



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**ÇÖREK OTU (*NİGELLA SATİVA*), MABET AĞACI
(*GİNKGO BİLOBA*)'NİN SİNİR REJENERASYONU
ÜZERİNE ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK
İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Halil İbrahim EVMEK

**Samsun
Ekim-2016**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**ÇÖREK OTU (*NİGELLA SATİVA*), MABET AĞACI
(*GİNKGO BİLOBA*)'NİN SİNİR REJENERASYONU
ÜZERİNE ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK
İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Halil İbrahim EVMEK

**Danışman
Prof.Dr. Nergiz YILMAZ**

**Samsun
Ekim-2016**

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimin her aşamasında desteğini ve hoşgörüsünü benden esirgemeyen, teorik ve pratik bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, asistanı olmaktan büyük gurur ve mutluluk duyduğum değerli hocam ve tez danışmanım, Prof. Dr. Nergiz YILMAZ'a;

Tez çalışmalarım boyunca, yaptıkları bilimsel katkılardan dolayı tez izleme komitesindeki değerli hocalarım Prof. Dr. Gözlem CEYLAN'a ve Doç. Dr. Burcu BAŞ'a;

Doktora eğitimim boyunca her türlü bilimsel bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim değerli bölüm hocalarıma;

Çalışmanın stereolojik, elektrofizyolojik ve istatistiksel açıdan değerlendirilmesindeki ve yazım sürecindeki katkılarından dolayı OMÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına;

Doktora eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum tüm bölüm arkadaşlarıma;

Hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen çok kıymetli aileme;

EN İÇTEN TEŞEKKÜRLERİMLE...

Bu çalışma, PYO.DIS.1904.14.001 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

ÇÖREK OTU (*NIGELLA SATIVA*), MABET AĞACI (*GINKGO BİLOBA*)'NİN SİNİR REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ

Amaç: Bu çalışmayla güçlü bir antioksidan olduğu bilinen *Nigella sativa* (NS) ve *Ginkgo biloba* (GB) ekstrelerinin periferik sinir rejenerasyonu üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada 48 adet Wistar cinsi albino erkek ratlar kullanılmıştır. Ratlar, lokal kontrol, sistemik kontrol, lokal sham, sistemik sham, lokal NS, sistemik NS, lokal GB, sistemik GB olmak üzere ve her grupta 6 adet deney hayvanı olacak şekilde 8 gruba ayrılmıştır. Bütün ratların sağ siyatik sinirleri açığa çıkarılmış, sham, GB ve NS gruplarında sabit 50 N (newton) kuvvetle 3 sn ezilme tarzı sinir hasarı oluşturulmuş, kontrol grubunda hasar oluşturulmadan yara yeri kapatılmıştır. Kontrol ve sham gruplarına 1 ml serum fizyolojik, lokal gruplarda açığa çıkarılan sinir üzerine intraoperatif tek doz, sistemik gruplarda ise yara yeri kapatıldıktan sonra 21 gün boyunca günde bir kez gavajla uygulanmıştır. Deney gruplarında ise 400 mg/kg NS ve 100 mg/kg GB lokal gruplarda açığa çıkarılan sinir üzerine intraoperatif tek doz, sistemik gruplarda ise yara yeri kapatıldıktan sonra 21 gün boyunca günde bir kez gavajla uygulanmıştır. Postoperatif 90 gün sonra ratlara yürüme analizi ve EMG testleri uygulanmış ve ratlar sakrifiye edilmiştir. Sakrifikasyon aşamasından sonra siyatik sinirden örnekler alınıp stereolojik inceleme yapılmıştır.

Bulgular: Histolojik ve elektrofizyolojik incelemeler sonucunda lokal NS uygulamasının akson alanı, miyelinli akson sayısı, miyelin kılıf kalınlığı, amplitüt ve latans değerleri açısından, lokal GB uygulamasının miyelinli akson sayısı ve latans değerleri açısından sinir rejenerasyonunu istatistiksel olarak anlamlı derecede artırdığı gözlenmiştir ($p < 0,05$). Sistemik uygulamaların sinir rejenerasyonuna katkısı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Sonuç: Çalışma sonucunda siyatik sinir hasarı üzerinde lokal NS ve daha az etkili olmakla birlikte lokal GB uygulamasının sinir rejenerasyonunu artırdığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan; *Ginkgo biloba*; *Nigella sativa*; Sinir rejenerasyonu

Halil İbrahim EVMEK, Doktora Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Ekim-2016

ABSTRACT

THE EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF *NIGELLA SATIVA*, *GINKGO BILOBA* ON NERVE REGENERATION

Aim: This study aimed to investigate the effects of *Nigella sativa* (NS), *Ginkgo biloba* (GB) extracts which are known powerful antioxidants on peripheral nerve regeneration.

Material and Method: 48 Wistar-Albino male rats were randomly divided into 8 groups: local control, systemic control, local sham, systemic sham, local GB, systemic GB, local NS, systemic NS and each groups contain 6 rats. Right sciatic nerves of rats were exposed. In sham, GB and NS groups, crush injury was created on right sciatic nerves with constant pressure of 50 newton during 3 seconds. In control groups no injury was created. In local control and local sham groups, 1 ml saline solution was placed on the exposed nerve intraoperatively once. In systemic control and systemic sham groups, the wounds were closed primarily and 1 ml saline solution was given with intragastric intubation during 21 days (once a day) after operation. In local NS and local GB groups, 400 mg/kg NS and 100 mg/kg GB was placed on the exposed nerve intraoperatively once. In systemic NS and systemic GB groups, the wounds were closed primarily 400 mg/kg NS and 100 mg/kg GB was given with intragastric intubation during 21 days (once a day) after operation. At postoperative 90th day, EMG and SFI investigation were performed to rats. Then the rats were sacrificed and samples were collected from sciatic nerves of the rats and investigated stereologically.

Results: It observed that local NS administration is enhance nerve regeneration statistically about number of myelinated axons, axon area, myelin sheath thickness, values of amplitudes and latency and local GB administration is enhance nerve regeneration statistically only about number of myelinated axons, values of latency ($p<0.05$). The effects of systemic administrations of nerve regeneration was not statistically significant.

Conclusion: This study concluded that local NS administration more effective than local GB administration at nerve regeneration but both of them are enhance sciatic nerve regeneration after sciatic nerve injury.

Keywords: Antioxidant; *Ginkgo biloba*; Nerve Regeneration; *Nigella sativa*

Halil İbrahim EVMEK, Ph.D. Thesis
Ondokuz Mayıs University - Samsun, October-2016

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT	: Alaninaminotransferaz
ANOVA	: Analysis of Variance
AST	: Aspartataminotransferaz
°C	: Santigrad derece (Celsius)
CCL₄	: Karbon tetra klorür
Cl⁻	: Klor
cm	: Santimetre
CO₂	: Karbon dioksit
DTQ	: Ditimokinon
EMG	: Elektromiyografi
GB	: <i>Ginko biloba</i>
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
K⁺	: Potasyum
KBrO₃	: Potasyum bromat
kg	: Kilogram
LDH	: Laktat dehidrojenaz
MCAO	: Middle Cerebral Artery Occlusion
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mV	: Milivolt
N	: Newton
Na⁺	: Sodyum
nm	: Nanometre
NO⁻	: Azot monoksit
NS	: <i>Nigella sativa</i>
O₂	: Oksijen
OH⁻	: Hidroksil

sn : Saniye
SFI : Siyatik Fonksiyonel İndeks
TBARS : Thiobarbituric acid-reactive substance
THQ : Timohidrokinon
THY : Timol
TQ : Timokinon
µm : Mikrometre
µm² : Mikrometre kare
% : Yüzde



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Sinir Sistemi.....	3
2.2. Periferik Sinir Sistemi.....	3
2.3. Sinir Dokusu	3
2.4. Periferik Sinir Bağ Dokusu Tabakaları	4
2.5. Sinir Liflerinde İletim	6
2.6. Sinir Yaralanmaları.....	6
2.7. Periferik Sinir Hasarının Sınıflandırılması	7
2.7.1. Seddon Sınıflandırılması.....	7
2.7.2. Sunderland Sınıflandırılması	9
2.8. Sinir Dejenerasyonu ve Rejenerasyonu	11
2.9. Nigella Sativa.....	13
2.9.1. Nigella Sativa'nın Tanımı ve Tarihçesi	13
2.9.2. Nigella Sativa'nın Kimyasal İçeriği ve Yapısı	14
2.9.3. Nigella Sativa'nın Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	15
2.10. Ginkgo Biloba.....	21
2.10.1. Ginkgo Biloba'nın Tanımı ve Tarihçesi	21
2.10.2. Ginkgo Biloba'nın Kimyasal İçeriği ve Yapısı	22
2.10.3. Ginkgo Biloba'nın Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	23
3. MATERYAL VE METOT	26
3.1. Deney Protokolü	26
3.2. Nigella Sativa ve Ginkgo Biloba Ekstraktlarının Elde Edilmesi	28
3.3. Cerrahi Prosedür	31
3.4. Histolojik ve Elektrofizyolojik İnceleme.....	33
3.4.1. Elektrofizyolojik Analizler	33
3.4.2. Elektron Mikroskopik Takip İşlemi ve Stereolojik Analiz.....	35

3.5. İstatistiksel Değerlendirme	36
4. BULGULAR	37
4.1. Stereolojik Bulgular	37
4.2. Elektrofizyolojik Bulgular	41
4.3. Yürüme Analizi (SFI) Bulguları	43
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR	69
EKLER	80
EK 1- Etik Kurul Onayı	80
ÖZGEÇMİŞ	81

1. GİRİŞ

Ağız, diş ve çene cerrahisi kapsamında yapılan cerrahi girişimler, çalışma alanı açısından birçok farklı anatomik yapıya aynı anda müdahale etmeyi zorunlu kılmaktadır. Bu durum çok sayıda ve çeşitte cerrahi komplikasyonlara sebep olmaktadır. Bu bölgenin yumuşak ve sert dokularında yapılan cerrahi müdahalelerle, bu dokuların içinden geçen sinirlerin yaralanmaları, ağız diş ve çene cerrahisi operasyonlarında en sık karşılaşılan komplikasyonlar arasındadır. Hasar gören sinirin tekrar eski fonksiyonunu kazanması oldukça zaman alabilmekle birlikte, iyileşmenin hiç olmadığı vakalar da bulunmaktadır. Bundan dolayı günümüzde sinir yaralanmalarının tedavisine yönelik birçok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalar, sinir hasarı sonrası oluşacak rejenerasyonu hızlandırarak tam anlamıyla iyileşmeyi sağlayabilecek antioksidan maddeler üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Alternatif tıpta, birçok hastalığın ve sorunun tedavisinde yüzyıllar boyunca kullanılan doğal ürünler, zamanla üzerlerinde yapılan çalışmalarla modern tıba kazandırılmıştır. Nigella Sativa (NS) ve Ginkgo Biloba (GB), üzerinde birçok çalışma yapılmış ve halen yapılmakta olan ve bunun neticesinde bileşenlerinin ve ekstraktlarının tıpta birçok hastalık ve sorunda ilaç olarak kullanılmaya başlandığı, geleneksel tıpta yüzyıllardır kullanılan iki doğal maddedir. Bu çalışmalar neticesinde her iki maddenin birçok yararlı etkisi ortaya çıkarılmış ve güçlü birer antioksidan oldukları kanıtlanmıştır (Badary ve ark., 2000; Burits ve ark., 2000; Salem ve ark., 2000; Defeudis, 2002; MacLennan ve ark., 2002; Ahlemeyer ve Krieglstein, 2003; Khan ve ark., 2003b; Fararh ve ark., 2004; Erdogan ve ark., 2006; Xia ve ark., 2007; Yağmurca ve ark., 2007).

Her iki maddenin de özellikle güçlü antioksidan kapasitelerinden dolayı doku hasarını minimize ettiğine ve iyileştirmeyi hızlandırdığına yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar neticesinde her iki maddenin de önemli miktarda rejeneratif etkiye sahip oldukları vurgulanmıştır. Sinir dokusu üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarla da benzer sonuçlara ulaşılmış, her iki maddenin de nörodejenerasyonda etkili olduğu ve nöroprotektif etki gösterdiği kanıtlanmıştır (Lee ve ark., 2002; Kanter ve ark., 2003; Kanter, 2008a; Kanter, 2008b; Saleem ve ark., 2008; Javanbakht ve ark., 2013; Zhu ve ark. 2015).

Bu tez çalışması ile rejeneratif ve nöroprotektif etkisi olduğu kanıtlanmış güçlü birer antioksidan olan NS'nın ve GB'nın, bu iki önemli etkisinin birleştirildiği bir

Çalışma planlanmış ve her iki maddenin sinir hasarı sonrası oluşacak sinir rejenerasyonuna etkisinin deneysel olarak araştırılması amaçlanmıştır. Bunun için hayvan çalışması yapılmasına ve rat siyatik sinirinde ezilme tarzı sinir hasarı oluşturulmasına karar verilmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sinir Sistemi

Sinir sistemi içsel ve dışsal çevreyi algılamak amacıyla iletileri ve işaretleri sinyaller halinde çevreden organizmaya ya da vücudun bir bölgesinden başka bir bölgesine taşımakla görevli sistemdir. Sinir sistemi anatomik yapısı ve fonksiyonu bakımından merkezi sinir sistemi ve periferik (çevresel) sinir sistemi olmak üzere iki temel bölüme ayrılır.

Merkezi sinir sistemi, sinyallerin en son toplandığı, yorumlandığı ve gerekli yanıtların oluşturulduğu bölümdür. Periferik sinir sistemi ise iç ve dış ortamdan topladığı iletileri merkeze, merkezin emirlerini ise ilgili organa (efektör organ) götüren sistemdir (Barrett ve ark., 2012).

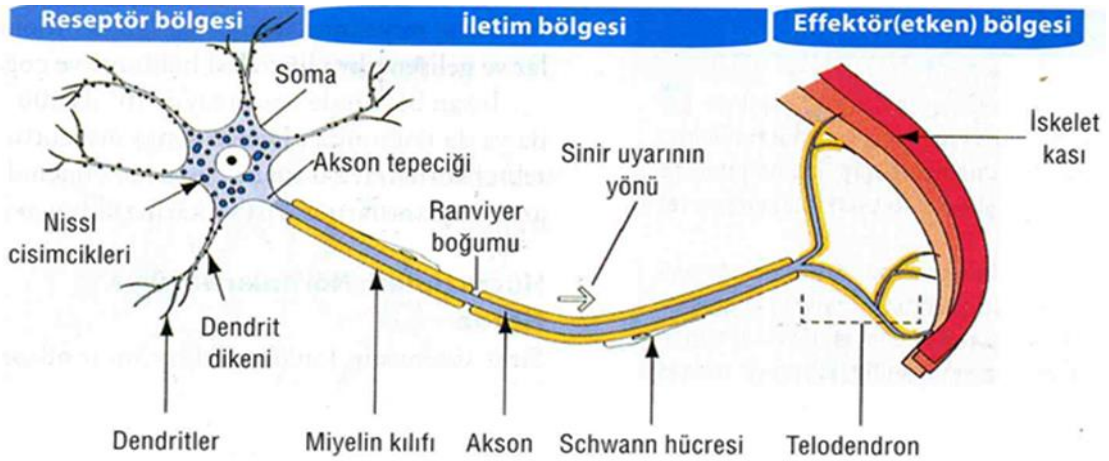
2.2. Periferik Sinir Sistemi

Periferik sinir sistemi, periferik hedef organlar ile santral sinir sistemi arasında bağlantı oluşturarak çift yönlü uyarı iletimini sağlamaktadır (Fitzgerald ve Folan-Curran, 2002).

Bu görevinden dolayı periferik sinir sistemi, motor, duyu ve otonomik fonksiyonların düzenlenmesinde kilit rol üstlenmektedir. Periferik sinirler motor, duyu ve otonom olmak üzere üç bölüme ayrılır. Motor sinirlerin hücre gövdeleri medulla spinalisin ön boynuzundan çıkıp, önde spinal kökün liflerinden geçerek çizgili kasları uyarır. Duyu sinirlerinin hücre gövdeleri ise dorsal spinal arka kökler içerisinde yerleşmiştir. Afferent uyarılar arka boynuzdan, efferent uyarılar ise ön boynuzdan iletilirler. Otonom sinir sistemine ait sinir hücreleri ise santral sinir sistemi içinde ve dışında bulunan çekirdek ve ganglionlarda toplanmışlardır.

2.3. Sinir Dokusu

Sinir sisteminin işlevsel en küçük yapı taşı sinir hücreleridir. Sinir hücreleri, hücre zarlarının iç ve dış ortamları arasındaki elektriksel potansiyeli değiştirerek sinir sistemi boyunca uyarı iletimini sağlamaktadırlar. Sinir hücreleri, hücre gövdesi, dendrit ve akson şeklinde adlandırılan üç temel bölümden oluşmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Sinir hücresi (Kierszenbaum, 2006'dan uyarlanmıştır)

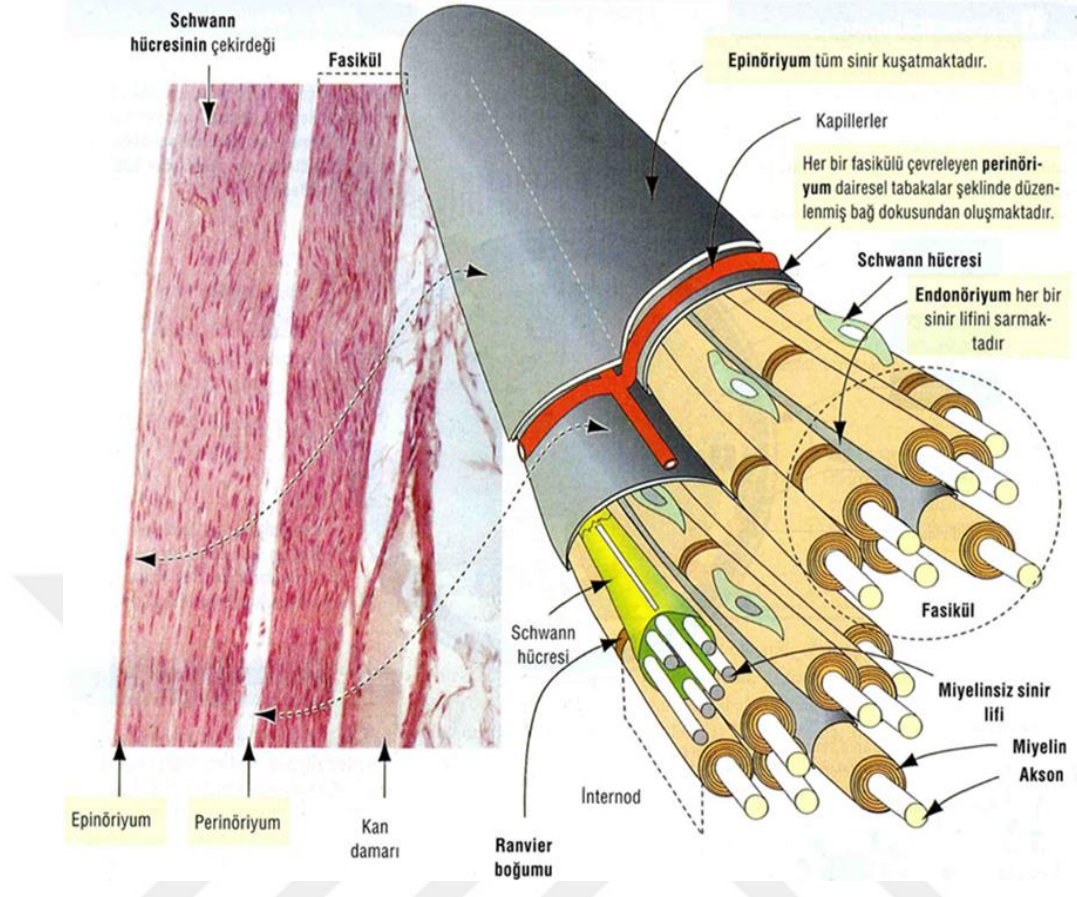
Hücre gövdesi sinir hücrelerinin metabolik ve genetik işlevinden sorumlu bölgedir. Sinir hücrelerinin hücre gövdelerine 'soma' veya 'perikaryon' denilmektedir. Hücre gövdesinde nükleus, nükleolus ve protein sentezinden sorumlu Nissle cisimcikleri (ribozomlu endoplazmik retikulum) bulunmaktadır (Waxman, 2002). Golgi kompleksi, mitokondri ve nöroflamanlar da içermektedir.

Dendritler, sinir hücrelerinde sinyalin ilk alındığı ve işlendiği bölümdür. Dendritler çok sayıda uzantılardan oluşmaktadırlar bu şekilde birçok akson ucu ile bütünleşerek uyarı iletimini sağlayabilmektedirler.

Aksonlar hücre gövdesinden aldığı uyarıyı diğer sinir hücrelerinin dendritlerine ileten bölümlerdir. Genelde sinir hücreleri tek bir aksondan oluşmakla birlikte hücrelerinin şekline göre boyutları değişen silindirik, uzun yapılardır. Aksonlar perikaryonda bulunan akson tepesi denilen kısa, piramit şekilli alandan çıkmaktadır. Aksonu çevreleyen membrana aksolemma, sitoplazmasına ise aksoplazma adı verilmektedir. Aksonların çapı sabittir ve fazla dallanmazlar. Akson plazmasında mitokondri, mikrotübül, nöroflaman, granülsüz endoplazmik retikulum bulunmaktadır (Junquera ve Carneiro, 2005).

2.4. Periferik Sinir Bağ Dokusu Tabakaları

Periferik sinirin etrafını epinöryum, perinöryum ve endonöryum olarak adlandırılan, bağ dokusu kılıfları sarmaktadır (Akbay, 2005) (Şekil 2).



Şekil 2. Periferik sinir bağ dokusu tabakaları (Kierszenbaum, 2006'dan uyarlanmıştır)

Endonöryum aksonları ve etrafındaki miyelin kılıfı saran bağ doku tabakasıdır (Thomas, 1999). Endonöryum, akson ve etrafındaki schwann hücreleri, kollajen lifler, fibroblastlar, mast hücreleri ve kapiller sistemden meydana gelmektedir (Mills, 2007). Endonöryum, endonöryal sıvı içermektedir ve bu sıvı proximodistal basınç farkları boyunca hareket edebilir (Akbay, 2005). Endonöryum perinöryum tarafından sarılmaktadır (Mills, 2007).

Perinöryum tabakası, birden fazla sinir hücrelerinin bir araya gelmesiyle oluşan fasikülleri çevreleyen bağ doku tabakasıdır (Thomas, 1999). Perinöryum yapısından dolayı gerilme kuvvetlerine karşı dirençlidir (Akbay, 2005). Perinöryum kapillerleri sıkı bağlantılar (tight junction) yapan özelliktedir, bu kan-sinir bariyeri zaman zaman osmotik ajanlarla açılabilir (Akbay, 2005). Temel görevi çevrelediği fasikülleri korumaktır (Thomas, 1999; Hunt, 2002).

