis in the ependymal layer of the adult rat 3rd ventricle. *Exp Neurol.* 2005; 192: 251–264.
- Yang, L.Y., Zheng, JK., Wang, C.Y., Li, W.Y. Differentiation of adult human bone marrow mesenchymal stem cells into Schwannlike cells in vitro. *Chin J Traumatol.* 2005; 8: 77–80.

- Yu, B.Y., Chen, P.Y., Sun, Y.M., Lee, Y.T., Young, T.H. Effects of the surface characteristics of polyhydroxy alkanates on the metabolic activities and morphology of human mesenchymal stem cells. *Journal of Biomaterials Science*. 2010; 21: 17-36.
- Zhang, Y., Kurup, P., Xu, J., Carty, N., Fernandez, S.M., Nygaard, H.B., Pittenger, C., Greengard, P., Strittmatter, S.M., Nairn, A.C., Lombroso, P.J. Genetic reduction of striatal-enriched tyrosine phosphatase (STEP) reverses cognitive and cellular deficits in an Alzheimer's disease mouse model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010; 107: 19014–19019.
- Zhao, L.R., Duan, W.M., Reyes, M., Keene, C.D., Verfaillie, C.M., Low, W.C. Human bone marrow stem cells exhibit neural phenotypes and ameliorate neurological deficits after grafting into the ischemic brain of rats. *Exp Neurol*. 2002; 174: 11-20.
- Zietlow, R., Lane, E.L., Dunnet, S.B. Human stem cells for CNS repair. *Cell Tissue Res*. 2008; 331: 301- 322.
- Zimmerman, M., Hrabosky, JI., Francione, C., Young, D., Chelminski, I., Dalrymple, K., Galione, J.N. Impact of obesity on the psychometric properties of the diagnostic and statistical manual of mental disorders, fourth edition criteria for major depressive disorder. *Compr Psychiat*. 2011; 52: 146-150.
- Zochodne, D.W. The microenvironment of injured and regenerating peripheral nerves. *Muscle Nerve*. 2000; 9: 33-38.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Elif KAYHAN KUŞTEPE

Doğum Yeri: Trabzon

Doğum Tarihi: 24.08.1988

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu:

Lisans, OMÜ Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanları Biyoloji Öğretmenliği (2006-2011)

Yüksek Lisans, OMÜ Sağ. Bil. Enst. (2011- 2017)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: Adıyaman Üniversitesi, Tıp Fak. (2014-Halen)

E-posta: elif.kayhan@oposta.omu.edu.tr