Epinöryum, perinöryumu saran bağ dokusu tabakasıdır. Bu bağ tabakası periferik sinir kesitinin yüzde (%) 25-75' ini oluşturmaktadır. Epinöryumun kalınlığı

sinirden sinire, kişiden kişiye farklılık göstermektedir (Thomas, 1999). Bu tabaka travmalara karşı koruyucu rol üstlenmektedir bu yüzden eklem bölgelerinde kalınlığı artmaktadır. Epinöryum kollajen ve elastin lifler, fibroblast, yağ hücreleri, kan damarları, mast hücreleri içermektedir (Akbaş, 2005).

2.5. Sinir Liflerinde İletim

Sinir hücrelerinin zarları yarı geçirgen özellik taşıyarak hücrelerinin iç ve dış sıvı ortamları arasında istirahat potansiyeli olarak adlandırılan bir potansiyel farkın oluşmasına sebep olmaktadır. Hücre içi sıvı ortamında potasyum ve diğer anyonlar yüksek yoğunlukta bulunurken, sodyum ve klor iyonu düşük yoğunlukta bulunmaktadır. İleti esnasında, hücre içi ve dışı ortamlar arasında karşılıklı olarak iyon, anyon hareketleri gerçekleşmektedir. Zarların istirahat potansiyelleri ortalama -80 mV (milivolt) düzeyindedir. İleti esnasında zar depolarize olur, zarlardaki sodyum kanallarının sodyum geçirgenliği artar ve zar potansiyeli ortalama +40 mV düzeyine kadar ulaşır. Sodyum iyonlarının aktif transferi zarlardaki sodyum/potasyum pompası aracılığıyla gerçekleşmektedir. Sonuç olarak yaklaşık 120 mV' luk potansiyel değişimi oluşmaktadır. Depolarizasyonu, repolarizasyon aşaması izler ve sinir hücresinde tekrar istirahat potansiyeline geri dönlür. Bu değişim, sinir lifi boyunca yayılarak iletinin gerçekleşmesini sağlamaktadır (Koçbeker, 1995; Widmaier, 2010).

Miyelinli aksonlar miyelinsiz aksonlardan metabolik olarak daha etkindir. Yayılım miyelinsiz sinir liflerinde zar boyunca kesintisiz ilerlerken, miyelinli sinir liflerinde ileti ranvier boğumlarında bir boğumdan diğerine sıçrayarak ilerlemektedir. Miyelinli sinir liflerinin ranvier boğumlarında iletinin sıçrayarak ilerlemesinden dolayı implus, miyelinsiz sinir liflerine göre çok daha hızlı iletilir (Berne ve ark., 2008).

2.6. Sinir Yaralanmaları

Sinir yaralanmaları genel anlamda gerilmeye bağlı yaralanmalar, laserasyonlar ve kompreasyon yaraları olmak üzere 3 kategoriye ayrılır. Klinikte en yaygın hasar tipi gerilmeye bağlı yaralanmalarla olmaktadır. Sinir dokusu kalıtsal olarak esnek olmasına rağmen gerilme kapasitesini aşan kuvvetlerle gerilmeye bağlı yaralanmalar oluşmaktadır (Sunderland, 1990).

Kesici bir aletle gerçekleşen sinir laserasyonları %30 luk oranla en fazla karşılaşılan yaralanma tiplerindedir (Campbell, 2008). Sinirin bir miktar devamlılığını koruduğu durumların yanında sinirin tamamen lasera olduğu vakalar da mevcuttur.

Kompreasyon yaralanmaları olarak adlandırılan ezilme tarzı sinir yaralanmaları sinirde ayrılma ve kopmanın olmadığı yaralanma tiplerindedir. Bu yaralanma tipinde mekanik kompreasyon ve lokal sinir iskemisi temel rol oynamaktadır. Motor ve duyu fonksiyonlarının işlevselliğini tamamen kaybettiği vakalar vardır (Varlı, 2005; Sarı, 2007).

2.7. Periferik Sinir Hasarının Sınıflandırılması

Periferik sinir yaralanmalarında Seddon ve Sunderland sınıflandırmaları olmak üzere literatürde kabul gören 2 tip sınıflandırma vardır. (Lawrence ve Robinson, 2000; Campbell, 2008).

2.7.1. Seddon Sınıflandırması

Seddon sınıflamasında sinir hasarları yaralanmanın şiddetine göre nöropraksi, aksonotmezis ve nörotmezis olmak üzere üç başlık altında incelenmektedir (Campbell, 2008), (Şekil 3).

Nöropraksi

Gerçek anlamda sinir dejenerasyonunun yaşanmadığı, aksonal bütünlüğün bozulmadığı halde sinir segmentindeki iletimin azalması ya da tamamen kesilmesi ile karakterize ve tam iyileşmenin haftalar içinde tamamlandığı en düşük dereceli sinir yaralanmasıdır. Bu yaralanma tipinde, Wallerian dejenerasyonuna rastlanmamaktadır, sinir iletimi yaralanmanın proksimalinde ve distalinde sağlanmaktadır. Bu tarz yaralanmalar genellikle, mekanik bası, metabolik yetersizlik, iskemi ve sinir demiyelinizasyonuna yol açan hastalık ve toksinler sonucu oluşmaktadır (Grant ve ark., 1999; Lawrence ve Robinson, 2000; Campbell, 2008).

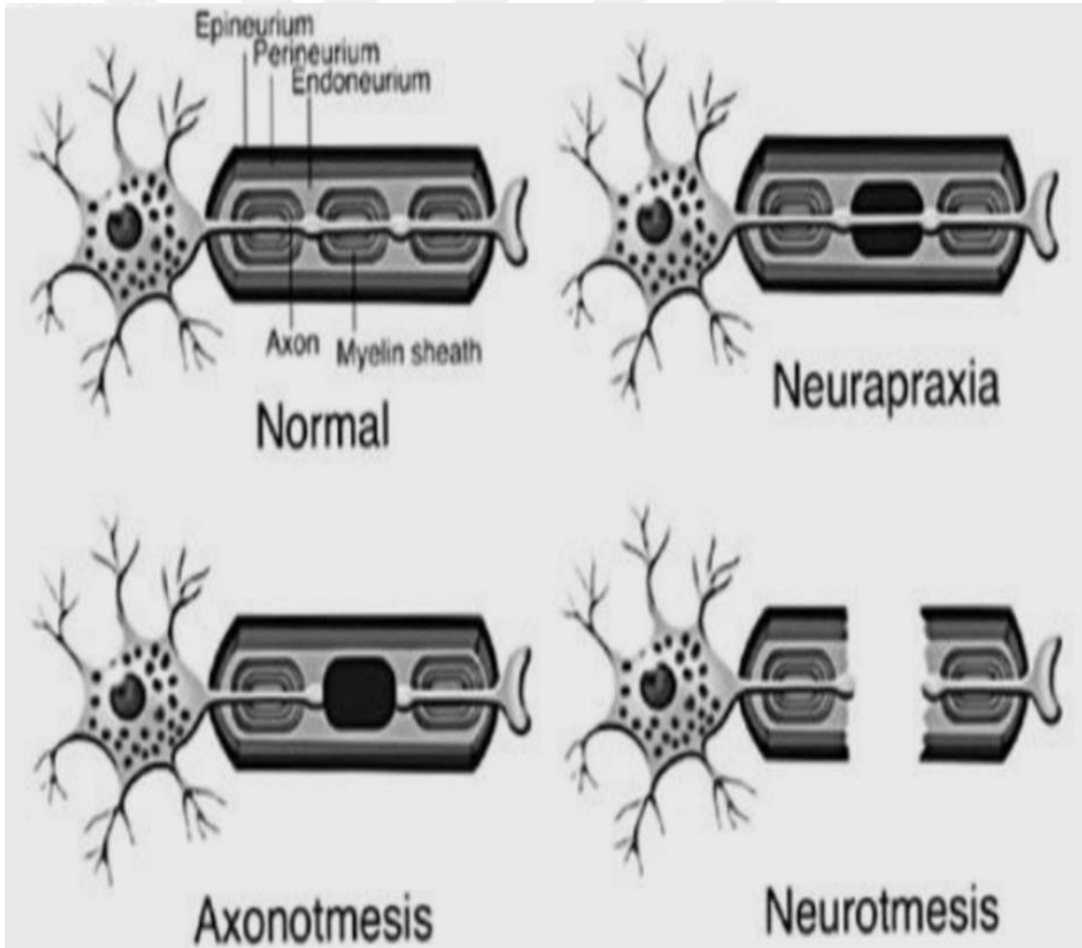
Aksonotmezis

Aksonotmezis, aksonal rejenerasyonu destekleyen çevre bağ dokusunun korunmasına rağmen, aksonal devamlılığın bozulduğu, Wallerian dejenerasyonun meydana geldiği, haftalar ya da aylar sonrasında spontan iyileşmenin gerçekleşebildiği ve yaralanma derecesine göre nöropraksiden daha şiddetli seviyede oluşan periferik

sinir yaralanmasıdır. Konnektif doku ağının korunmuş olması sebebiyle gelişen aksonal rejenerasyon iyileşmeyi sağlamaktadır. Schwann hücreleri rejenere olan aksonlar boyunca longitudinal kanallar (Bungner bandları) oluşturmaktadır. Aksonotmezis gelişen yaralanmalarda iyileşme, proksimal segmentten distal segmente hasarlı bölge geçilerek aksonal filizlenmeyle gerçekleşmektedir. Aksonların günlük ortalama 1 mm (milimetre) uzamasıyla tam iyileşme genellikle ay ve aylar içerisinde oluşmaktadır (Grant ve ark., 1999; Bozkurt ve Benli, 2004; Campbell, 2008).

Nörotmezis

Sinirin akson, miyelin ve konnektif dokusunun zarar gördüğü, en şiddetli yaralanma tipidir. Prognoz kötüdür. Bu tip yaralanmalarda cerrahi müdahale gerekmektedir, rejenerasyonla spontan iyileşme gerçekleşmez. Hasarlı alanın çıkarılması ile reanastomoza olanak sağlanabilir (Grant ve ark., 1999).



Şekil 3. Seddon sınıflamasına göre sinir hasarları (Martins ve ark., 2013)

2.7.2. Sunderland Sınıflandırması

Sunderland sınıflandırmasında sinir hasarı 5 dereceye ayrılmaktadır. (Varlı, 2005).

1. Derece

Sunderland sınıflandırmasındaki 1. derece yaralanma seddon sınıfındaki nöropraksinin eşdeğeridir. Sinir dokunun devamlılığının bozulmamış olmasıyla birlikte lezyonun olduğu bölgede sinir iletimi gerçekleşmemektedir. Motor ve duyu kaybı gerçekleşebilir ve iletim birkaç hafta ya da ay içinde tekrar sağlanmaktadır (Bozkurt ve Benli).

2. Derece

Seddon sınıflandırmasındaki aksonotmezisin eşdeğeridir. Sinir kılıf yapılarının hasar görmemesiyle birlikte akson bütünlüğü bozulmuş, distal segmentte Wallerian dejenerasyonu oluşmuştur. Prognozu kötü değildir, iyileşme 1. derece yaralanma tipine göre biraz daha fazla zaman alır (Bozkurt ve Benli, 2004; Varlı, 2005).

3. Derece

Endönoral tabakada, schwann hücrelerinin bazal laminasında, aksonlarda harabiyet gözlenmektedir. Perinöryum hasar görmediğinden dolayı sinir fasiküler yapısı korunmuştur. Wallerian dejenerasyonu gözlenir. Retrograd dejenerasyon oldukça şiddetli gerçekleşir. Bu tip yaralanmalarda iyileşme belirgin derecede gecikmektedir (Bozkurt ve Benli, 2004; Varlı, 2005).

4. Derece

Perinöriumda yaralanma mevcuttur, sinir gövdesinin bütünlüğünün korunmasıyla birlikte nöroma oluşumu gözlenmektedir. 3. derece yaralanmaya göre daha şiddetli retrograd dejenerasyon ve oldukça az miktarda rejenerasyon olmuş akson gözlenir. Sınırlı düzeyde fonksiyonel iyileşme gözlenir, tedavisi lezyonun cerrahi eksizyonu ile birlikte sinir onarımıdır (Bozkurt ve Benli, 2004; Varlı, 2005).

5. Derece

Bu yaralanma tipi Seddon sınıflamasındaki nörotmezisin eşdeğeridir. Epinöral bütünlük ve devamlılık kaybolmuştur. Ayrılan sinir uçları ayrı kalmakla birlikte, skar

köprüsü ile de birleşebilir ve bu skar, rejenerasyon için en büyük sorundur. Akson kaybından ve yanlış yönelimli aksonlardan dolayı rezeksiyon ve sinir onarımıyla tamamen iyileşme gerçekleşmeyebilir (Bozkurt ve Benli, 2004; Varlı, 2005).

Aşağıdaki tabloda her iki sınıflandırma birlikte gösterilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Seddon ve Sunderland sınıflandırılması (Varlı, 2005)

Tip	İşlev	Patolojik Durum	Prognoz
Nöropraksi	Fokal iletim bloku		
	Motor işlev ve propriyosepsiyon bozuk Bazı duyu ve sempatik işlev korunmuş olabilir	Kalın liflerde miyelin hasarı Aksonal devamlılık Wallerian dej. yok	Birkaç hafta veya ay içinde düzelme
Aksonotmezis	Yaralanma yeri ve distalde iletim kaybı	Aksonal ayrılma Wallerian dej. Endo/peri/epinörium sağlam	Aksonal rejenerasyon gerekli
	Yaralanma yeri ve distalde iletim kaybı	Akson ve endönörium hasarı Peri/epinörium sağlam	Endonöral ayrılma hemoraji ödem ve skara yol açar Aksonal yanlış yönelme Prognoz kötü Cerrahi gerekebilir
Tip4	Yaralanma yeri ve distalde iletim kaybı	Akson/perinörium ve endonörium hasarı Epinörium sağlam	Yol gösterici elemanlarda tam karmaşa İntranöral skarlanma ve yanlış yönelme Prognoz kötü Cerrahi gerekebilir
Nörotmezis	Tip5 Yaralanma yeri ve distalde iletim kaybı	Tüm sinirin ayrılması	Cerrahi yaklaşım gerekli Prognoz değişken, kötü

6. Derece

Yukarıda açıklanan farklı derece yaralanma tiplerinin birlikte görüldüğü yaralanma tipi olarak 6. derece, Mackinnon ve Dellon tarafından bu sınıflandırmaya eklenmiştir (Bozkurt ve Benli, 2004).

2.8. Sinirin Dejenerasyonu ve Rejenerasyonu

Rejenerasyonu Sinir lifleri deneysel amaçlı ya da kaza ve travma sonucunda yaralanırsa, hasarlanan alanda morfolojik, kimyasal ve fonksiyonel bir takım değişiklikler oluşur. Sinir dokusunda meydana gelen bu değişikliklerin tümüne sinir dejenerasyonu adı verilmektedir ve bu değişiklikler ilk defa Waller tarafından tanımlandığı için wallerian dejenerasyonu şeklinde de adlandırılmaktadır. Wallerian dejenerasyonu meydana gelmiş bir sinir dokusunun, iyileşip tekrar eski fonksiyonunu kazanmasına sinir rejenerasyonu denilir (Sarı, 2007) (Şekil 4).

Sinir liflerinde dejenerasyondan sonra oluşacak rejenerasyonun başarı oranı başlangıçtaki travmanın şiddetine ve travma sonrası ortaya çıkan dejeneratif değişikliklere bağlıdır (Bozkurt ve Benli, 2004).

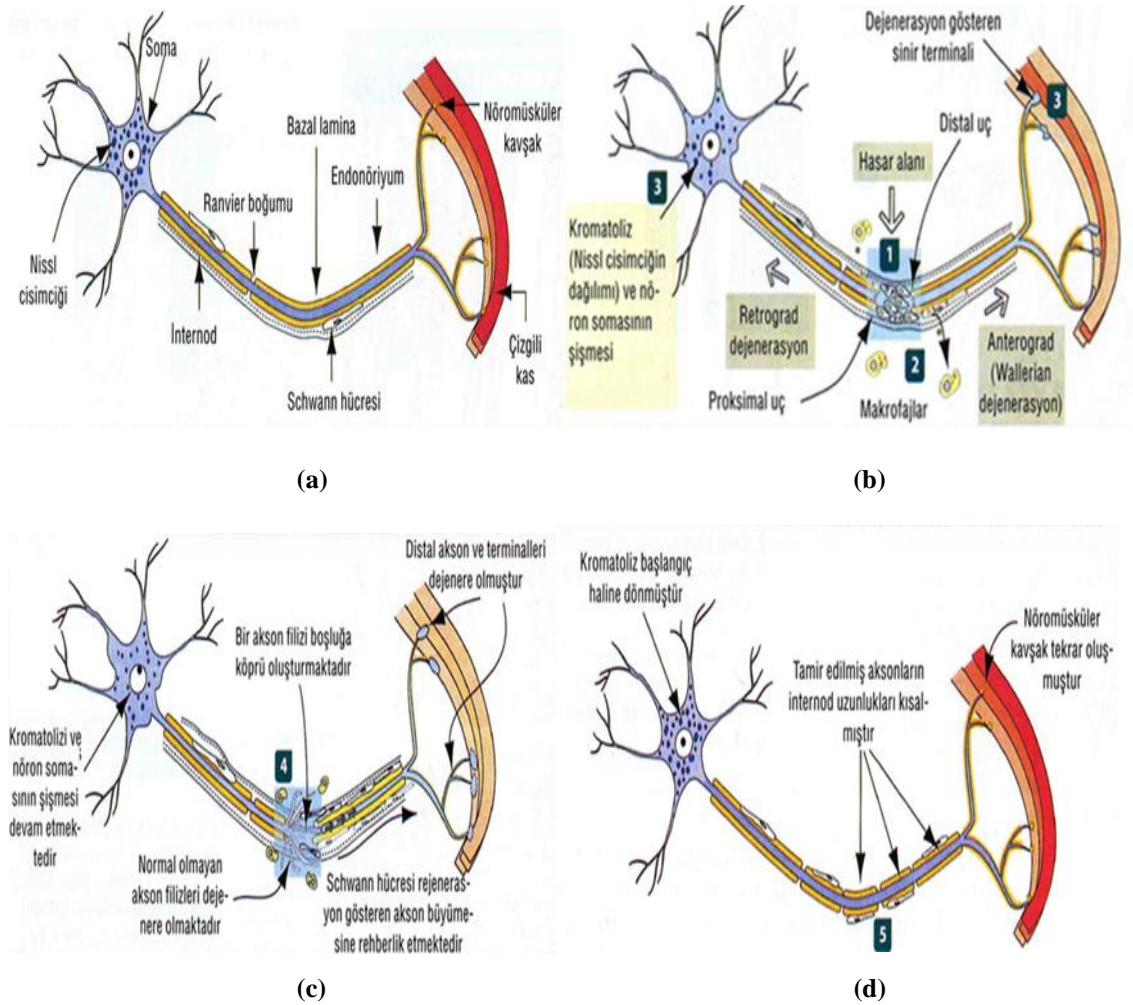
Kesilerek hasar oluşturulmuş sinir liflerinin aksonunun distal kısmında bir antegrad dejenerasyon meydana gelir. Bu alanda distal sinir segmentinin hücre gövdesi ile bağlantısının kaybolması sonucu sinirde yapısal ve fonksiyonel bütünlük kaybolmaktadır. Bu hasarlarda miyelin kılıfın bütünlüğünün kaybolmasına karşın schwann hücreleri canlılığını korumaktadır. Bu nedenle dejeneratif değişiklikler kalın miyelinli liflerde 25 saat ve ince miyelinli liflerde 45 saatte başlamaktadır. İlk etapda akson ve miyelin artıkları ortamdan uzaklaştırılır ve sonrasında da Schwann hücre ile birlikte fibroblastlar çoğalmaktadır, böylelikle kesi arasındaki boşluk doldurulmaktadır (Mumenthaler ve ark., 2005).

Sinir liflerinde meydana gelen akson hasarlarında, hasarlanmış aksonun proksimal gövdesinden sinir filizleri gelişmektedir. Meydana gelen sinir filizleri Büngner bantlarının içine girmektedir. Büngner bantları da rejenerasyonun sürdüğü yol üzerinde yol gösterici olarak görev almaktadırlar. Aksonun miyelinli hale gelmesi için sinir filizlerinin schwann hücrelerine yayılıp büyümeye devam etmesi gerekmektedir (Berne ve ark., 2008). Aksonal rejenerasyon hızı farklı sinirlerde çeşitli yazarlar tarafından günde 1-5 mm olarak belirtilmiştir (Mumenthaler ve ark., 2005).

Aksonun büyümesi ve sinaptik iletimin korunmasından farklı miktarda birçok ajan sorumlu tutulmaktadır. Bunların içinde en sık kullanılanı Sinir Büyüme Faktörü'dür. Bununla birlikte değişik antioksidan ajanların, çeşitli steroidlerin ve sinir büyüme faktörlerinin periferik sinirde nöroprotektif etkisinin ve rejeneratif özelliğinin olduğu belirtilmiştir (Mumenthaler ve ark., 2005).

Morfolojik olarak rejenerasyonun başarısı; rejeneren olan aksonun sayısı, çapı ve miyelinizasyon derecesine bağlıdır (Mumenthaler ve ark., 2005).

Hasarın şiddeti, skar dokunun varlığı, aksonların hasar bölgesine ulaşma süresi gibi birçok faktör de rejenerasyonun sonuçlanmasında etkilidir (Burnett ve Zager, 2004).



Şekil 4. Periferik sinirin dejenerasyon ve rejenerasyon aşamaları (a-d), (Kierszenbaum, 2006'dan uyarlanmıştır)

2.9. *Nigella Sativa*

2.9.1. *Nigella Sativa*'nın Tanımı ve Tarihçesi

Nigella sativa (Çörek otu), başta Güney Avrupa, Kuzey Afrika ve Anadolu'yu içine alan Akdeniz havzası olmak üzere, Orta Asya'da da uzun yıllardır üretimi yapılan ve alternatif tıpta ilaç olarak yaygın kullanım alanı bulan, *Ranunculacea* familyasına ait bir baharat bitkisidir. Eski mısır hükümdarlarının mezarlarında yapılan arkeolojik çalışmalarda çörek otu tohumlarına rastlanmıştır. Kleopatranın da güzel ve sağlıklı kalmak için çörek otundan faydalandığı bilinmektedir. Dioscorides, Hipokrat ve İbn Sina gibi ünlü tıp bilginleri çörek otunu tedavilerinde etkin bir ilaç olarak kullanmışlardır. Tıbbi Nebevide geçtiği için islam kültüründe ölümden başka her türlü derde deva olduğuna inanılır (Fararh ve ark., 2004; Baydar ve ark., 2005; Salem, 2005).

Çörek otunun 20 den fazla türü olmakla birlikte 3 türü yaygındır. Bunlar mısır çörek otu, şam çörek otu ve kır çörek otudur. Kır çörek otunun zehirli etkileri olduğundan çok fazla kullanım alanı yoktur. Şam çörek otu anadolu kökenlidir, bu çörek otu 70-80 santimetre (cm) boya ve parlak mavi renkli çiçeklere sahiptir (Toptaş, 2008) (Şekil 5).



Şekil 5. *Nigella sativa* bitkisi (Herbyclopedia, 2016)

Çörek otu kendi kendini dölleyen bir bitkidir. Döllemenin sonucunda beyaz trigonal tohumlar içeren bir meyve kapsülü oluşturur. Meyve kapsülü olgunlaştığında açılır ve içerdiği tohumlar zamanla siyahlaşmaya başlar (Salem, 2005). Çörek otunun besin değeri taşıyan kısmı kapsül içerisinde oluşan siyah tohumlarıdır (Kaya ve ark., 2003) (Şekil 6).



Şekil 6. *Nigella sativa* tohumları (Wikipedia, 2016)

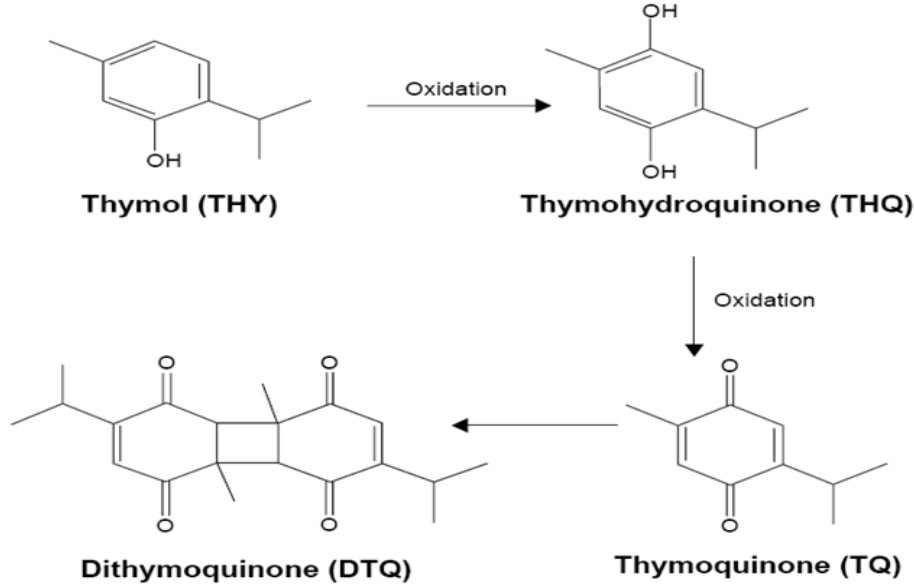
Türkiye’de tarım ve ticareti yapılan çörek otu çoğunlukla Afyon, Isparta, Burdur ve Konya yörelerinde üretilmektedir (Kar ve ark., 2007).

2.9.2. *Nigella Sativa*’nın Kimyasal İçeriği ve Yapısı

Çörek otu tohumları, bu bitkinin ekonomik olarak değerli olan bölümüdür. Çörek otu tohumu, %21 oranında protein, %35 oranında karbonhidrat, %35-38 oranında yağdan oluşmaktadır. Çörek otu yağı içinde % 36-38 oranında sabit yağ, % 0.3-0.6 oranında da uçucu yağ bulunmaktadır. En önemli uçucu yağ bileşenleri; simen (% 40-50), karvon (% 20-25), alfa-pinen (% 5- 10), beta-pinen (% 5-10) ve sabinen (% 4-6)’dir (Baydar ve ark., 2005).

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile yapılan analizlerde NS yağında 4 temel aktif maddenin bulunduğu gösterilmiştir. Bunlar timokinon (TQ), ditimokinon

(DTQ), timohidrokinon (THQ), nigellon ve timol (THY) dür (Ghosheh ve ark., 1999), (Şekil 7).



Şekil 7. *Nigella sativa* bileşenlerinin kimyasal yapısı (Agbaria ve ark., 2015)

Ülkemizde yapılan bir araştırmada, NS'de % 6,4 su, % 4 kül, % 32 yağ, % 20,2 ham protein, % 6,6 ham lif ve % 37,4 karbonhidrat bulunduğu; sabit yağın % 1,2 miristik, % 8,4 palmatik, % 2,9 stearik, % 17,9 oleik, % 60,8 linoleik, az miktarda araşidik ve % 1,7 eikosadienoik asitlerden oluştuğu bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada NS' nin vitamin komponentleri olarak B1, B2, B6, ve folik asit, mineral komponentleri olarak kalsiyum, demir, sodyum ve potasyum olarak gösterilmiştir (Nergiz ve ark., 1993).

NS tohumlarında TQ, DTQ, THQ ve THY bileşikleri majör bileşikler olarak kabul edilmiştir. NS sabit yağında Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC) analizi sonucu timokinon 5.26×10^{-2} , THQ 7.76×10^{-4} ve THY 9.12×10^{-3} oranında saptanmıştır (Ghosheh ve ark., 1999). TQ; 5-izopropil-2-metil-1,4-benzokinon yapısındadır. Uçucu yağda %27,8-57,0 oranında bulunur (Hosseinzadeh ve ark., 2004).

2.9.3. *Nigella Sativa* Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Günümüze kadar NS'nin biyolojik etkisini inceleyen pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar doğrultusunda NS 'nin antihiperlipidemik, antidiyabetik, antihipertansif, antiviral, antifungal, anti bakteriyel, antiinflamatuvar, analjezik, antiülser,

antikonvulzan, immunomodulator, hepatoprotektif, radyoprotektif, gastroprotektif, antihistaminik, antitümör, antialfatoksin, antinosiseptif etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır.

NS etken maddelerinden biri olan TQ ile ratlarda yapılan bir çalışmada Doxorubicin'nin indüklediği hiperlipidemik nefropatide TQ'nun etkisi incelenmiştir. İntravenöz Doxorubicin uygulanan ratlarda total trigliserid ve total kolesterol artmıştır. Bu ilacın uygulanmasından 6 gün önce TQ başlanan ratlarda kontrol grubuna göre total trigliserid ve total kolesterolün belirgin derecede az olduğu kanıtlanarak, TQ nefrotoksik sendromla ilişkili hiperlipidemi üzerinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Badary ve ark., 2000).

2004 yılında yapılan bir çalışmada ratlarda streptozotosin ile diyabetik model oluşturulmuş ve postdiabetik 6 hafta boyunca ratlara gavaj yoluyla 400 mg/kg (miligram/kilogram) NS yağı verilmiştir. Yapılan ölçümlerde bu uygulamanın ratlarda kayda değer bir hipoglisemik etki oluşturduğu kanıtlanmıştır (Fararh ve ark., 2004).

2003 yılında diyabetik ratlarda yapılan başka bir çalışmada ratlara 1 ay boyunca her gün 0.20 ml/kg (mililitre/kilogram) NS yağı intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Aşamalı alınan örneklerde serum glikoz düzeylerinde azalma olduğu, düşük serum insülin konsantrasyonunun arttığı ve pankreas beta hücrelerinde kısmi rejenerasyon ve proliferasyon gözleendiği rapor edilmiştir (Kanter ve ark., 2003).

Gönüllü tıp öğrencileri üzerinde yapılan bir çalışmada, gönüllülere oral yoldan günde 2 kez 1g NS kapsülü verilmiştir. Yapılan ölçümlerde kan glikoz seviyelerinde 2 hafta sonra ciddi bir düşüş gözlenmiştir (Bamosa ve ark., 1997).

Hipertansif ratlarda NS ekstraktının diüretik ve hipotansif etkisi incelenmiştir. Hipertansif ratlara oral yoldan 15 gün boyunca 0.6 ml/kg NS ekstraktı uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda klor (Cl⁻), sodyum (Na⁺), potasyum (K⁺) ve ürenin idrarla atılımında ve %16-30 oranında idrar çıkışında artış gözlenmiştir. Bununla birlikte arteriyel kan basıncında % 22 oranında düşüş gözlenmiştir. NS'nin diüretik özelliğinden dolayı hipotansif etkiye neden olabileceği düşünülmüştür (Zaoui ve ark., 2000).

NS'nin antiviral etkisini inceleyen bir hayvan çalışmasında, farelerde murin cytomegalivirus modeli oluşturulup, bu farelere intraperitoneal NS yağı uygulanmıştır. Enfeksiyonun 3. günde belirgin derecede azaldığı gözlenmiş ve 10. gününde karaciğer ve dalakta virüs titrelerine rastlanmadığı rapor edilmiştir (Salem ve ark., 2000).

NS'nin etkin maddelerinden biri olan TQ'nun antifungal etkisini inceleyen bir çalışmada, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Epidormophyton floccosum* ve *Microsporum canis*'i içeren dermatofitlere karşı etkili olduğu gözlenmiştir (Aljabre ve ark., 2005).

Ratlarda yapılan bir başka çalışmada NS'nin *Candida albicans* enfeksiyonunun gelişimini inhibe edici özellik gösterdiği gözlenmiş ve bu durum histopatolojik incelemelerle teyit edilmiştir (Khan ve ark., 2003a).

NS'nin septik artritli hastalardan izole edilmiş, *Vibrio cholera*, *Escherichia coli* ve *Shigella dysenteriae* gibi antibiyotiklere dirençli çeşitli mikroorganizmaların da içinde bulunduğu bakterilere karşı antibakteriyel etki gösterdiği kanıtlanmıştır. Özellikle gram negatif bakterilerin, gram pozitif bakterilere oranla NS'den daha çok etkilendiği gözlenmiştir (Morsi, 2000).

Bir çalışmada karregen injeksiyonuyla ödem oluşturulan ratlarda NS'nin antiinflamatuvar etkisi araştırılmıştır. Deney grubuna karregen injeksiyonundan 1 saat önce oral yoldan 500 mg/kg NS uygulanmış ve karregen injeksiyonundan sonraki 3. saatte ödem deney grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede az gözlenmiş ve NS'nin antiinflamatuvar etkisi deneysel olarak kanıtlanmıştır (Al-Ghamdi, 2001).

Mısır'da yapılan klinik bir çalışmada NS yağının 2 g/gün dozunda 2 aylık kullanımının romatoid artritli hastalarda önemli derecede antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Al-Okbi ve ark., 2000).

NS'nin analjezik etkisinin ratlarda hot-plate testi ile ölçüldüğü iki farklı hayvan çalışmasında NS'nin analjezik etkisinin olduğu bulunmuş, ağrının erken ve geç dönemlerinde etkili olduğu kanıtlanmıştır (Abdel-Fattah ve ark., 2000; Al-Ghamdi, 2001).

Ratlarda yapılan bir hayvan çalışmasında, etanol ile indüklenen ülser modeli oluşturulmuş ve bu model üzerinde NS'nin gastrik sekresyon üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonunda ülser modeli oluşturulmadan hemen önce NS verilen ratlarda ülserle karşı koruyucu bir etki sağlandığı kanıtlanmıştır (El-Dakhakhny ve ark., 2000).

NS'nin önemli etken maddelerinden biri olan timokinonun, farelerde, pentilentetrazol ve maksimal elektroşok indüklü nöbet modelleri kullanılarak

antikolulzan etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucuna göre timokinonun petit-mal epilepsilerde antikonvulsan aktiviteye sahip olabileceği kanıtlanmıştır ve bu etkinin GABAerjik kasılmalarındaki opioid reseptör aracılıklı artışla olabileceği düşünülmüştür (Hosseinzadeh ve Parvardeh, 2004).

NS tohumunun, hücrel bağışıklık sistemi üzerine etkisini incelemek amacıyla 30 gönüllü üzerinde bir çalışma yapılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce gönüllülerden kan örnekleri alınmış ve analiz edilmiştir. Sonrasında gönüllülere 4 hafta boyunca her gün oral yoldan 30 mg/kg NS verilmiştir. 4 hafta sonunda tekrar kan örnekleri alınıp analiz edilmiştir. CD3+ ve total lökosit değerlerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir artış olduğu diğer parametrelerin de arttığı ancak, bu artışın anlamsız olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre çörekotu tohumunun insan bağışıklık sistemini güçlendirebileceği sonucuna varılmıştır (Kaya ve ark., 2003).

2002 yılında ratlarda yapılan bir hayvan çalışmasında TQ'nun enflamasyonlu ve otoimmün hastalıklarının tedavisinde makrofajlarda nitrik oksit üretimini azaltarak iyileştirici etki gösterebileceği bulunmuştur (El-Mahmoudy ve ark., 2002).

2001 ve 2003 yılında yapılan iki farklı hayvan çalışmasında ratlarda karbontetraklorür (CCL₄) ile karaciğer hasarı modeli oluşturulmuş ve NS'nin önemli derecede hepatoprotektif etkisi olduğu kanıtlanmıştır (Türkdoğan ve ark., 2001; Türkdoğan ve ark., 2003).

Farklı araştırmacılar tarafından yapılmış birbirine benzer iki hayvan çalışmasında NS'nin radyoprotektif etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda NS'nin radyasyonun indüklediği DNA hasarını önemli ölçüde engellediği ve iyonize radyasyonun immunosupresif ve oksidatif etkilerine karşı doğal radyoprotektif bir ajan olduğu kanıtlanmıştır (Assayed, 2010; Rastogi ve ark., 2010).

2005 yılında yapılan bir hayvan çalışmasında ratlarda etonolle indüklenen gastromukozal hasar modeli oluşturulmuştur. NS ve etkin bileşeni timokinonun test edildiği çalışmada bu iki maddenin de gastroprotektif özelliği olduğu kanıtlanmıştır (Kanter ve ark., 2005).

152 allerjik hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, hastalara NS yağı kapsül formunda uygulanmıştır. Hastalar IgE, ezonofil sayısı, plazmadaki ve idrardaki endojen kortizol, adrenokortikotropik hormon, trigliserit, total kolesterol ve lenfosit gibi laboratuvar parametreleri açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca septomların şiddeti daha

önce tanımlanmış bir skala ile ölçülmüştür. NS kullanan hastalarda laboratuvar parametrelerinin bir kısmında önemli bir düşüş gözlenmiştir. Çalışma sonucunda NS'nin alerjik hastaların tedavisinde kullanılabilecek etkinliğe sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Kalus ve ark., 2003).

Yapılan insan ve hayvan çalışmalarında NS'nin antitümör etkisinin de olduğu ispatlanmıştır. NS'nin, Iddamalseniyya ve ark. yaptığı çalışmaya göre hepatik tümörlerde, Salim ve ark. yaptığı çalışmaya göre kolon tümörlerinde, Torres ve ark. yaptığı çalışmalara göre pankreas tümörlerinde, Awad ve ark. yaptığı çalışmaya göre fibrosarkomada, Gurung ve ark. yaptığı çalışmaya göre beyin tümörlerinde antitümör etkisi olduğunu kanıtlamıştır (Iddamaldeniya ve ark., 2003; Salim ve ark., 2003; Awad, 2005; Gurung ve ark., 2010; Torres ve ark., 2010).

NS tohumlarının etkilerinden biri de antioksidan özellikleri ile toksisiteyi azaltmalarıdır. Oksitleyici hasarlar, biyolojik yapılarda, özellikle kardiyovasküler hastalık ve kanser gibi birçok hastalığa sebep oluştururlar. Oksitleyici hasara serbest radikaller neden olmaktadır. Oksidan bileşikler ve aşırı oksitleyici stresin neden olduğu serbest radikal üretiminin artması veya vücuttaki süpürme yeteneğinin azalması sebebiyle, oksidatif hasar oluşur. Oksijen (O_2), hidroksil (OH) ve azot monoksit (NO) gibi serbest radikaller, elektriksel olarak yüklü olup, hücre membranından geçerek hücrelere saldırır ve vücuttaki nükleik asitler, proteinler ve enzimler ile reaksiyona girerek yıkım oluşturur. İn-vitro araştırmalar, NS tohum ekstresinin yılan ve akrep zehirlerinin hemolitik etkisini önlediğini, eritrositleri lipit peroksidasyonuna, protein denaturasyonuna, hidrojen peroksit (H_2O_2)'in sebep olduğu artan ozmotik kırılabilirliğe karşı koruduğunu ve laringeal karsinoma hücrelerini, lipopolisakkarit veya kortisol tarafından indüklenen apoptosisten koruduğunu göstermiştir (Salem, 2005).

2000 yılında yapılan bir araştırmada NS'nin antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Çalışma sonucunda NS komponentlerinden TQ, karvakrol, t-anetol ve 4-terpineol'ün önemli oranda radikal süpürücü aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bu bileşenler ve yağ lipozomlardaki non-enzimatik lipit peroksidasyon ve deoksiriboz degradasyon deneyi için etkili bir OH radikal süpürücü ajan olarak rol oynamışlardır (Burits ve ark., 2000).

Ratlarda potasyum bromat ($KBrO_3$) ile oluşturulan renal oksidatif hasar modelinde profilaktik olarak uygulanan NS'nin dokularda oksidatif hasarı önemli

miktarda azalttığı ve glutatyon ve antioksidan enzim kapasitesini geri döndürdüğü gösterilmiştir (Khan ve ark., 2003b).

Bütün bu çalışmalar NS'nin güçlü bir antioksidan olduğunu göstermektedir.

Yapılan bir hayvan çalışmasında ratlarda deneysel spinal cord hasarı üzerine metilprednizolonla karşılaştırmalı olarak NS'nin olası yararlı etkileri incelenmiştir ve araştırma sonucunda NS'nin omurilik doku hasarındaki klinik uygulamalarda yararlı olabileceği düşünülmüştür (Kanter ve ark., 2006b).

Bir çalışmada kronik toluene maruz bırakılan ratlara, NS'nin hipokampustaki nörodejenerasyon üzerine olası yararlı etkileri incelenmiştir. Histopatolojik sonuçlara göre NS tedavisi alan ratlarda deforme sinir hücrelerine önemli oranda rastlanmamıştır. NS tedavisinin kronik toluene maruz kalmış ratların hipokampuslarındaki nörodejenerasyon üzerinde iyileşme sağladığı gözlenmiştir (Kanter, 2008b).

2007 yılında diabetik ratlarda yapılan bir çalışmada NS'nin periferik nöropatiye etkisi incelenmiş ve NS uygulanan ratlarda sinir dokuda miyelin hasarının azaldığı ve aksonların yapısal özelliklerinde dikkat çekici bir iyileşme gözlenmiştir (Kanter, 2008a).

Bir hayvan çalışmasında NS'nin rat siyatik sinir hasarında nöroprotektif etkisi araştırılmıştır. 30 hayvanın kullanıldığı deneyde hayvanlar; kontrol, travma ve travma ile birlikte NS uygulanan olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. NS uygulanan gruba NS travmadan sonraki 30 gün boyunca oral yoldan uygulanmıştır. Histopatolojik sonuçlara göre NS uygulanan grupta diğer gruplara göre oldukça belirgin bir iyileşme gözlenmiş ve NS'nin rat siyatik sinir nörodejenerasyonunda etkili olduğu kanıtlanmıştır (Javanbakht ve ark., 2013).

2.10. *Ginkgo Biloba*

2.10.1. *Ginkgo Biloba*'nın Tanımı ve Tarihçesi

Ginkgo biloba, Türkçe'de mabet ağacı olarak adlandırılır.

İlk olarak 1771 de Linnaeus tarafından tanımlanan GB, *Ginkgoaceae* familyasına ait tek bitki türüdür. Asya'da yetişmektedir ve geleneksel Çin tıbbında yüzyıllardır ilaç olarak kullanılmaktadır. Yaklaşık 5000 yıldır tıbbi etkileri bilinmesine rağmen son 40-50 yıldır standardize ekstraktı üretilmektedir (McKenna ve ark., 2001; Smith ve ark., 2004; Mahadevan ve ark., 2008; Singh ve ark., 2008).

İlk olarak 1964 yılında GB yapraklarından EGb-761 isimli patetli ekstrakt üretilmiştir. Bu ekstrakt Alzheimer, serebral yetmezlik, felç, miyokardiyal iskemi, tromboz gibi birçok hastalık ve bozuklukta kullanılmaya başlanmıştır (MacLennan ve ark., 2002) (Şekil8).



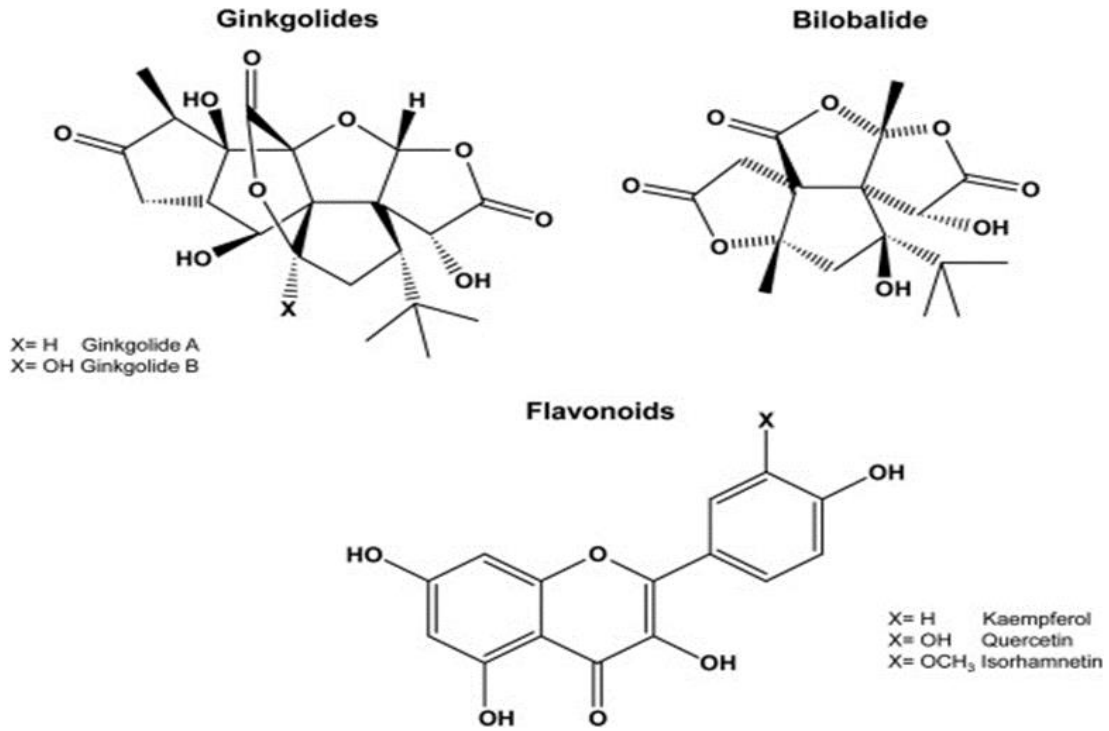
Şekil 8. *Ginkgo biloba* bitkisinin yaprağı (Singh ve ark., 2008)

150 milyon yıldır yaşadığı tahmin edilen GB ağacı yeryüzünde bilinen en eski ağaç türüdür ve bu nedenle yasayan fosil olarak tanımlanmaktadır. Bu bitki türünün, dişi ve erkek cinsiyet organları farklı ağaçlarda bulunur (Mahadevan ve Park, 2008), gövdeleri yaklaşık 7 m'lik kalınlığa, boyları ise 30 m'lik yüksekliğe ulaşabilmektedir (McKenna ve ark., 2001; Mahadevan ve Park, 2008). Gelişmiş bir GB, merkezde bulunan bir gövdenin etrafında diagonal uzayan dallardan oluşmaktadır (Singh ve ark., 2008).

Hava kirliliği gibi olumsuz koşullara dayanıklı, bakteri, mantar ve virüslere karşı dirençli bir bitkidir. Bu özelliğinde dolayı Japonya, Kuzey Amerika ve Avrupa da kentsel alanların ağaçlandırılmasında oldukça rağbet görmektedir (Nakanishi, 2005).

2.10.2. *Ginkgo Biloba*'nın Kimyasal İçeriği ve Yapısı

EGB-761 standart GB ekstraktının içinde %24 oranında flavonoidler, %6 oranında terpenoidler (%3.1 ginkgolidler, %2.9 bilobalidler) ve az miktarda organik asit (kinürenik asit, hidrosikinürenik asit, vanilik asit, şikimik asit) bulunmaktadır (Şekil 9). Flavonoidler; kempferol, quersetin, izorhamnetin ve proanthosiyanit bileşiklerini içermektedir. Terpenoidler ise ginkgolid A, B, C, M, J, K ve L ve bilobalid içermektedir (Logani ve ark., 2000; Ahlemeyer ve Krieglstein, 2003; Güleç ve ark., 2004; Van Beek, 2005).



Şekil 9. *Ginkgo biloba* bileşenlerinin kimyasal yapısı (Mancuso ve ark., 2012)

1960' lı yıllarda Ginkgolit A, B, C ve M tanımlanmıştır. 1980' li yılların ortalarında glikolitlerin kuvvetli platelet aktive edici enzim inhibitörü olduğunun anlaşılmasıyla bitki üzerindeki araştırmalar hız kazanmıştır, bunu takiben 1987 yılında ginkgolit J ve daha sonraki yıllarda da ginkgolit K ve L tanımlanmıştır (Van Beek, 2005).

2.10.3. *Ginkgo Biloba* Biyolojik Aktive Çalışmaları

Yapılan çalışmalarla, GB'nin, yapısında bulunan birçok etken maddeden dolayı antioksidan, antiapoptotik, nöroprotektif, antienflamatuar, antialerjik, vazodilatör

etkilerinin olduğu kanıtlanmakla birlikte kalp ve beyin gibi organların, dokularındaki dolaşımı arttırdığından dolayı günümüzde yaygın olarak vasküler ve serebral hastalıklarda ilaç olarak kullanılmaktadır (Defeudis, 2002; MacIennan ve ark., 2002; Ahlemeyer ve Krieglstein, 2003; Xia ve ark., 2007; Yağmurca ve ark., 2007).

İn vitro yapılan bir çalışmada insan eritrosit süspansiyonu üzerinde, GB ile suda ve yağda eriyen antioksidanların, antioksidan etkileri karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda GB yağda eriyen antioksidanlarla benzer antioksidan etkiye sahipken, suda çözünen antioksidanlardan çok daha güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Köse ve ark., 1995).

Klein ve ark. (1997), yaptıkları bir çalışmada GB'nin yapısındaki bilobalidler sayesinde hipoksiye bağılı beyin hasarını engellediğı sonucuna varılmıştır.

Renkli doppler ile yapılan bir başka klinik çalışmada GB uygulanan hastalarda oküler kan akım hızında belirgin bir artış saptanmıştır (Chung ve ark., 1999).

2000 yılında ratlarda yapılan bir çalışmada GB'nin hidroksil radikallerine bağılı apoptozi, doza bağımlı olarak önlediğı gösterilerek, serbest radikalleri temizleyici etkisi olduğı oksidatif hasara ve apoptoziye karşı serebral hücreleri koruduğı belirtilmiştir (Xin ve ark., 2000).

Ratlarda yapılan, middle cerebral artery occlusion (MCAO) filament modeli oluşturulan bir hayvan çalışmasında da GB'nin serebral iskemiye karşı beyin hasarını koruyarak nöroprotektif etki oluşturduğı belirtilmiştir (Lee ve ark., 2002).

2003 yılında vertebrobaziler yetmezliğı olan 15 hasta üzerinde yapılan bir klinik çalışmasında hastalarda GB tedavisi ile her iki vertebral arter kan akım hızlarında istatistiksel olarak anlamlı derecede artış ortaya çıktığı gözlenmiştir (Kızılcın ve ark., 2003).

2006 yılında ratlarda yapılan bir hayvan çalışmasında bir antineoplastik ajan olan bleomisin kullanımına bağılı serbest radikal üretiminde, GB'nin, ksantin oksidaz aktivitesindeki artışı önleyerek, oksidatif hasara karşı güçlü bir antioksidan olduğı gösterilmiştir (Erdoğan ve ark., 2006).

Liu ve ark. (2007), yaptığı bir hayvan çalışmasında ratlarda 60 dk boyunca superior mesenterik arterin klemblenmesi ile oluşturulan intestinal iskemi/reperfüzyon hasarı modelinde, GB'nin, akciğer hasarı üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışma sonunda

GB'nin ortalama arter basıncını düzenlediği ve akciğer hasarını iyileştirdiği yapılan indekslerle ve histolojik değişikliklerle kanıtlanmıştır.

Saleem ve ark. (2008), yaptığı başka bir çalışmada ratlarda MCAO filament modeli oluşturulmuştur. Bir hafta süresince GB uygulanan grupta, reperfüzyon grubuna göre daha az nörolojik disfonksiyon ve daha az serebral infarkt volümü saptanmış ve GB'nin nöroprotektif etkisi olduğu belirtilmiştir.

40 rat üzerinde yapılan bir hayvan çalışmasında ratlarda 90 dk. süresince hepatik iskemi modeli oluşturulmuştur. Sonrasında reperfüzyona maruz bırakılan ve GB uygulanan ratlarda serum alaninaminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrojenaz (LDH) ve doku thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) seviyelerinin düştüğü gözlenmiş ve bu nedenle GB'nin post iskemik-reperfüzyon hasarının önlenmesinde etkin olduğu sonucuna varılmıştır (Keleş ve ark., 2008).

21 ratın kullanıldığı bir hayvan çalışmasında %100 karbondioksit (CO₂)'e maruz bırakılarak intestinal iskemi oluşturulan ratlarda profilaktik GB uygulanmasının koruyucu etkisi olduğu, histopatolojik hasarı anlamlı derecede azalttığı sonucuna varılmıştır (Özdemir ve ark., 2011).

2011 yılında ratlarda yapılan bir çalışmada 1 gün boyunca iskemiye maruz kalan rat kalp hücrelerinde GB'nin reoksijenasyon sonrası mitokondri bağımlı kaspaz yolunu engelleyerek, kalp kası hücrelerinde apoptozu önleyerek, apoptik hücrelerin ölümünü kolaylaştırarak, kardiyoprotektif etki gösterdiği belirtilmiştir (Shen ve ark., 2011).

2012 yılında yapılan in vitro bir çalışmada GB'nin, Human Immunodeficiency Virus (HIV) proteaz aktivitesini inhibe ettiği ve HIV enfeksiyonuna karşı etkili olduğu bulunmuş ve bu hastalığın tedavisi için umut verici bir bitki olduğu belirtilmiştir (Lu ve ark., 2012).

Çin'de yapılan bir hayvan çalışmasında diabetik ratlara 30 gün boyunca günlük 100, 200 ve 300 mg/kg olmak üzere oral yoldan GB uygulanmış ve çalışma sonunda GB'nin, antioksidan, antihiperlipidemik, antiglisemik etkilerinin olduğu görülmüş ve GB'nin diabet hastaları için yardımcı tedavi amaçlı kullanılabileceği belirtilmiştir (Cheng ve ark., 2013).

Osteoartritli hastalarda, GB'nin antiinflamatuvar etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, GB'nin kondrosit dejenerasyonuna karşı koruyucu bir etkisinin olduğu bulunmuş ve osteoartritin tedavisinde kullanılabilir potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir (Ho ve ark., 2013).

2014 yılında GB'nin antimikrobiyal etkisini inceleyen bir çalışmada GB'nin *Staphylococcus aureus* bakterilerinin biyofilm oluşumunu inhibe ettiği gözlenmiştir (Lee ve ark., 2014).



3. MATERYAL VE METOT

Mevcut çalışmamız, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi tarafından 1904-B kodlu doktora tez projeleri destekleme programı kapsamında değerlendirilmiş ve PYO.DIS.1904.14.001 numarası ile desteklenme kararı alınmıştır.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 28/08/2013 tarihli, 2013/38 sayılı izniyle, çalışmamızın cerrahi, postoperatif ve sakrifikasyon prosedürleri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir.

3.1. Deney Protokolü

Bu çalışmada 48 adet, 3 aylık, 250-300 gram ağırlığında, Wistar-Albino türü, erkek ratlar kullanılmıştır. Ratlar her grupta 6 adet deney hayvanı olacak şekilde rastgele 8 gruba ayrılmıştır.

Cerrahi olarak siyatik sinire ulaşıldıktan ve etraf dokulardan serbestlendikten sonra uygulanacak madde, lokal uygulama yapılacak gruplara açık yara yüzeyine intraoperatif tek doz, sistemik uygulama yapılacak gruplara ise yara yeri kapatıldıktan sonra 21 gün boyunca oral yoldan gavaj ile uygulanmıştır (Şekil 10).



(a)



(b)

Şekil 10. a: Ratlara lokal madde uygulanması b: Ratlara sistemik madde uygulanması

Deney protokolüne göre gruplar şöyle dizayn edilmiştir:

-Grup 1, kontrol grubu 1 (sayı=6): Bu grupta siyatik sinir açığa çıkarılmış ve sinir hasarı oluşturulmamıştır, açığa çıkarılmış sinir üzerine lokal 1 ml serum fizyolojik uygulanıp ilgili bölge kapatılmıştır.

-Grup 2, kontrol grubu 2 (sayı=6): Bu grupta siyatik sinir açığa çıkarılmış ve sinir hasarı oluşturulmamıştır, ilgili bölge kapatıldıktan sonra ratlara 21 gün boyunca oral yoldan gavaj uygulaması ile 1 ml/gün serum fizyolojik verilmiştir.

-Grup 3, sham grubu 1 (sayı=6): Bu grupta siyatik sinir açığa çıkarılmış, 3 sn (saniye) boyunca 50 N'luk ezilme tarzı hasar oluşturulmuştur ve sonrasında hasarlı sinir üzerine lokal olarak 1 ml serum fizyolojik uygulanıp ilgili bölge kapatılmıştır.

-Grup 4 sham grubu 2 (sayı=6): Bu grupta siyatik sinir açığa çıkarılmış, 3 sn boyunca 50 N'luk ezilme tarzı hasar oluşturulmuştur ve sonrasında ilgili bölge kapatılmış, ratlara 21 gün boyunca oral yoldan gavaj uygulaması ile 1 ml/gün serum fizyolojik verilmiştir.

-Grup 5, deney grubu 1 (sayı=6): Bu grupta siyatik sinir açığa çıkarılmış, 3 sn boyunca 50 N'luk ezilme tarzı hasar oluşturulmuştur ve sonrasında hasarlı sinir üzerine lokal olarak (intraoperatif tek doz) 400 mg/kg NS ekstraktı uygulanıp ilgili bölge kapatılmıştır.

-Grup 6, deney grubu 2 (sayı=6): Bu grupta siyatik sinir açığa çıkarılmış, 3 sn boyunca 50 N'luk ezilme tarzı hasar oluşturulmuştur ve sonrasında ilgili bölge kapatılmış ve ratlara 21 gün boyunca oral yoldan gavaj uygulaması ile her gün 400 mg/kg NS ekstraktı verilmiştir.

-Grup 7, deney grubu 3 (sayı=6): Bu grupta siyatik sinir açığa çıkarılmış, 3 sn boyunca 50 N'luk ezilme tarzı hasar oluşturulmuştur ve sonrasında hasarlı sinir üzerine lokal olarak (intraoperatif tek doz) 100 mg/kg GB ekstraktı uygulanıp ilgili bölge kapatılmıştır.

-Grup 8, deney grubu 4 (sayı=6):): Bu grupta siyatik sinir açığa çıkarılmış, 3 sn boyunca 50 N'luk ezilme tarzı hasar oluşturulmuştur ve sonrasında ilgili bölge kapatılmış ve ratlara 21 gün boyunca oral yoldan gavaj uygulaması ile her gün 100 mg/kg GB ekstraktı verilmiştir.

Deney hayvanları, cerrahi müdahaleden sonraki 90. günde, sinir rejenerasyonunun, elektrofizyolojik açıdan değerlendirilebilmesi için önce yürüme

testine sonra da elektromiyografi (EMG) cihazı ile elektrofizyolojik testlere tabi tutulmuştur. Deney hayvanları, bu işlemin ardından aynı gün sakrifiye edilmiştir. Hasar oluşturulan sinirden örnekler alınıp, kesitler hazırlanmıştır. Kesitlerde stereolojik inceleme yapılmış, elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

3.2. *Nigella Sativa* ve *Ginkgo Biloba* Ekstralarının Elde Edilmesi

Lokal GB uygulamaları için estetik cerrahi ve dermatolojide lokal uygulamalar için üretilmiş GB ekstresi (*Ginkgo Biloba*; İnstitute BCN, Barcelona, İspanya) kullanılmıştır (Şekil 11a).

Sistemik GB uygulamaları için ise nörolojik rahatsızlıkların tedavisinde ilaç olarak verilen ve bir GB ekstresi olan *tebokan fort* damla (*Tebokan Fort*; Abdi İbrahim, İstanbul, Türkiye) kullanılmıştır (Şekil 11b).



(a)



(b)

Şekil 11. a: *Ginkgo biloba*'nın lokal kullanılan ekstresi **b:** *Ginkgo biloba*'nın sistemik kullanılan ekstresi

Lokal ve sistemik NS uygulamaları için NS tohumlarının, daha önce yapılmış bilimsel çalışmalarda da kullanılan çeşitli kimyasal yöntemlerden sonra ekstresi elde edilmiştir (Demir ark., 2006).

Bu peosedüre göre ekstraksiyon işleminin ilk aşamasında Samsun bölgesinde yerel bir aktardan alınan NS tohumları, bir mikser yardımıyla toz haline getirildi. Daha sonra her 20 mg toz NS'ya 400 ml distile su eklenerek karışımlar elde edildi (Şekil 12).



(a)



(b)

Şekil 12. a: Toz haline getirilmiş 20 mg *Nigella sativa* **b:** *Nigella sativa*' ya 400 ml distile su eklenmesi

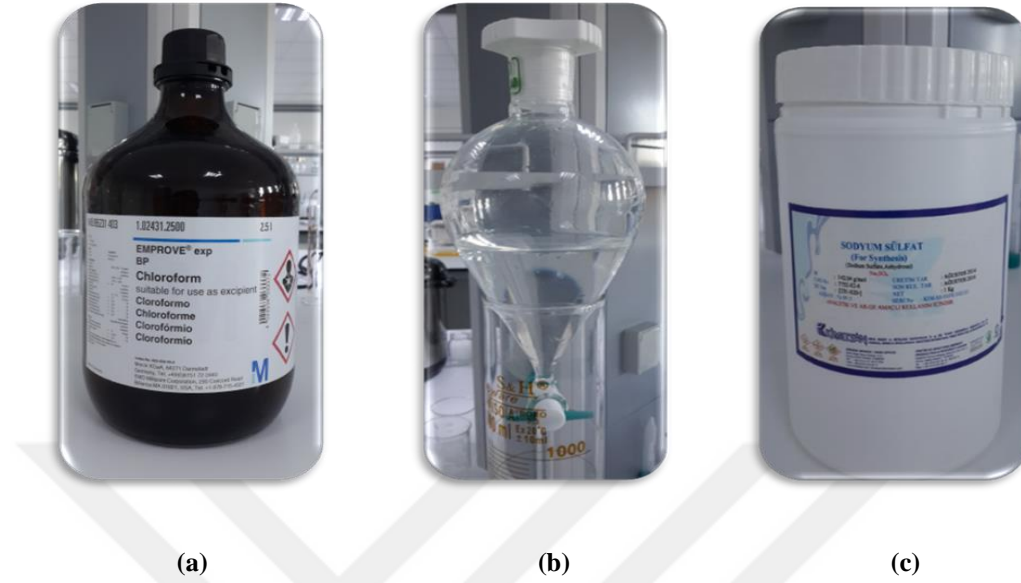
Her karışım evaporatörlerde 200 ml'lik sıvı birikene kadar damıtma işlemine tabi tutuldu (Şekil 13).



Şekil 13. Evaporatörlerde damıtma işleminin gerçekleştirilmesi

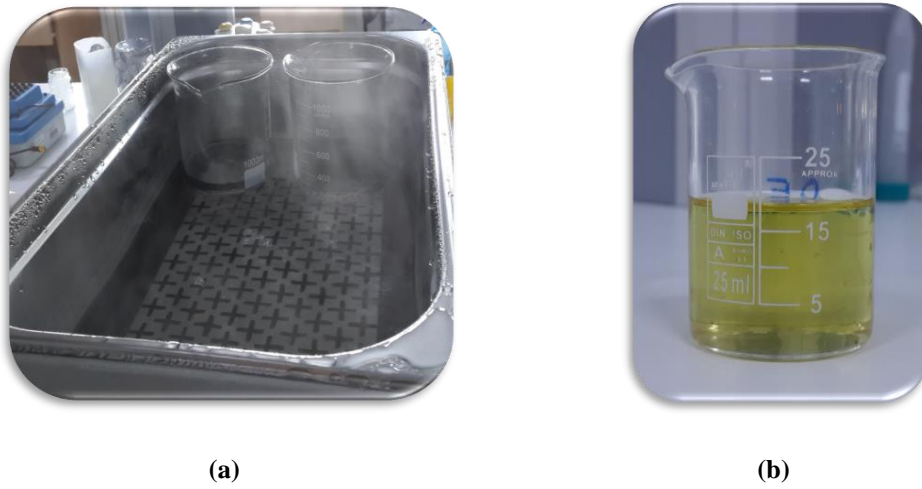
Elde edilen karışımlara üç kez kloroform uygulandı. Kloroform içinde çözünen uçucu yağ çözeltisi ayırma hunisi ile büyük oranda distile sudan ayrıldı, çözelti içinde

kalan az miktar distile su da anhidroz sodyum sülfat tuzu yardımıyla uzaklaştırıldı (Şekil 14).



Şekil 14. a: Kullanılan kloroform **b:** Ayırma hunisi ile distile su ve kloroformlu çözeltinin ayrıştırılması
c: Kullanılan anhidroz sodyum sülfat tuzu

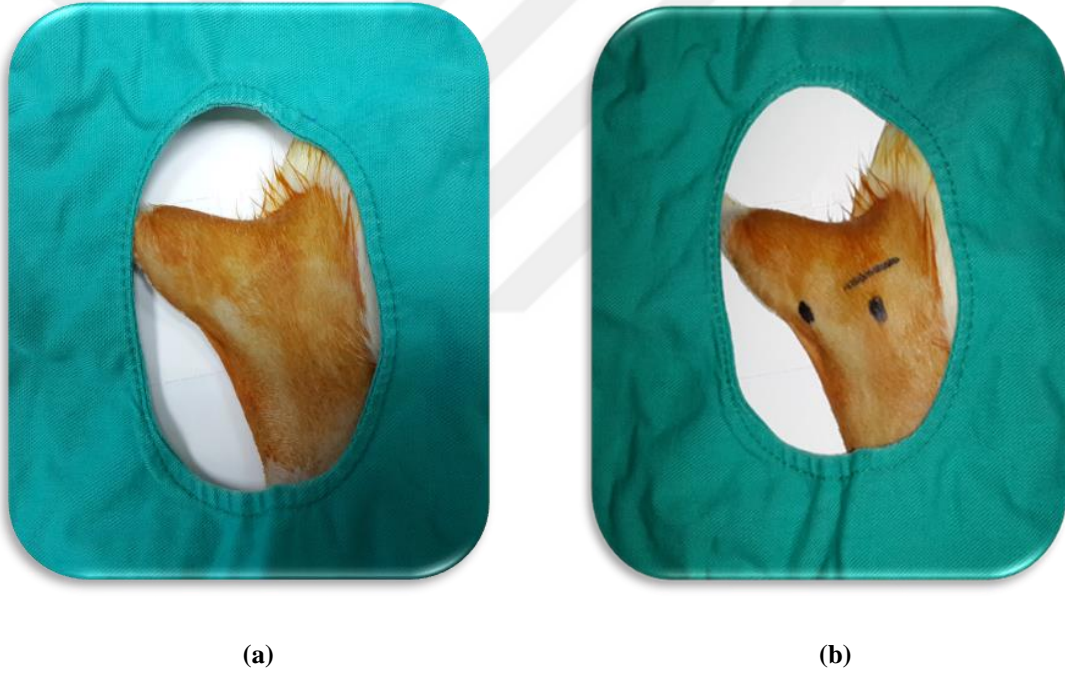
Elde edilen çözelti önce filtre kağıdında süzüldü sonrasında da su banyosuna tabi tutuldu. Geriye sadece NS'nin ekstresi yani uçucu yağ kaldı ve ekstraksiyon işlemi tamamlanmış oldu. Son olarak 500 mg uçucu yağa 1 ml dimetil sülfoksit ve 9 ml salin solüsyonu eklenerek her 1 ml de 50 mg NS ekstraktı olan yeni bir çözelti elde edildi (Şekil 15). Ratlara NS ekstraktı olarak bu çözelti verildi.



Şekil 15. a: Su banyosu işlemi **b:** Elde edilmiş *Nigella sativa* ekstresi

3.3. Cerrahi Prosedür

Cerrahi işlemlerden önce deney hayvanlarına 50 mg/kg intramüsküler ketamin (Ketalar; Pfizer, İstanbul, Türkiye) ve 8 mg/kg xylazin (Rompun; Bayer, İstanbul, Türkiye) kullanılarak genel anestezi uygulanmıştır. Genel anestezi sağlandıktan sonra ratların gluteal ve uyluk bölgeleri traş edilmiş ve denekler prone pozisyonunda tespit tahtasına yerleştirilmiştir. Traş edilen bölgeye, cerrahi alanın antisepsisini sağlamak amacıyla povidon-iyodin solüsyonu (Poviodex®, Kimpa, Türkiye) uygulanmıştır. Operasyon yapılacak alanın çevresine 0,5 ml 1:200,000 epinefrin içeren artikain solüsyonuyla (Ultracain-DS; Hoechst Marion Roussel, İstanbul, Türkiye) lokal anestezi yapılmış, steril cerrahi örtülerle operasyon alanının izolasyonu sağlanmış ve insizyon hattı belirlenmiştir (Şekil 16).



Şekil 16. a: Operasyon bölgesinin hazırlanması b: insizyon hattının belirlenmesi

Sağ alt ekstremitede kalça eklemi katlantısını izleyecek şekilde oblik gluteal insizyon yapılmış cilt kenarları ekarte edilerek biceps femoris kasına ulaşılmıştır. Biceps femoris kası künt diseksiyonlarla aşularak siyatik sinir açığa çıkarılmış, sinir mikrocerrahi penset ve mikrocerrahi makas yardımı ile siyatik çentikten sinir dallanma bölgesine kadar dikkatli bir şekilde etraf dokulardan serbestleştirilmiştir (Şekil 17).



(a)



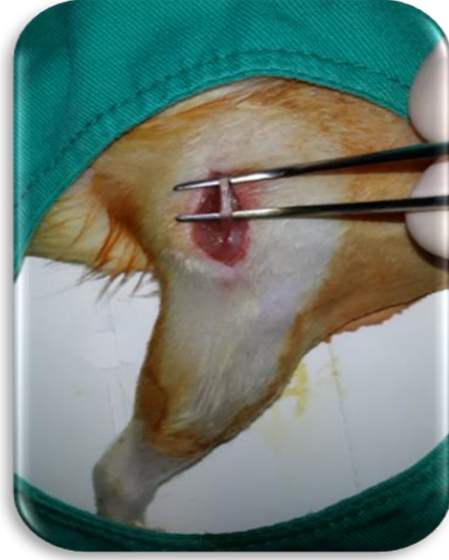
(b)

Şekil 17. a: Siyatik sinirin açığa çıkarılması **b:** Sinirin çevre dokulardan ayrılarak serbestleştirilmesi

Cerrahi klemple, açığa çıkarılan sinir, 3 saniye süresince kısıtılarak ezilme tarzında sinir hasarı oluşturulmuştur (Şekil 18). Siyatik sinirde ezilme tarzı sinir hasarı oluşturmak için, özel tasarlanmış ve 50 N sabit basınç uygulayan bir cerrahi klemp kullanılmıştır (Şekil 19). Böylece siyatik sinir hasarı standardize edilmiştir.



(a)



(b)

Şekil 18. a: Siyatik sinir hasarının oluşturulması **b:** Hasar oluşturulmuş siyatik sinirin gösterilmesi



Şekil 19. Çalışmada sinir hasarı uygulanmasında kullanılan özel tasarlanmış klemp

Cerrahi işlemler tamamlandıktan sonra 4/0 glikolid esaslı emilebilen suturelarla (Vicryl, Ethicon, Brüksel, Belçika) kas dokusu, ardından 4/0 ipek suturelarla (Doğsan, Türkiye) cilt dokusu, basit suture tekniği ile suture edilmiş ve cerrahi alan kapatılmıştır.

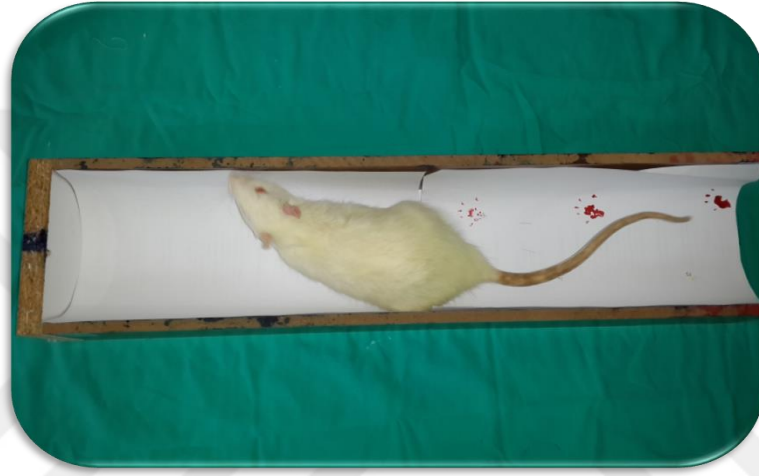
Ratlara, postoperatif 3 gün boyunca her gün, veteriner hekimler tarafından enfeksiyon kontrolü amacıyla, günde bir kez i.m 50 mg/kg Sefazolin ve analjezi sağlamak amacıyla günde bir kez 5 mg/kg Tramadol HCl (Contramal®, Abdi İbrahim, Türkiye) uygulanmıştır. Postoperatif 5 gün boyunca her gün 1 kez yara bölgesine lokal enfeksiyonu engellemek amacıyla topikal antibiyotik olan Neo Caf Sprey (İntervet, MSD, İtalya) uygulaması yapılmıştır. Deney hayvanlarının, 3 ay boyunca sağlık durumları, beslenmeleri ve ağırlıkları düzenli olarak kontrol edilmiştir.

3.4. Histolojik ve Elektrofizyolojik İnceleme

3.4.1. Elektrofizyolojik Analizler

Operasyonu takip eden 90. günde tüm gruplara ait ratlara yürüme analizi uygulanarak, ratların siyatik fonksiyonel indekslerine bakılmıştır (Şekil 20). Bu işlemi takiben ratların EMG testleri yapılmıştır. İntraperitoneal anestezi altında siyatik sinirler, siyatik çentikten popliteal fossaya kadar diseke edilmiş ve çevre bağ dokudan izole edilmiştir. Uyarı veren kanca elektrot siyatik çentikten yaklaşık 10 mm distale yerleştirilmiştir. Toprak elektrotlar ise uyarı elektrotuna 2,5 cm mesafede

gastrokinemus kası yüzeyine aralarında bir cm mesafe olacak biçimde yerleştirilmiştir. Testler için PowerLab 4SP (AD Instruments, Sydney, Australia) cihazı ve Scope (ver. 3.7.2, AD Instruments) programı kullanılmıştır. 0,01 mV ile 10 mV arasında uyarı voltajı uygulanarak gastroknemius kası birleşik kas aksiyon potansiyelleri ölçülmüştür. Aksiyon potansiyeli eğrilerinde uyarıdan defleksiyonun başladığı zamana kadar geçen süre (latans) ile oluşan potansiyelin tepe-tepe amplitütü (p-p amplitüt) ölçülmüştür. Her bir rat için üçer adet aksiyon potansiyeli eğrisi çizdirilerek ortalaması alınmış ve gruplara ait değerler istatistiksel olarak birbirleri ile karşılaştırılmıştır (Şekil 21).



Şekil 20. Yürüme analizinin uygulanması



(a)



(b)

Şekil 21. a: EMG cihazı b: EMG cihazı ile elektrofizyolojik testlerin yapılması

3.4.2. Elektron Mikroskopik Takip İşlemi ve Stereolojik Analiz

Elektrofizyolojik ölçümleri takiben ratların sakrifikasyonu yapılmıştır. Ratlardan siyatik sinir dokuları %5'lik gluteraldehit (sigma-aldrich, ABD) damlatılarak eksize edilmiştir. Daha sonra %5'lik gluteraldehit solüsyonu içerisinde 1 saat boyunca bekletilmiştir. Süre sonunda 4x15 dakika Milloning tamponuyla yıkanmıştır. Tamponla yıkamanın ardından %1'lik osmium tetraoksit içerisinde 1,5 saat karanlık ortamda bekletilmiştir. 4 kez onbeşer dakika boyunca Milloning tamponuyla tekrar yıkanarak dehidratasyon işlemine geçilmiştir. Onbeşer dakika boyunca aseton (sigma-aldrich, ABD) serilerinden (%50, %75, %95, %100) geçirilmiştir. Daha sonra propilen oksitte (Merck, Germany) yirmişer dakika olmak üzere 2 kez bekletilmiştir. Bu işlemi takiben %50 propilen oksit %50 araldit karışımında 1 saat bekletilmiştir. Sonrasında %100 araldit karışımında 1 saat boyunca dokunun infiltre olması sağlanmıştır. Bu süre sonunda dokular silicon gömme kalıbına konulmuş ve 45 °C'deki etüve yerleştirilmiştir. Her 30 dakikada bir 5 °C'lik ısı artışı yapılarak 62 °C'ye ulaşılmıştır. Bu noktada 48 saatlik bir bekleme süresine tabi tutulmuş ve bloklardan cam bıçakla ultramikrotom (Leica Ultracut UCT, Leica Microsystems GmbH, Almanya) yardımı ile 500 nm (nanometre) kalınlığında kesitler alınmıştır. Lam üzerine alınan kesitler %1'lik toluidin mavisi ile boyanmıştır.

Işık mikroskopunda miyelinli akson sayısı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümleri stereolojik metotlardan parçalama ve nukleator metotları kullanılarak yapılmıştır (Stereoinvestigator 9.0., MicroBrieldField; Colchester; USA). Miyelinli akson sayımı için parçalama metodu kullanılırken akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümleri için nukleatör metodu kullanılmıştır. Analizler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Pilot sayım sonrasında, x63 lük büyütmede tarafsız sayım çerçevesi kullanılarak ilgili analizler yapılmıştır. Bunun için 60 µm (mikrometre) x 60 µm adım aralığı ve 25 µm x 25 µm tarafsız sayım çerçevesi ölçüleri kullanılmıştır ve 63'lük büyütmede pilot çalışmaya göre belirlenmiş parametrelere göre alan örnekleme yapılarak her bir örneklenmiş alanda tarafsız sayım çerçevesiyle miyelinli aksonlar sayılmıştır. Tüm gruplara ait uygun denek sayısı ve her denek için uygun kesit sayısının hesaplanmasında hata katsayısının (HK) 0.05'den, değişim katsayısının ise % 20'den küçük olması baz alınmıştır.

3.5. İstatiksel Analiz

Elektro fizyolojik ve stereolojik çalışmalardan elde edilen verilerin istatistiksel analizi Mac için SPSS 22.0 (IBM Corporation) istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır. Grupların karşılaştırılmasında One Way ANOVA, post-hoc test olarak (Tukey test) kullanılmış ve 0.05 anlamlılık derecesi (p) baz alınmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Stereolojik Bulgular

Stereoloji çalışmasında bütün gruplar akson alanı, miyelinli akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığı açısından değerlendirilmiştir. ANOVA (analysis of variance) testi sonucuna göre akson alanı, miyelinli akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığı açısından gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Aşağıdaki tabloda bütün grupların akson alanı, miyelinli akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığı bakımından ortalama değerleri ve standart sapmaları gösterilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Gruplarının stereolojik inceleme sonuçları (Ortalama \pm SS)

GRUPLAR	Akson Alanı (μm^2)	Miyelinli Akson Sayısı	Miyelin Kılıf Kalınlığı (μm)
Lokal NS	43.94 \pm 6.29	4086.14 \pm 938.79	1.85 \pm 0.26
Sistemik NS	31.88 \pm 7.76	2648.44 \pm 879.12	1.42 \pm 0.25
Lokal GB	41.76 \pm 9.16	3932.92 \pm 777.79	1.66 \pm 0.33
Sistemik GB	32.90 \pm 7.48	2435.32 \pm 689.66	1.41 \pm 0.27
Lokal Sham	27.09 \pm 8.21	1572.48 \pm 807.59	1.23 \pm 0.11
Sistemik Sham	28.28 \pm 7.82	1523.52 \pm 583.80	1.28 \pm 0.24
Lokal Kontrol	28.25 \pm 7.46	1766.01 \pm 677.87	1.28 \pm 0.23
Sistemik Kontrol	33.24 \pm 8.48	1879.20 \pm 354.45	1.50 \pm 0.33

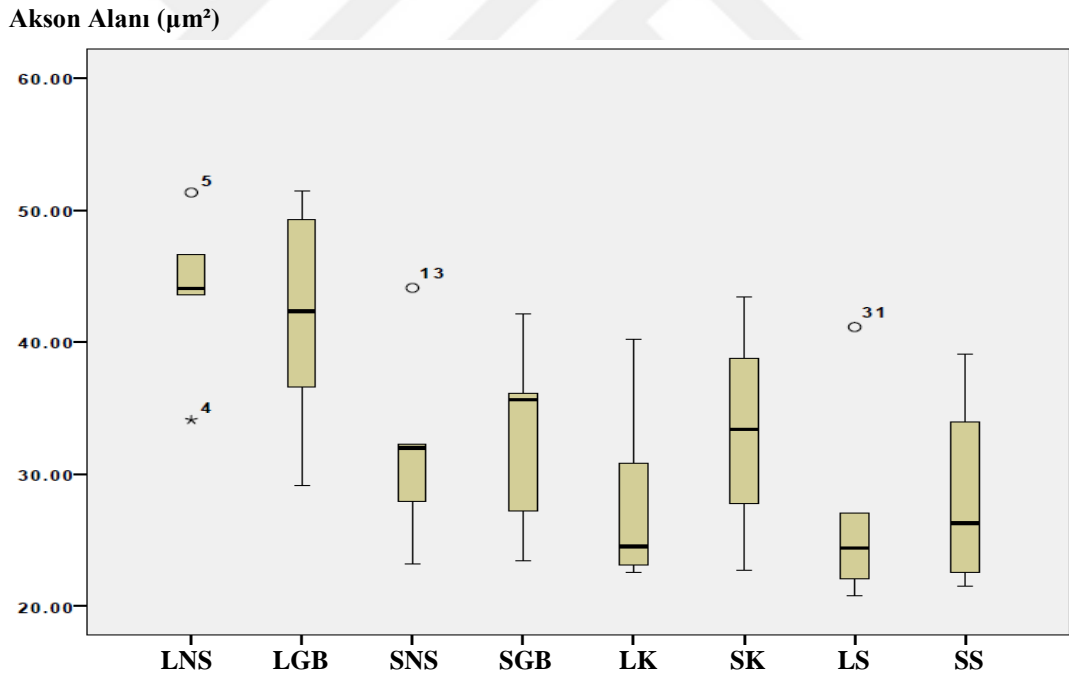
Stereoloji sonuçlarına göre akson alanı bakımından en yüksek değerler lokal NS grubunda gözlenmiştir. Yalnızca lokal NS grubu ile lokal sham grubu arasında akson alanı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. En düşük değerler ise hasar oluşturulup her hangi bir ilaç uygulaması yapılmayan sham gruplarında gözlenmektedir.

Miyelinli akson sayısı açısından en yüksek değerler lokal NS grubunda gözlenmiştir. Lokal NS grubu ile lokal sham grubu arasında miyelinli akson sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. Miyelinli akson sayısı açısından ikinci en yüksek değerler lokal GB grubunda gözlenmiştir. Lokal GB grubu ile lokal sham grubu arasında da miyelinli akson sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir

fark vardır. Miyelinli akson sayısı açısından en düşük değerler ise sham gruplarında gözlenmiştir.

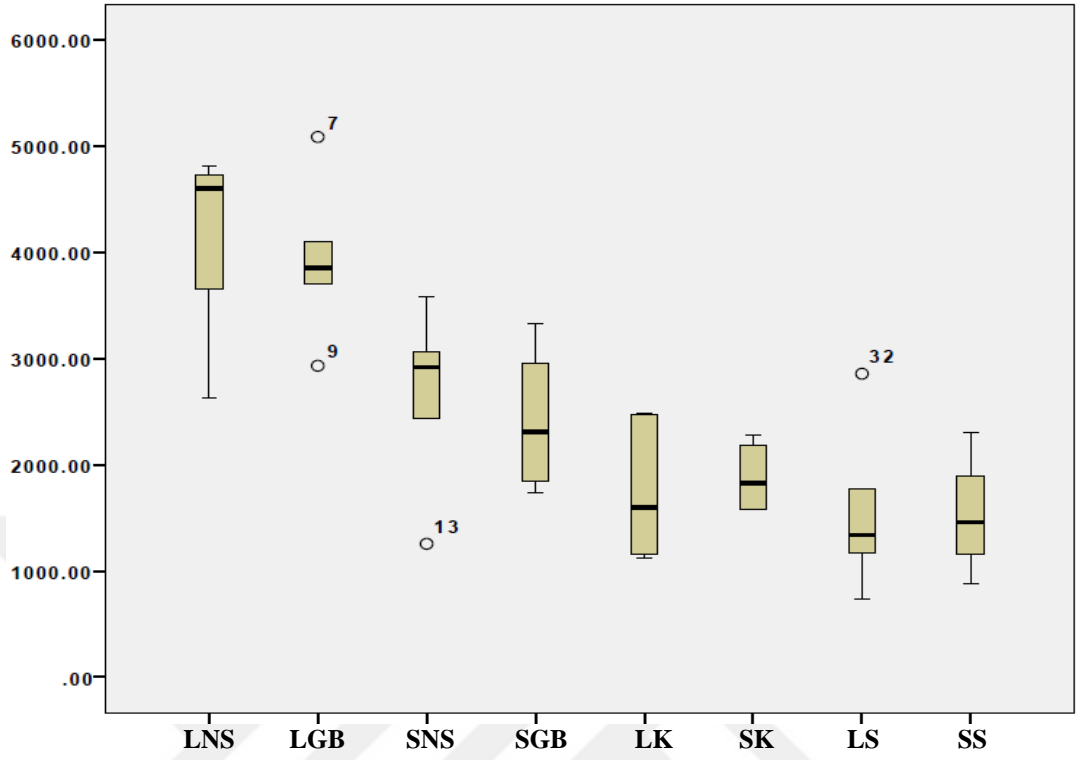
Miyelin kılıf kalınlığı açısından en yüksek değerler lokal NS grubunda en düşük değerler lokal sham grubunda gözlenmiştir. Lokal NS grubu ile lokal sham grubu arasında miyelin kılıf kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır.

Aşağıdaki grafiklerle grupların ortalama değerleri, dağılımları ve standart sapmaları gösterilmiştir. Gruplar içerisinde ortalamadan aşırı sapan veriler daire ve yıldız şekliyle sembolize edilmiştir. Akson alanını gösteren grafikte lokal NS grubunda 2 veri, sistemik NS grubunda 1 veri ve lokal sham grubunda 1 veri ortalamadan aşırı sapma göstermiştir. Miyelinli akson sayısını gösteren grafikte lokal GB grubunda 2 veri, sistemik NS grubunda 1 veri ve lokal sham grubunda bir veri ortalamadan aşırı sapma göstermiştir. Miyelin kılıf kalınlığını gösteren grafikte, lokal NS grubunda 2 veri, sistemik NS grubunda 2 veri, lokal kontrol ve lokal sham gruplarında ise birer veri ortalamadan aşırı sapma göstermiştir (Şekil 22-24).



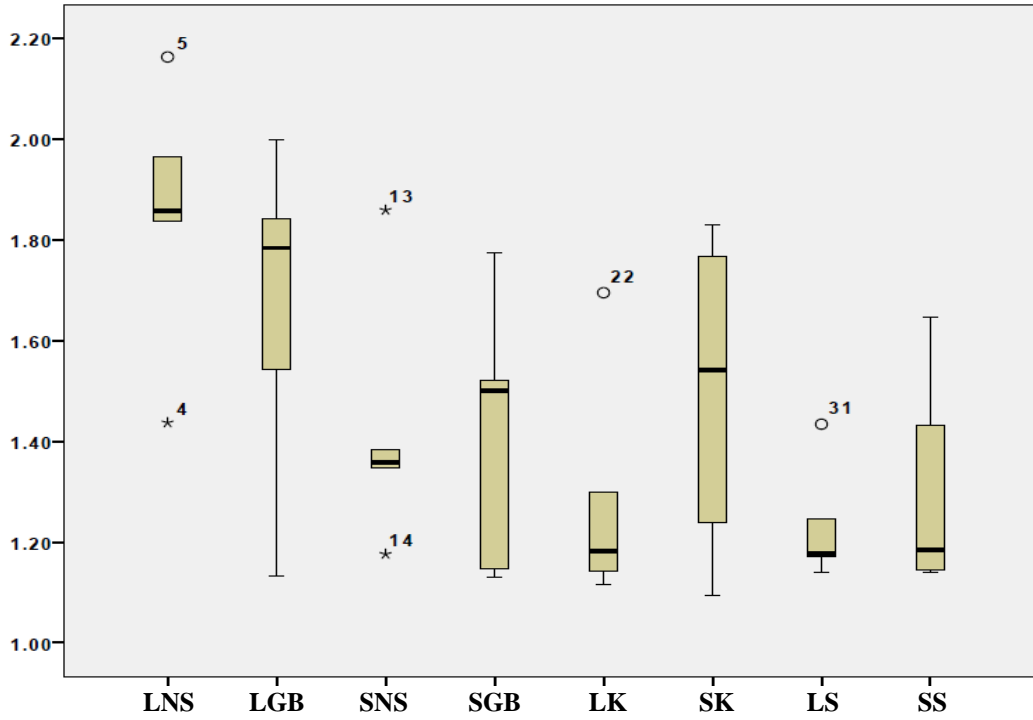
Şekil 22. Rejenerasyon sonrası akson alanı açısından grupların karşılaştırılması (**LNS**: Lokal Nigella Sativa grubu, **LGB**: Lokal Ginkgo Biloba grubu, **SNS**: Sistemik Nigella Sativa grubu, **SGB**: Sistemik Ginkgo Biloba grubu, **LK**: Lokal Kontrol grubu, **SK**: Sistemik Kontrol grubu, **LS**: Lokal Sham grubu, **SS**: Sistemik Sham grubu)

Miyelinli Akson Sayısı



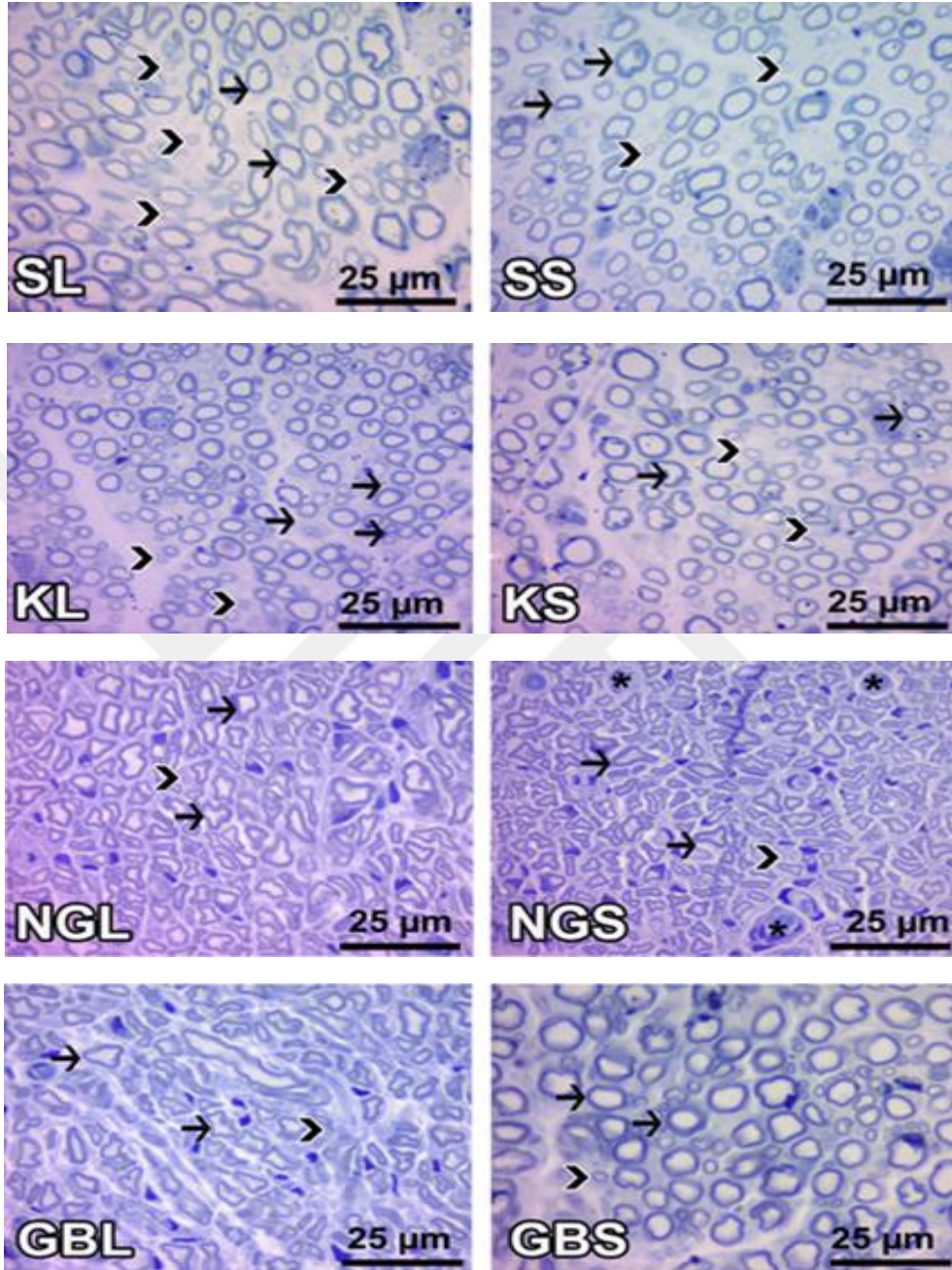
Şekil 23. Rejenerasyon sonrası miyelinli akson sayısı açısından grupların karşılaştırılması

Miyelin Kılıf Kalınlığı (μm)



Şekil 24. Rejenerasyon sonrası miyelin kılıf kalınlığı açısından grupların karşılaştırılması

Rejenerasyon neticesinde oluşan miyelinli ve miyelinsiz sinirler histolojik kesitlerde izlenmektedir (Şekil 25).



Şekil 25. Tüm gruplara ait ışık mikroskopik görüntüler izlenmektedir. **KL:** Kontrol lokal grubu, **KS:** kontrol sistemik grubu, **SL:** Sham lokal grubu, **SS:** Sham sistemik grubu, **NGL:** Nigella Sativa lokal grubu, **NGS:** Nigella Sativa sistemik grubu, **GBL:** Gingko Biloba lokal grubu, **GBS:** Gingko Biloba sistemik grubu. Siyah ok, miyelinli sinirleri; siyah ok başı, miyelinsiz sinirleri göstermektedir.*: kan damarları. (Boya: Toluidin mavisi, barlar: 100µm)

4.2. Elektrofizyolojik Bulgular

Elektrofizyolojik çalışmada EMG cihazı ile bütün gruplarda amplitüt ve latans değerlerine bakılmıştır. ANOVA testi sonucuna göre amplitüt ve latans değerleri açısından gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Aşağıdaki tabloda bütün grupların amplitüt ve latans ortalama değerleri ve standart sapmaları gösterilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Gruplarının elektrofizyolojik inceleme sonuçları (Ortalama \pm SS)

GRUPLAR	Amplitüt (mV)	Latans (sn)
Lokal NS	55.40 \pm 9.07	1.26 \pm 0.11
Sistemik NS	40.00 \pm 6.89	1.88 \pm 0.08
Lokal GB	47.20 \pm 7.66	1.38 \pm 0.24
Sistemik GB	39.40 \pm 7.66	1.76 \pm 0.13
Lokal Sham	36.40 \pm 4.50	1.83 \pm 0.09
Sistemik Sham	32.80 \pm 2.94	1.76 \pm 0.09
Lokal Kontrol	56.00 \pm 6.20	1.47 \pm 0.06
Sistemik Kontrol	36.80 \pm 3.89	1.87 \pm 0.10

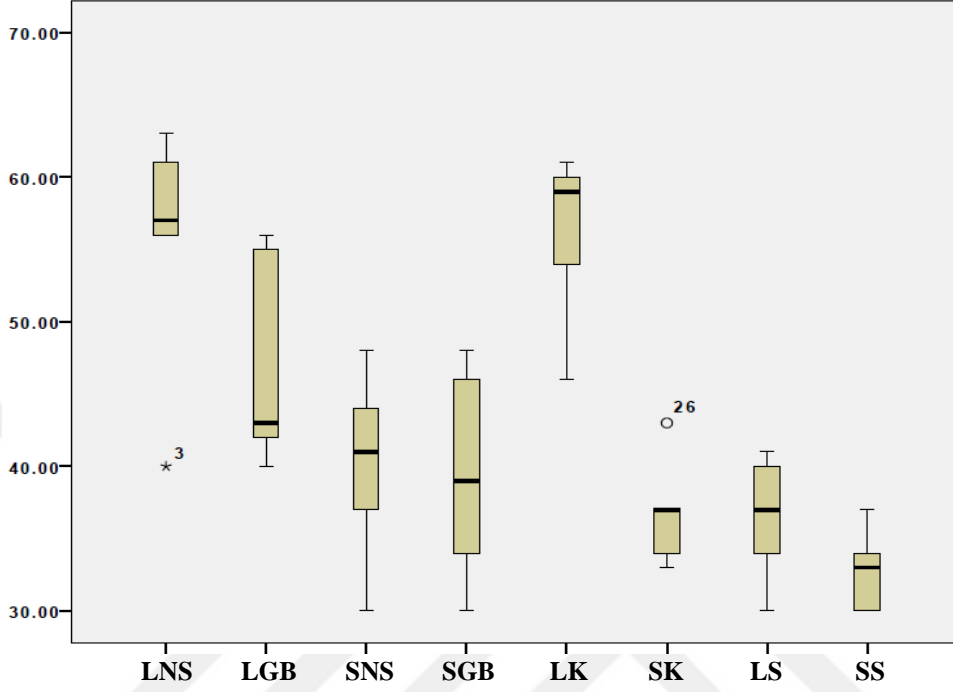
Elektrofizyolojik çalışmanın sonuçlarına göre deney grupları arasında amplitüt değerleri bakımından en yüksek değerler lokal NS grubunda, ikinci en yüksek değerler ise lokal GB grubunda gözlenmiştir. Lokal NS grubu ile lokal sham grubu ve sistemik NS grubu arasında amplitüt değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardır. Lokal GB grubu ile sistemik sham grubu arasında amplitüt değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

Latans değerleri açısından ise en düşük değerler sırasıyla lokal NS ve lokal GB grubunda gözlenmiştir. Lokal NS grubu ve lokal GB grublarının sham grupları ile arasında latans değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. Lokal NS grubu ve sistemik NS grubu ve lokal GB grubu ve sistemik GB grubu arasında latans değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir.

Grafiklerle grupların ortalama değerleri, dağılımları ve standart sapmaları gösterilmiştir. Amplitütü gösteren grafikte lokal NS grubunda ve sistemik kontrol grubunda birer veri ortalamadan aşırı sapma göstermiştir (Şekil 26). Latans değerlerini

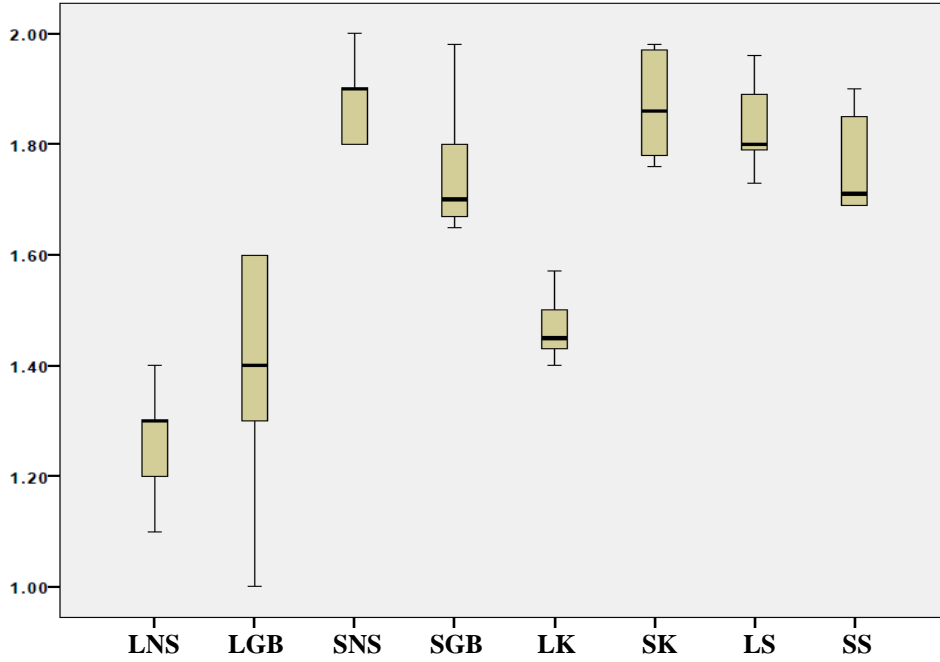
gösteren grafikte ortalamadan aşırı sapan bir veri bulunmamaktadır (Şekil 27).
Sonuçları bakımından stereoloji sonuçları ve EMG sonuçları birbirini desteklemektedir.

Amplitüt (mV)



Şekil 26. Amplitüt değerleri açısından grupların karşılaştırılması

Latans (sn)



Şekil 27. Latans değerleri açısından grupların karşılaştırılması

4.3. Yürüme Analizi (SFI) Bulguları

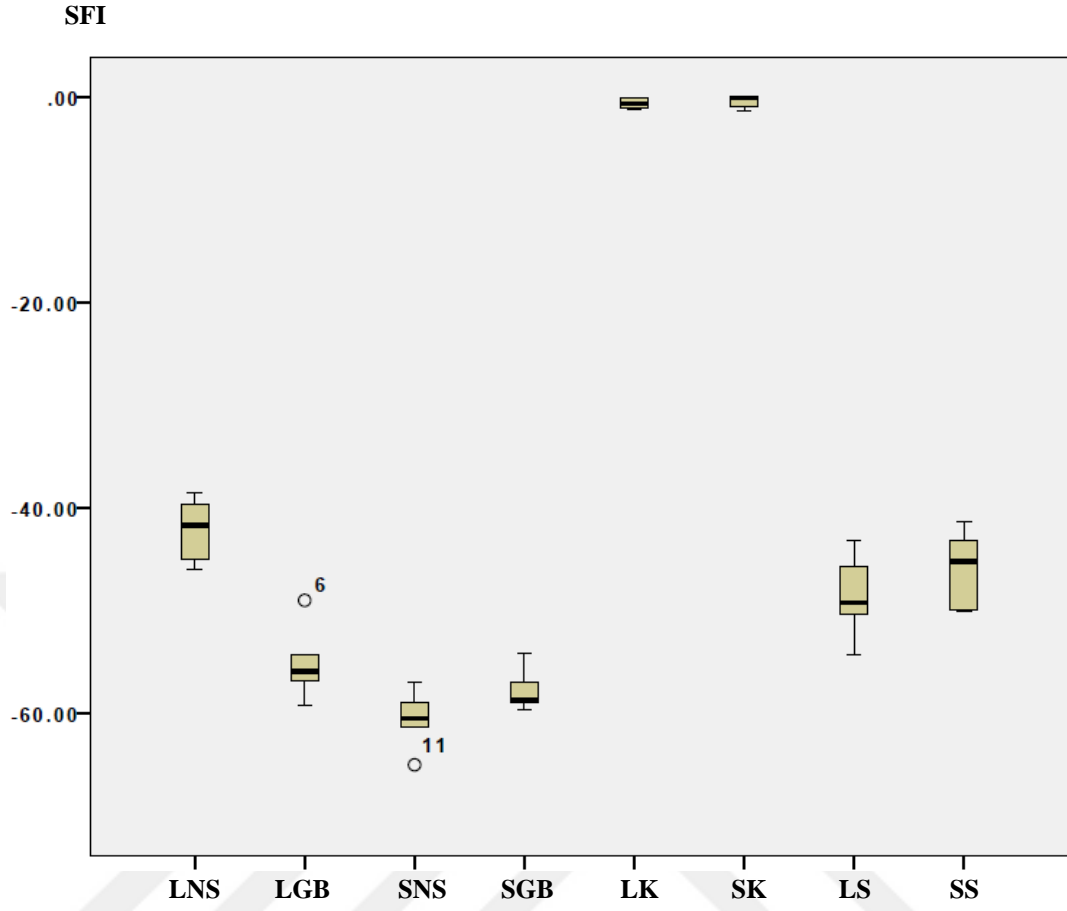
Yürüme analizleri ile aynı deney hayvanında hasarlı sinirin inerve ettiği ayak ile hasarsız sinirin inerve ettiği ayak fonksiyon açısından karşılaştırılarak fonksiyonel iyileşme değerlendirilmiştir.

Siyatik fonksiyonel indeks (SFI) açısından ANOVA testine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. Bu verilere göre deney grupları arasında en iyi fonksiyonel iyileşme Lokal NS grubunda gerçekleşmiştir. Lokal NS grubunun SFI açısından lokal GB, lokal sham ve sistemik NS grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. Lokal GB grubunun lokal sham grubu ile arasında SFI değerleri açısından istatistiksel fark gözlenmiştir. Sistemik NS ve sistemik GB grubu ile sistemik sham arasında SFI değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir.

Aşağıdaki tablo ve grafikte grupların ortalama değerleri, dağılımları ve standart sapmaları gösterilmiştir (Tablo 4). SFI grafiğinde lokal GB grubunda ve sistemik NS grubunda birer veri ortalamadan aşırı sapma göstermiştir (Şekil 28).

Tablo 4. Grupların yürüme analizi sonuçları (Ortalama \pm SS)

GRUPLAR	SFI
Lokal NS	-42.18 \pm 3.24
Sistemik NS	-60.56 \pm 2.97
Lokal GB	-55.04 \pm 3.81
Sistemik GB	-57.68 \pm 2.25
Lokal Sham	-48.54 \pm 4.28
Sistemik Sham	-45.94 \pm 3.95
Lokal Kontrol	-0.63 \pm 0.51
Sistemik Kontrol	-0.51 \pm 0.64



Şekil 28. SFI değerleri açısından grupların karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Ağız diş ve çene cerrahisinde, yumuşak ve sert dokuda cerrahi müdahale gerektirecek birçok hastalık ve sorun tanımlanmıştır. Bu bölgede yapılacak cerrahi müdahaleler, uygulama alanı açısından aynı anda birçok anatomik yapıyı kapsadığı için çok çeşitli komplikasyonlar da içermektedir. Diş çekimi, gömülü diş operasyonları, çene kırıkları, implant uygulamaları, protetik tedavi öncesi sert ve yumuşak doku düzenlemeleri, yumuşak ve sert dokularda gerçekleşen kist ve tümör operasyonları gibi oral ve maksillofasiyal bölgede yapılan birçok cerrahi işlemde sonra kemikten ve çevre yumuşak dokulardan geçen sinirlerin kalıcı ya da geçici hasarı ağız, diş ve çene cerrahisinde en fazla karşılaşılan komplikasyonlardandır.

Sinir iyileşmesine olumlu ya da olumsuz yönde etki eden pek çok lokal ve genel faktör bulunmaktadır. Olumsuz yönde etki eden nedenler arasında serbest radikaller öne çıkmaktadır. Günümüzde, hem serbest radikallerin yara bölgesindeki olumsuz etkilerini elimine eden, hem de başka mekanizmalarla sinir dokusu üzerinde iyileştirici özelliği olduğu düşünülen, birçok antioksidan madde üzerinde çalışma yapılmaktadır (Yılmaz ve ark., 2011; Barbosa ve ark., 2015; Yüce ve ark., 2015; Riffel ve ark., 2016).

Bu tez çalışmasında sinir iyileşmesindeki etkileri değerlendirilmek amacıyla seçilen doğal ve güçlü antioksidan maddeler olan NS ve GB'nin yüksek antioksidan kapasitesinin olduğu ve yara iyileşmesi üzerinde olumlu etkiler gösterdiği daha önce yapılmış çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır (Chao ve ark., 2004; Kirui ve ark., 2004; Demiray ve ark., 2005; Kanter ve ark., 2005; Kanter ve ark., 2006b; Lin ve ark., 2007b; Abu-Al-Basal ve ark., 2011; Jang ve ark., 2012; Ahmad ve ark., 2013; Ab Rahman ve ark., 2014).

48 ratın kullanıldığı bu çalışmada rat sayısı, grup sayısı ve grupların içerdiği deney hayvanı sayısı istatistik hesaplamaları sonucunda belirlenmiştir. Buna göre en büyük ve en küçük değerler arasında 10 birim fark oluşacak şekilde standart sapma 5 birim olduğunda ve her bir gruptan 6 birey alındığında, power testi sonucuna göre testin gücü %80-%95 aralığında çıkmaktadır.

Bu çalışmada, rat siyatik siniri hasarı kullanılmasının temel nedeni, bu modelin, deneysel periferik sinir rejenerasyonu çalışmalarında çok sık kullanılması ve

birçok araştırmacı tarafından iyi sonuçlar verdiğinin kabul edilmiş olmasındır. Ayrıca rat siyatik sinirinin, mikroskobik yapısının, sinir hasarına verdiği nöral ve santral cevap açısından insan siyatik sinirine benzemesi, bu çalışmada rat siyatik siniri kullanılmasının diğer nedenleridir.

Deney hayvanı olarak ratların seçilmesinin diğer nedenleri de ratların, memeliler sınıfında olması, insanlarla genetik ve moleküler açıdan birçok ortak proteine sahip olması, vücut yapılarının küçük olması ve rahat cerrahi müdahaleye imkan tanınması, temini kolay olması, kolay beslenebilmesi, ekonomik olmasıdır. Çalışmamızda hormonal düzenlerinin sabitliği nedeniyle erkek ratlar tercih edilmiştir.

DeneySEL rejenerasyon çalışmalarında kullanılan ezilme tipi sinir hasarı, uygulanması kolay, ucuz ve iyi bilinen aksonometrik bir modeldir. (Mackinnon ve ark., 1985; Algora ve ark., 1996; Al Moutaery ve ark., 1998; Lee ve ark., 2000; Paydarfar ve Paniello, 2001; Gudemez ve ark., 2002; Islamov ve ark., 2002; Kaya ve Sarıkcıoğlu, 2014). Bu çalışmada da rat siyatik sinirinde ezilme tipi sinir hasarı tercih edilmiştir.

Bu çalışmada sinir ezilme hasarı oluşturulması için, Luis ve ark.'nın kullandıklarına benzer, özel tasarlanan ve 50 N sabit basınç uygulayan bir cerrahi klemp kullanılmıştır (Luis ve ark., 2007).

Bu çalışmada, OMÜ Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı tarafından yapılmış ön çalışmalar temel alınarak, aynı anabilim dalı tarafından özel olarak tasarlanan cerrahi klemple sinirde 3 sn süresince ezilme tarzında sinir hasarı oluşturulmuş, böylece siyatik sinir hasarı standardize edilmiştir. Operasyon sonrası ratlarda fonksiyon kaybı gözlenmiştir.

Ezilme tarzı siyatik sinir hasarı oluşturulduktan 90 gün sonra stereolojik ve elektrofizyolojik çalışmalar yapılmıştır. Bu 3 aylık süre, literatürde, siyatik sinir hasarı modelleri üzerinde yapılan stereolojik ve elektrofizyolojik çalışmalar temel alınarak belirlenmiştir (Keskin ve ark., 2004; Acar ve ark., 2008; Pişkin ve ark., 2009; Kaplan ve ark., 2011).

NS ve GB'nin uygulama dozları, bu iki maddenin ratlar üzerinde yapılan daha önceki çalışmaları baz alınarak belirlenmiştir. Doz yetersizliğine bağlı eksik sonuçlarla karşılaşmamak için bu çalışma planlanırken her iki maddenin de rat çalışmalarında sıklıkla kullanılan yüksek dozları temel alınmıştır. Buna göre bu maddelerin kullanım dozları NS için 400 mg/kg, GB için 100 mg/kg olarak belirlenmiştir (Kanter, 2008a;

Kanter, 2008b; Kanter, 2008c; Zhang ve ark., 2011; Zhao ve ark., 2011; Javanbakht ve ark., 2013).

NS üzerinde yapılan ekstraksiyon prosedürleri, literatürde NS üzerinde yapılmış çalışmalardaki ekstraksiyon işlemleri kaynak alınarak OMÜ Ziraat Fakültesi laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir (Demir ve ark., 2006).

Stereoloji, biyolojik yapılardan elde edilen 2 boyutlu kesitler kullanılarak yapının gerçekteki 3 boyutlu yapısı hakkında tarafsız bilgiler edinmemizi sağlayan bilimsel bir yöntemdir (Akakan ve Demirkan, 2013; Önger ve ark., 2014).

Stereolojik örnekleme yaklaşımları, biyolojik yapılardaki morfolojik değişikliklerin örnekleme ihtimallerini etkilemeyip hepsine eşit örnekleme şansı tanınması açısından günümüzde en fazla tercih edilen yaklaşımlar arasındadır (Kaplan ve ark., 2010). Bu yöntemler, periferik sinirde toplam miyelinli akson sayısı gibi karmaşık noktalarda araştırmacılara, basit, doğru ve tarafsız seçenekler sunduğu için oldukça değerlidir (Pişkin ve ark., 2009; Kaplan ve ark., 2012a). Stereolojik inceleme, tarafsız değerlendirme imkanı ile birlikte rejenerasyonun derecesi hakkında kesin ve nicel sonuçlar verdiğinden dolayı bu çalışmanın sonuçları stereolojik incelemeyle değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada 2 boyutlu kesitlerde akson çapı, miyelinli akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığına bakarak rejenerasyonun derecesi araştırılmıştır. Toplam miyelinli akson sayısı sinir hasarı ve rejenerasyonunu değerlendirmek için kullanılan önemli nöropatolojik göstergelerden biridir (Pişkin ve ark., 2009). Toplam miyelinli akson sayısı ancak uygun bir örnekleme metodu ile güvenilir ve nicel değerlendirmelere tabi tutulabilir (Kaplan ve ark., 2012b).

Bu çalışmada 90. günün sonunda ratlara yürüme analizi uygulanmıştır. İlk olarak 1982 yılında Medinaceli tarafından tanımlanan bu yöntem, Bain ve ark. tarafından değiştirilmiş ve popülerliğini hep korumuştur (Medinaceli ve ark., 1982; Bain ve ark., 1989). Güvenilir sonuçlar vermesi ve tekrarlanabilir olması açısından yürüme analizi, periferik sinirdeki fonksiyonel iyileşmeyi gözlemlemek için çalışmalarda sıkça kullanılmaktadır.

EMG, ezilme tarzı periferik sinir hasarı çalışmalarında, sinir rejenerasyonunun değerlendirilmesine önemli katkılar sunan bir inceleme yöntemidir. Motor

fonksiyonlardaki iyileşmenin gözlenmesinden aylar ya da haftalar önce rejenerasyonun derecesi hakkında bilgi verir (Baykal ve ark., 2002).

Birleşik akson potansiyelinin latans ve amplitüt değerleri rejenerasyonun değerlendirilmesinde temel kriterlerdir. Amplitüt aktif nöron sayısı ile doğrudan ilişkilidir. Latans değerleri ise hasar sonrası demiyelizasyon için güvenilir bir göstergedir (Baykal ve ark., 2002).

Bu çalışmada, aksiyon potansiyeli eğrilerinde uyarıdan defleksiyonun başladığı zamana kadar geçen süre olarak açıklanan latans değerleri ile oluşan potansiyelin tepe-tepe amplitütü (p-p amplitüt) ölçülmüştür. Her bir rat için üçer adet aksiyon potansiyeli eğrisi çizdirilerek ortalaması alınmış ve gruplara ait değerler istatistiksel olarak birbirleri ile karşılaştırılmıştır.

Amplitüt akson alanı, latans ise miyelin kılıf kalınlığı ile ilişkilidir. Amplitüt değeri ile akson alanı doğru, latans değeri ile miyelin kılıf kalınlığı ters orantılıdır. İyi rejenere olmuş bir motor sinirde amplitüt değerinin yüksek latans değerinin düşük olması beklenir.

Stereolojik sonuçlar siyatik sinirin tamamı ile bilgi verirken, EMG ve yürüme analizleri siyatik sinirin tibial dalı hakkında bilgi vermektedir. Dolayısıyla stereolojik sonuçlar ile EMG ve yürüme analizi sonuçları birebir örtüşmeyebilir. Siyatik sinir dalı, motor ve duyu sinir liflerini, tibial dal ise sadece motor sinir liflerini içerir. Bir sinirin duyu lifleri ile motor liflerinin tamamen aynı derecede rejenere olması beklenemez. EMG ve yürüme analizi sonuçları ile stereoloji sonuçları tamamen aynı olmasa bile rejenerasyonun varlığı açısından birbirini destekler niteliktedir.

Stereolojik olarak sinir rejenerasyonun derecesini değerlendirebilmek için tüm gruplarda akson alanı, akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığına bakılmıştır. İyi rejenere olmuş bir sinirde bu üç değerde de artış gözlenmektedir. Dolayısıyla hasar görmüş bir sinirdeki rejenerasyonun derecesi akson alanı, akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığındaki artışın derecesine bağlı olarak değişmektedir.

Stereoloji, EMG ve yürüme analizi çalışmalarının sonuçları baz alınarak yapılan One Way ANOVA testine göre akson alanı, akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığı, amplitüt, latans ve SFI değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmektedir.

Öncelikle NS uygulanan gruplarda, stereoloji çalışmaları açısından akson alanı, miyelinli akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığı değerlerini, EMG çalışmaları açısından amplitüt ve latans değerlerini ve yürüme analizi çalışması açısından siyatik fonksiyonel indeks değerlerini inceleyelim;

Akson alanı açısından gruplar karşılaştırıldığında en yüksek akson alanı lokal NS grubunda gözlenmiştir. Lokal NS uygulanan grupta lokal sham grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiş, diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ezilme tarzı sinir hasarı oluşturulan bu iki gruptan birine lokal NS uygulanmış diğerine ise lokal serum fizyolojik uygulanmıştır. Stereoloji verilerinin istatistiksel analizine göre lokal NS uygulamasının akson alanını istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı gözlenmiştir.

Lokal NS grubu ile sinir hasarı oluşturmadığımız lokal kontrol grubu arasında akson alanı açısından istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen lokal NS grubunda daha çok akson alanı gözlenmiştir. Bu iki sonuç bize lokal NS grubunda sinir rejenerasyonunun akson alanı açısından sağlam doku kadar iyi gerçekleştiğini göstermektedir.

Sistemik NS grubunun akson alanı açısından, lokal ve sistemik sham gruplarından fazla, lokal NS grubundan az akson alanına sahip olduğu gözlenmiştir. Fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu veri bize sistemik NS uygulamalarının lokal NS uygulamalarından daha az olmakla birlikte rejenerasyonu arttırdığı ama istatistiksel olarak anlamlı bir artışa sebep olmadığı sonucunu verir. Bu sonuçlara göre daha uzun süreli ve daha yüksek dozlardaki sistemik uygulamaların sinir rejenerasyonuna daha büyük katkı sağlayabileceği düşünülebilir.

Miyelinli akson sayısı açısından gruplar karşılaştırıldığında en fazla akson sayısı lokal NS uygulanan grupta gözlenmiş, en az akson sayısı ise sham gruplarında gözlenmiştir. Lokal NS uygulanan grupta lokal sham ve lokal kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre lokal NS grubunda artan akson sayısına bağlı olarak rejenerasyon istatistiksel açıdan anlamlı derecede artmıştır.

Lokal NS grubunda sistemik NS grubuna göre daha çok akson sayısı gözlenmesine rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bununla birlikte sistemik NS grubunda daha çok akson sayısı

oluşmasına rağmen sham ve kontrol grubu ile arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu durum bize sistemik NS grubunda akson sayısı açısından rejenerasyonun gözlendiğini ama anlamlı derecede olmadığını göstermektedir. Sistemik NS dozunun ve sistemik uygulanan gün sayısının arttırılması ile akson sayısı açısından rejenerasyon istatistiksel olarak anlamlı hale getirilebilir.

Rejenerasyon halindeki bir sinir dokusunda çapları küçük çok sayıda akson oluşmaktadır, deney gruplarının tamamında hasar oluşturulmamış sinir dokusuna sahip kontrol gruplarından daha fazla akson sayısının gözlenmesinin nedeni budur. Bu durum lokal NS ve lokal GB grubu için istatistiksel açıdan anlamlıdır.

Miyelin kılıf kalınlığı açısından değerlendirildiğinde en çok miyelin kılıf kalınlığı lokal NS grubunda gözlenmiştir. Lokal NS grubu ile lokal kontrol ve lokal sham grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuş, diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu veriler bize lokal NS uygulamasının miyelin kalınlığı açısından rejenerasyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığını göstermektedir.

Lokal NS grubunun sistemik NS grubundan daha fazla miyelin kılıf kalınlığına sahip olmasına rağmen lokal ve sistemik kullanımlar arasında, sistemik NS ve sistemik sham grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktur. Sistemik kullanımlarda, ilaç dozunun, süresinin ve sıklığının arttırılması, miyelin kılıf kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede rejenerasyona sebep olabileceği düşünülebilir.

EMG sonuçlarına göre amplitüt değerleri açısından lokal NS grubu ile Sham grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmiştir. Lokal NS grubu hiçbir sinir hasarı oluşturulmamış lokal kontrol grubundan sonra en yüksek amplitüt değerlerinin gözlendiği gruptur. Lokal NS grubunda sistemik NS grubundan istatistiksel açıdan anlamlı bir fark oluşturacak kadar yüksek amplitüt değerleri elde edilmiştir. Lokal NS grubunda hasar oluşturulmamış lokal kontrol grubuna yakın değerler elde edilmiştir. Bu sonuca göre lokal NS grubunda amplitüt değerleri açısından neredeyse sağlam sinirle aynı değerler gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre motor liflerde amplitüt değerleri açısından en iyi rejenerasyon lokal NS grubunda elde edilmiştir.

Sistemik NS grubunda sistemik sham grubuna göre daha yüksek amplitüt değerleri gözlenmesine rağmen, gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark

gözlenmemiştir. Bu sonuçlara göre sistemik NS uygulamalarının amplitüt değerleri açısından rejenerasyonu artırma eğiliminde olmasına rağmen uygulama dozunun, sıklığının ve süresinin yetersiz kalmış olabileceğini söyleyebiliriz.

EMG sonuçlarına göre latans değerleri açısından lokal NS grubu ile sham grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmiştir. Bütün gruplar arasında lokal NS grubu, en düşük değerlerin gözlendiği gruptur. Rejenerasyon ve latans değerleri arasında ters orantı olduğuna göre en iyi rejenerasyonun lokal NS grubunda gözlendiği söylenebilir.

Lokal NS grubu ile sistemik NS grubu arasında da latans değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. Lokal NS grubunda sistemik deney gruplarından daha düşük latans değerleri gözlenmiştir.

Lokal NS grubu ile lokal kontrol grubu arasında latans değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamasına rağmen lokal NS grubunda daha düşük değerler gözlenmiştir. Bu verilere göre lokal NS uygulamış hasarlı motor sinir liflerinin sağlam doku kadar iyi rejenerere olduğu sonucuna varılabilir.

Sistemik NS grubu ile sham grupları arasında amplitüt değerlerinde olduğu gibi latans değerleri açısından da istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

EMG değerleri elektro fizyolojik iyileşmeyi gösterirken siyatik fonksiyonel indeks (SFI) değerleri bize motor fonksiyonel iyileşmeyi göstermektedir. Yürüme analizi ile deney hayvanlarının sağlam taraftaki ayakları ile hasarlı sinirin olduğu bölgedeki ayakları fonksiyonel açıdan karşılaştırılmaktadır. SFI değerleri sıfıra yaklaştıkça daha iyi bir rejenerasyonu ifade etmektedir.

SFI verilerine göre sadece lokal NS grubunda sham grubuna göre istatistiksel açıdan daha fazla rejenerasyon gözlenmiştir. Bu grubun hiç hasar oluşturulmamış kontrol grupları ile de arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olduğunu göz önünde bulundurursak, oluşan rejenerasyonun sağlam doku kadar iyi olmadığı sonucuna varabiliriz.

SFI değerleri açısından lokal NS grupları ve sistemik NS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. Lokal NS grubunda bu gruplara göre daha iyi bir rejenerasyon gerçekleşmiştir.

Stereolojik, elektrofizyolojik ve fonksiyonel incelemelerin bütün kriterlerinde lokal NS uygulamasının sinir rejenerasyonunu istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı sonucuna varılmıştır.

Sistemik NS uygulamalarının kısmen rejenerasyonu arttırdığı gözlenmesine rağmen hiçbir kriterde istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır.

Bu sonuçlara göre NS'nin lokal uygulamalarının sistemik uygulamalara göre sinir rejenerasyonunu anlamlı derecede arttırdığı sonucuna varabiliriz. Sistemik uygulamalarda da az miktarda rejenerasyonun gözlenmesinden hareketle, sistemik ilaç dozlarının, kullanım sürelerini ve kullanım sıklıklarının artırılması ile sistemik kullanımlarda rejenerasyonun anlamlı derecede artacağı tahmininde bulunabiliriz.

Lokal NS uygulaması birçok kriterde hiç hasar oluşturulmamış kontrol gruplarına yakın değerler göstermiştir. Bu durum lokal NS uygulamasının neredeyse sağlam sinir dokusu kadar iyi bir rejenerasyona neden olduğunu göstermektedir.

Kanter (2008b), yaptığı bir çalışmada kronik tolüene maruz bırakılan ratlarda hipokampusta oluşan nörodejenerasyon üzerine NS nin ve NS nin etken maddelerinden TQ'nun etkilerini incelemiştir. Çalışmada 40 rat kontrol grubu, tolüene uygulanan grup, tolüene ve NS uygulanan grup, tolüene ve TQ uygulanan grup olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Çalışmada NS 400 mg/kg, timokinon 50 mg/kg olmak üzere 12 hafta boyunca her gün oral yoldan intragastric entübasyonla uygulanmıştır. Toluene uygulamasının hipokampustaki sinir hücreleri üzerinde ciddi dejeneratif değişiklikler meydana getirdiği gözlenmiştir. Bu durum NS ve Timokinon uygulanan ratlarda oldukça az gözlenmiştir. NS ve timokinonun dejenere olmuş nöronların immunoreaktivitesini azalttığı immunohistokimyasal çalışmalarla açığa çıkmıştır. Histopatolojik ve elektron mikroskopu incelemelerinden sonra timokinon ve NS tedavisinin hipokampustaki nörodejenerasyon üzerinde iyileştirici etki gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Kanter (2008c), yaptığı başka bir hayvan çalışmasında kronik tolüene maruz bırakılan ratlarda frontal korteksdeki sinir hasarına NS'nin koruyucu etkisini değerlendirmiştir. Çalışma da 30 rat, kontrol grubu, sadece tolüene maruz bırakılan grup ve tolüene maruz bırakılıp NS uygulanan grup olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. NS oral yoldan intragastrik entübasyonla 12 hafta boyunca günde bir kez 400 mg/kg olarak uygulanmıştır. 12 hafta sonra ratlar sakrifiye edilip histopatolojik inceleme yapılmıştır.

Histopatoloji sonucuna göre NS tedavisinin frontal korteksdeki nörodejenerasyonda istatistiksel olarak anlamlı derecede morfolojik iyileşmeye sebep olduğu rapor edilmiştir. Histopatolojik inceleme sonucunda tolüene ile birlikte NS uygulanan ratların frontal kortekslerinde ve beyin dokularında sadece tolüene uygulanan ratlara oranla daha az nöronal değişiklikler meydana geldiği bildirilmiştir. NS uygulanan grupta sinir hücrelerinin çekirdek ve sitoplazmalarındaki dejeneratif değişikliklerin şiddetinin, sadece tolüene uygulanan gruba göre, oldukça az olduğu rapor edilmiştir. Histokimyasal bulgulara göre NS tedavisinin dejeneratif olmuş sinir hücrelerinin immunoreaktivitesini azalttığı tespit edilmiştir. NS tedavisinin frontal korteksdeki nörodejenerasyonda istatistiksel olarak anlamlı derecede morfolojik iyileşmeye sebep olduğu rapor edilmiştir.

Bu çalışmalar bizim yaptığımız çalışma ile materyal metod açısından birebir benzerlik göstermese bile bu üç çalışmanın sonuçları arasında bir uyum vardır. Hasara uğramış beyin sinir hücrelerinde 12 hafta sistemik NS uygulamasının nörodejenerasyon üzerine istatistiksel olarak anlamlı derecede olumlu etki göstermiş olması önemlidir. Bizim yaptığımız çalışmada da lokal NS uygulamasının sinir rejenerasyonuna istatistiksel olarak anlamlı katkı sağladığı sonucuna varılmıştır. Bizim çalışmamızda sistemik NS uygulamasının nörodejenerasyonda etkin olduğu fakat bu etkinliğin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna da ulaşılmıştır. Bu etkinliğin istatistiksel olarak anlamlı olmamasının nedeni, bizim yaptığımız çalışmada NS uygulanan sürenin Kanter'in yaptığı çalışmalara göre oldukça kısa olmasıdır. Kanter'in çalışmalarında 12 hafta süresince, bizim çalışmamızda ise 3 hafta süresince NS uygulaması yapılmıştır (Kanter, 2008b; 2008c).

Kanter (2008a), diyabetik rat modeli üzerinde yaptıkları bir hayvan çalışmasında NS ve NS nin bileşiği olan TQ'nun siyatik sinir üzerine koruyucu etkilerini incelemiştir. 40 adet rat kontrol, sadece diyabetli, diyabetli ve NS uygulanan, diyabetli ve TQ uygulanan olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Ratlar diabetli hale getirildikten sonra, NS 400 mg/kg, TQ ise 50 mg/kg olmak üzere intargastric intubasyonla günde 1 kez oral yoldan 12 hafta boyunca uygulanmıştır. Histolojik ve elektron mikroskobu incelemeleri neticesinde TQ ve NS uygulanan ratlarda daha az morfolojik değişiklikler gözlenmiştir. NS ve TQ tedavisinden sonra miyelin yıkımının önemli ölçüde azaldığı ve aksonların yapısında dikkat çekici iyileşme gösterdiği

gözlenmiştir. Herhangi bir madde uygulanmayan diabetik ratlarla kıyaslandığında NS veya TQ uygulanan ratlarda aksonal miyelinlerin vaskülarizasyon ve lameller ayrılması daha az belirgin gözlenmekle birlikte schwan hücrelerinin yapısı daha iyi ve endonörol ödem çok daha az gözlenmiştir.

Bu çalışmanın sonucunda TQ ve özellikle NS tedavisinin diabetik ratlarda siyatik sinirlerdeki biyokimyasal ve morfolojik iyileşmeye neden olduğu ve nöroprotektif etki gösterdiği rapor edilmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada siyatik sinir rejenerasyonu üzerinde lokal NS uygulamasının akson alanı, akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığını arttırarak istatistiksel olarak anlamlı derecede katkı yaptığı ve buna bağlı olarak NS tedavisinin sinir iyileşmesini hızlandırdığı rapor edilmiştir. Bu açıdan iki çalışmanın sonuçları benzerlik göstermektedir. Bu değerler sistemik NS uygulamasında da önemli ölçüde artmıştır fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu çalışmada, bizim yaptığımız çalışmayla aynı dozlarda oral NS uygulandığını düşünürsek, bizim yaptığımız çalışmada sistemik NS uygulamasının siyatik sinir iyileşmesine katkısının istatistiksel derecede anlamlı olmamasını, uygulama süresine bağlamamız gerekir.

Javanbakht ve ark. (2013), rat siyatik sinirinde ezilme tarzı hasar oluşturdukları bir hayvan çalışmasında, oral NS kullanımının sinir rejenerasyonuna etkisini incelemiştir. 30 adet deney hayvanı 3 gruba ayrılmış birinci grup hasar oluşturulmayan kontrol grubu, ikinci grup sinir hasarı oluşturulan ve sadece serum fizyolojik uygulanan grup, 3. grup ise sinir hasarı oluşturulan ve 30 gün boyunca 400 mg/kg oral NS uygulanan grup, olarak belirlenmiştir. 30 günün sonunda ratlar sakrifiye edilmiş ve histopatolojik inceleme yapılmıştır. Histopatolojik çalışmalar sonucunda NS verilen ratlarda travma sonrası oluşan nöron dejenerasyonunun oldukça az olduğu, kontrol grubundaki kadar olmasa da nöronların morfolojisinin iyi korunduğu gözlenmiştir. NS verilen ratlarda sadece hasar oluşturulan gruba göre bozulmuş sinir hücrelerine neredeyse hiç rastlanmadığı gözlenmiştir. Sadece travma uygulanan gruptaki sinir sayısının kontrol ve NS grubuna göre belirgin derecede az olduğu rapor edilmiştir. Çalışma sonucunda NS tedavisinin nörodejenerasyon gerçekleşen rat siyatik siniri üzerinde morfolojik iyileşmeye neden olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmanın sonuçları ile bizim yaptığımız çalışmanın sonuçları NS uygulamasının sinir rejenerasyona katkısı olması açısından paralellik göstermektedir.

Bizim yaptığımız çalışmada lokal NS uygulamasının sinir rejenerasyonunu istatistiksel olarak arttırdığı ve oral yoldan sistemik uygulanan NS'nin sinir rejenerasyonunu arttırmakla birlikte bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Sistemik NS dozunun her iki çalışmada da aynı dozlarda uygulanmasına rağmen birebir aynı sonuçlar ortaya çıkmamıştır. Bu durum sistemik NS uygulanan gün sayısı ile açıklanabilir. Bizim yaptığımız çalışmada 21 gün sistemik NS verilirken Javanbakht ve ark. yaptığı çalışmada 30 gün sistemik NS uygulanmıştır. Bizim çalışmamızdaki sistemik NS uygulamasının uygulama süresi arttırıldığında sinir rejenerasyonuna yaptığı katkıyı istatistiksel olarak anlamlı hale getirilebilir.

Al-Majed ve ark. (2006) ile Hobbanaghi ve ark. (2014), rat hipokampusları üzerinde yaptıkları hayvan çalışmalarında iskemiye bağlı nöronal hasar karşısında NS'nin ve NS'nin etken maddelerinden olan TQ'nun nöroprotektif etkilerini incelemişlerdir. Bu iki çalışma sonucunda NS ve TQ'nun oksidatif strese bağlı hasarı azalttığı ve serebral ödemi önlediği ve buna bağlı olarak iskemi kaynaklı nöral hasara karşı iyi bir nöroprotektif ajan oldukları rapor edilmiştir.

Her iki çalışmada da bizim yaptığımız çalışmada olduğu gibi NS tedavisinin hasarlı sinir dokusu üzerinde iyileştirici etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Yaptığımız bu çalışmada ortaya çıkan olumlu sonuçlar güçlü bir antioksidan olduğu kanıtlanmış olan NS maddesinin, daha önce yapılmış bu iki çalışmada olduğu gibi, antioksidan kapasitesinden dolayı elde edilmiş olabilir. Bu durumu tam anlamıyla açıklığa kavuşturmak için bu maddenin, hasarlı sinir dokusunun rejenerasyonu üzerine etki mekanizmalarını inceleyecek yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Erkut ve ark. (2016), yaptıkları bir hayvan çalışmasında, ratlarda oluşturdukları alt ekstremite iskemi-reperfüzyon hasarı modelinde NS'nin etken maddelerinden biri olan TQ'nun siyatik sinir üzerindeki koruyucu etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonrasında, hasardan 45 dakika önce intraperitoneal 25 mg/kg TQ uygulamasının, rat siyatik siniri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede koruyucu etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

El-Dakhkhny ve ark. (2000), yaptıkları bir hayvan çalışmasında ülser modeli oluşturulmadan hemen önce NS verilen ratlarda ülserle karşı koruyucu bir etki sağlandığı kanıtlanmıştır.

Türkdoğan ve ark. (2001; 2003), yaptıkları iki farklı hayvan çalışmasında ratlarda CCL₄ ile oluşturulan karaciğer hasarı modeli üzerinde ve NS'nin önemli derecede hepatoprotektif etkisi olduğu kanıtlanmıştır.

El-Mahmoudy ve ark. (2002), ratlarda yaptıkları bir hayvan çalışmasında timokinon'un enflamasyonlu ve otoimmün hastalıklarının tedavisinde makrofajlarda nitrik oksit üretimini azaltarak iyileştirici etki gösterebileceğini bulmuşlardır.

Khan ve ark. (2003b), yaptıkları bir hayvan çalışmasında ratlarda KBrO₃ ile oluşturulan renal oksidatif hasar modelinde profilaktik olarak uygulanan NS'nin dokularda oksidatif hasarı önemli miktarda azalttığı ve glutatyon ve antioksidan enzim kapasitesini geri döndürdüğü gösterilmiştir.

Assayed (2010), Rastogi ve ark. (2010), yapmış olduğu iki farklı hayvan deneylerinde NS'nin radyoprotektif etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda NS'nin radyasyonun indüklediği DNA hasarını önemli ölçüde engellediği ve iyonize radyasyonun immunosupresif ve oksidatif etkilerine karşı doğal radyoprotektif bir ajan olduğu kanıtlanmıştır.

Yapılan bu çalışmaların sonuçlarına bakıldığında, NS'nin doku hasarından önce profilaktik olarak uygulandığında, oksidatif hasara karşı dokuları koruduğu ve hasar sonrasında iyileştirici etki gösterdiği söylenebilir. Daha önce yapılan çalışmaların sonuçları bu tez çalışmasının sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde, NS'nin birçok farklı dokularda da, sinir dokusunda olduğu gibi doku hasarına karşı etkili olduğu ve rejeneratif etki göstererek iyileştirmeyi hızlandırdığı göz önünde bulundurulursa, NS'nin nöroprotektif etkisinin oksidatif hasara karşı güçlü bir antioksidan olmasından kaynaklandığı düşünülebilir.

Stereolojik, elektrofizyolojik ve fonksiyonel incelemeler sonucunda GB'nin sinir rejenerasyonuna etkisi NS'den oldukça farklı çıkmıştır.

Lokal NS grubundan sonra en çok akson alanı lokal GB grubunda gözlenmiştir. Buna rağmen lokal GB grubunun diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Bu veri bizi lokal GB grubunda uygulanan dozun artırılması halinde rejenerasyonun akson alanı açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla olabileceği sonucuna götürmektedir.

Sistemik GB grubunun, akson alanı açısından, sistemik sham gruplarından fazla, lokal GB grubundan az akson alanına sahip olduğu gözlenmiştir. Fakat bu fark

istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu veri bize sistemik GB uygulamalarının lokal GB uygulamalarından daha az olmakla birlikte rejenerasyonu arttırdığı ama istatistiksel olarak anlamlı bir artışa sebep olmadığı sonucunu verir. Bu sonuçlara göre daha uzun süreli, daha yüksek dozlarda ve daha fazla sıklıktaki sistemik uygulamaların sinir rejenerasyonuna daha büyük katkı sağlayabileceği düşünülebilir.

Miyelinli akson sayısı açısından lokal GB uygulamaları ile lokal kontrol ve sham grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiş diğer gruplarla istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir. Lokal GB uygulanan grupta kontrol ve sham gruplarına göre daha çok akson sayısı gözlenmiştir. Lokal NS grubundan sonra en fazla akson sayısı bu grupta gözlenmiştir ve lokal GB grubu ile lokal NS grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Bu verilere göre lokal GB uygulamasının akson sayısı açısından rejenerasyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığını ve akson sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı olmasa bile lokal NS uygulamasına göre daha az rejenerasyona neden olduğu söylenebilir.

Sistemik GB uygulanan grupla kontrol ve sham grubu arasında miyelinli akson sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Buna rağmen sistemik GB grubunda daha çok akson sayısı gözlenmiştir. Bu durum sistemik GB grubunda da rejenerasyonun arttığını ama istatistiksel olarak anlamlı derecede olmadığını göstermektedir. Bu duruma göre uygulanan sistemik GB dozunun, süresinin ve uygulama sıklığının yetersiz olduğu düşünülebilir.

Miyelin kılıf kalınlığı açısından lokal GB grubu en yüksek değerlere sahip ikinci grup olmasına rağmen diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Bu bulguya göre lokal GB kullanımı rejenerasyonu miyelin kılıf kalınlığı açısından bir miktar arttırmıştır ama bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu sonuçlara göre ratlara uygulanan lokal GB dozu yetersiz kalmış olabilir.

Sistemik GB uygulamalarının miyelin kılıf kalınlığı açısından rejenerasyonu bir miktar arttırdığı ama istatistiksel olarak anlamlı bir artışa sebep olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu sonuçlara göre daha uzun süreli, daha yüksek dozlarda ve daha fazla sıklıktaki sistemik uygulamaların oluşan rejenerasyonu istatistiksel olarak anlamlı hale getirebileceği düşünülebilir.

Lokal GB grubunun sistemik GB grubundan daha fazla miyelin kılıf kalınlığına sahip olmasına rağmen lokal ve sistemik kullanımlar arasında istatistiksel

açından anlamlı bir fark yoktur. Bu veriler bize lokal kullanımların sistemik kullanımlardan miyelin kılıf kalınlığı açısından daha fazla rejenerasyona sebep olduğunu ama bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığını göstermektedir. Lokal kullanımlarda, ilaç dozunun artırılması ile miyelin kılıf kalınlığı açısından sistemik kullanımlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha iyi rejenerasyonun elde edilebileceği düşünülebilir.

Stereoloji sonuçlarına göre lokal uygulamalarda, NS uygulamalarının, miyelin kılıf kalınlığı, akson alanı ve miyelinli akson sayısı açısından rejenerasyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı, GB uygulamalarının ise rejenerasyon değerlerinde genel bir artışa neden olmakla birlikte bu değerlerden sadece miyelinli akson sayısı açısından rejenerasyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı gözlenmiştir. Bu verilere dayanarak uygulanan lokal GB dozunun yetersiz kalmış olabileceği sonucu çıkartılabilir.

Stereoloji sonuçlarına göre lokal GB uygulamaları, sistemik uygulamalardan daha fazla rejenerasyona sebep olmuştur. Lokal uygulamalarda oluşan rejenerasyon, bir kısım değerlerde istatistiksel olarak anlamlı olmasına rağmen sistemik uygulamalarda hiçbir değerde istatistiksel açıdan anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Sistemik uygulamalarda doz, süre ve sıklık değiştirilerek rejenerasyon anlamlı hale getirilebilir.

EMG sonuçlarına göre lokal GB grubunun amplitüt değerleri açısından lokal sham grubu ve diğer gruplarla arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Hiç sinir hasarı oluşturulmamış kontrol grubu ile de arasında anlamlı bir fark olmamasından dolayı lokal GB grubunun amplitüt değerleri açısından rejenerasyonu bir miktar arttırdığını söyleyebiliriz. Bu sonuçlara göre lokal GB uygulamasının motor liflerde rejenerasyonu bir miktar arttırmış olmasına rağmen bu değerler lokal NS uygulanan gruplardaki kadar yüksek değildir. Daha yüksek GB dozu uygulansaydı istatistiksel açıdan daha anlamlı sonuçlar elde edilebilirdi.

Sistemik GB grubunda sham grubuna göre daha yüksek amplitüt değerleri gözlenmesine rağmen, gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu sonuçlara göre sistemik GB uygulamalarının amplitüt değerleri açısından rejenerasyonu artırma eğiliminde olmasına rağmen uygulama dozunun, sıklığının ve süresinin yetersiz kalmış olabileceğini söyleyebiliriz.

Emg sonuçlarına göre latans değerleri açısından lokal GB grubu, lokal NS grubundan sonra en düşük değerlere sahip gruptur. Sham grupları ile arasında latans değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. Bu verilere göre lokal GB grubu latans değerleri açısından lokal NS grubundan sonra en iyi rejenerasyonun gözleendiği gruptur.

Lokal NS grubu gibi Lokal GB grubunda da hiç hasar oluşturulmamış lokal kontrol grubu arasında latans değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu veriye göre Lokal GB grubunda da latans değerleri açısından sağlam dokuya yakın rejenerasyonun gözleendiğini söyleyebiliriz.

Lokal GB grubu ile sistemik GB grubu arasında da latans değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. Lokal GB grubunda sistemik GB grubundan daha düşük latans değerleri gözlenmiştir. Daha düşük latans değerleri daha iyi bir rejenerasyonu ifade etmektedir.

Sistemik GB grubu ile sham grupları arasında amplitüt değerlerinde olduğu gibi latans değerleri açısından da istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

EMG sonuçlarına göre lokal NS ve lokal GB motor sinirlerde miyelinizasyonu arttırmıştır.

SFI sonuçlarına göre lokal NS grubu ile lokal GB grubu arasında da istatistiksel açıdan anlamlı bir fark vardır, Lokal NS grubunda daha iyi bir fonksiyon gözlenmiştir. Dolayısıyla daha iyi bir rejenerasyon vardır. Lokal GB grubunda SFI değerleri açısından sham gruplarına göre daha az rejenerasyon gözlenmiştir ve bu istatistiksel olarak anlamlıdır.

Sistemik GB grubunda da sham gruplarına göre SFI değerleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı olacak derecede daha az rejenerasyon gözlenmiştir.

SFI sonuçlarına bakılarak deney hayvanlarının uzun süre kafeste kalmaları ve kısıtlı hareket etmeleri, hareket esnasında hasarlı ayaklarını kullanmama eğiliminde olmalarından dolayı kasların yeterince inerve edilememesi gibi nedenlerden dolayı rejenerasyonun fonksiyonel iyileşmeye tam olarak yansımamış olabileceği söylenebilir.

Kim ve ark. (2000), bir hayvan çalışmasında diabetik nöropatiye karşı GB'nin koruyucu etkisini incelemiştir. Çalışmada 18 rat 3 gruba ayrılmıştır. 12 rat streptozotosin kullanılarak diabetik hale getirilmiş, geri kalan 6 rat kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Streptozotosin uygulamasından bir hafta sonra diabetik hale gelen 12

ratın altısına altı hafta boyunca oral yoldan GB uygulanmıştır. Çalışma sonucunda GB tedavisinin, antioksidan aktivitesinden dolayı, diabetik hastalarda periferel sinirdeki endonöral mikrovaskularite ile ilgili patolojik değişikliklere ve bozulmuş aksonal transporta karşı koruyucu etki gösterdiği rapor edilmiştir.

Bu çalışmada, bizim yaptığımız çalışmada olduğu gibi güçlü bir antioksidan olan GB'nin sinir üzerinde iyileştirici etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Bizim yaptığımız çalışmada lokal GB uygulamasında, miyelinli akson sayısı ve latans değerleri açısından, rejenerasyonun artmış olduğu gözlenmiş olmasına rağmen, sistemik GB uygulamasında, rejeneratif etkinin arttığı ama bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu farklılığın her iki çalışmada uygulanan sistemik GB süresinin farklılığından kaynaklandığını söyleyebiliriz.

Hsu ve ark. (2004), bir çalışmada rat siyatik sinir hasarı sonrası lokal GB uygulamasının sinir rejenerasyonu üzerine etkisini incelemiştir. Çalışmada 0, 1, 10, 20, 50, 100, 200 µg/ml olmak üzere farklı dozlarda GB uygulanmıştır. Çalışma sonucunda GB'nin total miyelinli akson sayısını ve periferel sinirin fonksiyonel iyileşmesini arttırdığı rapor edilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları bizim yaptığımız çalışma ile paralellik içermektedir. Bizim yaptığımız çalışmanın stereoloji incelemesi sonucunda lokal GB uygulamasının miyelinli akson sayısını arttırarak rejenerasyona istatistiksel olarak anlamlı katkı sağladığı gözlenmiştir.

Lin ve ark. (2007a) yaptığı bir çalışmada değişen dozlardaki GB'nin sinir rejenerasyonuna etkisini incelemiştir. Çalışmada kullanılan 120 rat üzerinde siyatik sinir kesisi oluşturulmuş ve bunun tamiri gerçekleştirilmiştir. Hayvanlar normal saline uygulanan grup, düşük doz (50 mg/kg) GB, orta doz (100 mg/kg) GB ve yüksek doz (200 mg/kg) GB uygulanan grup olmak üzere 4 farklı gruba ayrılmıştır. Postoperatif 7. günün sonunda her gruptan 6 rat seçilmiş ve bu ratlarda rejenerasyon aralığı değerlendirilmiştir. Postoperatif 2., 4., 6. ve 8. haftalarda ratlara EMG testi ve yürüme analizi uygulanmış, amplitüt, latans ve SFI değerlerine bakılmıştır. Bu testler sonucunda GB uygulanan gruplarda normal saline uygulanan gruplara göre daha iyi bir rejenerasyon gerçekleştiği gözlenmiş, GB uygulanan gruplar arasında ise uygulanan doz miktarı arttıkça daha iyi sonuçlar elde edildiği rapor edilmiştir.

Bizim yaptığımız çalışmada doz araştırılması yapılmamıştır ancak sistemik 100 mg/kg GB'nin elektrofizyolojik ve histolojik sonuçlar doğrultusunda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da rejenerasyonu arttırdığı gözlenmiştir. Lokal GB uygulanan grupta ise bu artış, miyelinli akson sayısı ve latans değerleri açısından rejenerasyonun istatistiksel olarak anlamlı çıkmasına neden olmuştur. Bu çalışmanın sonucunda artan GB dozuyla orantılı olarak rejenerasyonun arttığı rapor edilmiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre bizim çalışmamızda da daha yüksek dozlarda GB uygulaması yapılsaydı istatistiksel olarak daha anlamlı sonuçlar alınabilirdi diyebiliriz.

Lin ve ark. (2007b) GB'nin siyatik sinir hasarı sonrası uyarılan nitrik oksit sentezinin baskılamasına etkisini inceleyen bir çalışma yapmışlardır. Çalışma da 156 rat deney grubu, kontrol grubu ve sham grubu olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Deney grubuna siyatik sinir hasarı sonrası günde 1 kez 200 mg/kg GB, kontrol ve sham gruplarına saline solüsyonu uygulanmıştır. Ratlar operasyondan sonraki 1., 3., 7., 14., 21., ve 28. günde olmak üzere farklı zamanlarda sakrifiye edilmiştir. Yapılan immunohistokimyasal çalışmaların sonucunda GB'nin sinir dokusundaki rejenerasyona destek verdiği rapor edilmiştir.

Lin ve ark. (2008) başka bir çalışmada GB'nin schwan hücrelerinin proliferasyonu üzerine etkisini incelemişlerdir. Çeşitli tekniklerle 20 rat siyatik sinirinden schwan hücreleri izole edilmiştir. Daha sonra bu ratlar GB uygulanan (50 microg/ml) ve uygulanmayan olmak üzere iki deney grubuna ayrılmışlardır. İşlem sonrası 1., 3., 5., 7. ve 9. günlerde absorbans değerleri incelenerek gelişme eğrileri çıkartılmış, hücre döngüsü takip edilmiş, işlemde sonraki 2. ve 3. günde dakikadaki parçalanma hesaplanmış ve ELISA metodu ile sinir büyüme faktörü sentezi incelenmiştir. Çalışma sonucunda GB'nin periferik sinir rejenerasyonunun sağlanmasında önemli mekanizmalardan biri olan schwan hücre proliferasyonunu artırdığı rapor edilmiştir.

Her iki çalışmada da GB'nin sinir rejenerasyonuna katkısı incelenmiştir. Bu çalışmaların sonuçları bizim yaptığımız çalışma ile benzerlik göstermektedir. Bizim yaptığımız çalışmada da GB'nin sinir rejenerasyonuna katkı sağladığı, özellikle lokal GB uygulamalarında miyelinli akson sayısı ve latans değerleri açısından bu durumun istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir.

Pak (2011), tarafından Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesinde yapılan bir yüksek lisans tez çalışmasında siyatik sinir hasarına karşı epigallokateşin 3-gallat ve GB'nin etkileri incelenmiştir. Ratlara 1 hafta epigallokateşin 3-gallat ve GB uygunmasını takiben ezilme tipi siyatik sinir hasarı modeli oluşturulmuştur. Çalışmada 48 rat kullanılmıştır. Ratlar, kontrol grubu, sham grubu, deney grubu I, GB verilen grup, epigallokateşin 3-gallat verilen grup ve GB ile epigallokateşin 3-gallatın birlikte verildiği grup olmak üzere 6 gruba ayrılmıştır. Ratlara GB 40 mg/kg/gün olacak şekilde oral yoldan 1 hafta uygulanmıştır. Histopatolojik ve biyokimyasal çalışmaların sonucunda siyatik sinir hasarına karşı epigallokateşin 3-gallat ve GB'nin koruyucu etkisinin olduğu ve tek veya kombine uygulamaların birbirine üstünlüğünün olmadığı rapor edilmiştir.

Bu tez çalışması ile bizim yaptığımız çalışma materyal metod açısından benzerlik göstermektedir. Bizim yaptığımız çalışmada daha yüksek dozlarda daha uzun süreli sistemik GB uygulanmasına rağmen bu çalışmanın sonuçlarında olduğu gibi istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilememiştir. Her iki çalışmada da rat siyatik sinirinde ezilme tipi hasar oluşturulmasına rağmen bu tez çalışmasında sistemik GB preoperatif uygulanırken bizim yaptığımız çalışmada postoperatif uygulanmıştır. İki çalışma arasındaki bu farklılık, sonuçların da farklı çıkmasına neden olmuş olabilir. Bu tez çalışmasında yapılan preoperatif sistemik GB uygulamasının rejenerasyonun erken döneminde etkili olarak sonucun istatistiksel açıdan anlamlı çıkmasına neden olmuş olabilir. Biz de, istatistiksel olarak anlamlı olmasa bile yaptığımız çalışmadaki histojik ve elektrofizyolojik testlerin sonuçlarındaki reel artışları dikkate alarak sistemik GB'nin sinir yaralanması üzerine rejeneratif etkisi olduğu tahmininde bulunabiliriz. Bu durumun tam anlamıyla açığa kavuşturulması için bu alanda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Lei ve ark. (2011) bir hayvan çalışmasında 2,5-hexanedione ile oluşturulmuş periferik sinir yaralanmasında miyelin protein zero'nun rolü ve GB'nin koruyucu etkisini incelemiştir. Çalışmada 91 rat 7 gruba ayrılmıştır. 4 gruba gavajla sırasıyla farklı dozlarda (50, 100, 200, 400 mg/kg) 2,5-hexanedione uygulanmıştır. Bir gruba GB uygulamasını takiben 1 saat sonra 400 mg/kg 2,5-hexanedione uygulanmıştır. Diğer iki grup kontrol grubu olarak belirlenmiş ve sırasıyla aynı dozlarda normal saline ve GB uygulanmıştır. Bu maddeler bütün gruplara haftada 5 gün olmak üzere 4 hafta

uygulanmıştır. 4 hafta sonrasında yapılan incelemelerle elde edilen veriler yorumlandığında GB'nin 2,5 hexanedione ile oluşturulmuş periferik sinir yaralanması üzerine koruyucu etkisi olduğu rapor edilmiştir.

Bizim yaptığımız çalışmada sistemik GB uygulamasının rejenerasyon değerlerini arttırdığı gözlenmiştir fakat istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç alınamamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada günlük 100 mg/kg GB'nin 3 hafta süreyle uygulandığını düşünürsek, bu durumun nedeni sistemik uygulanan GB süresi ve dozu olabilir. Daha yüksek dozda ve daha uzun sürelerde sistemik GB uygulaması ile istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilebilir.

Zhu ve ark. (2015) tarafından GB'nin aselluler sinir grefti kullanılarak tamir edilen periferik sinir dokusundaki rejenerasyona ve vaskularizasyona katkısını inceleyen bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada kullanılan 72 rat 3 deney grubuna ayrılmıştır. Bütün gruplara 15 mm siyatik sinir defekti oluşturulmuştur. 1. grupta bu defekt otojen sinir grefti ile tamir edilmiş, 2. grupta ise 18 mm'lik aselluler sinir grefti ile tamir edilmiş, 3. grupta 18 mm lik aselluler sinir grefti ile tamiri takiben 10 gün boyunca intraperitoneal 50 mg/kg GB uygulanmıştır. Operasyon sonrası 14 gün boyunca immunohistokimyasal olarak aksonun durumu ve vaskularizasyonu değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda periferik sinir rejenerasyonu ve vaskularizasyonu açısından aselluler sinir grefti ve GB'nin birlikte uygulandığı grupta sadece aselluler sinir grefti uygulanan gruptan daha iyi sonuçlar elde edilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları, GB'nin periferik sinir rejenerasyonuna olumlu katkı sağladığını göstermektedir. Bizim yaptığımız çalışmada, bu çalışmada kullanılan daha yüksek dozda ve daha uzun süreli sistemik GB uygulamasının rejenerasyon değerlerini arttırdığı ama bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu farklılığın nedeni her iki çalışmada uygulanan sinir hasarı tipindeki ve bu hasarın tedavisindeki farklılıklar olabilir. Bu alanda yapılacak yeni hayvan çalışmalarıyla bu durum açıklığa kavuşturulabilir.

Jang ve ark. (2012), yaptığı bir hayvan çalışmasında, ratlarda oluşturdukları ezilme tipi fasiyel sinir hasarı sonrası GB'nin iyileşmeye etkisini incelemişlerdir. Deney grubu hayvanlarına hasardan 30 dakika önce ve hasardan sonra 4 hafta boyunca hergün intraperitoneal yoldan 4 ml/kg GB, kontrol grubuna ise aynı dönemlerde 4 ml/kg salin solusyonu uygulamışlardır. Çalışma sonunda yapılan elektrofizyolojik testler ve

fonksiyonel gözlemler neticesinde hasardan sonraki 14. günden itibaren deney grublarında belirgin bir iyileşmeye gözlemlendiği belirtilerek GB'nin sinir rejenerasyonunu istatistiksel olarak anlamlı derecede desteklediği rapor edilmiştir.

Farklı bir sinir üzerinde çalışılmış, farklı dozlarda GB uygulanmış olmasına rağmen Jang ve ark. (2012), yaptığı çalışmada olduğu gibi bu tez çalışmasında da GB'nin sinir rejenerasyonuna olumlu katkı sağladığı gözlenmiştir. Bu tez çalışmasında yapılan testlerin sadece bir kısmında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmiştir dolayısıyla GB'nin sinir rejenerasyonuna sağladığı katkı Jang ve ark. (2012), yaptığı çalışmada daha belirgindir bunun nedeni kullanılan sinirlerin, dozların farklılığı ve preoperatif GB uygulaması olabilir.

Klein ve ark. (1997), yaptığı bir çalışmada GB'nin yapısındaki bilobalidler sayesinde hipoksiye bağlı beyin hasarını engellediği sonucuna varılmıştır. Xin ve ark. (2000), ratlarda yaptıkları benzer bir çalışmada da GB'nin hidroksil radikallerine bağlı apoptozi, doza bağımlı olarak önlediği, serbest radikalleri temizleyici etkisinin olduğu, oksidatif hasara ve apoptoziye karşı serebral hücreleri koruduğu belirtmiştir.

Erdoğan ve ark. (2006), ratlarda yaptığı bir hayvan çalışmasında bir antineoplastik ajan olan bleomisin kullanımına bağlı serbest radikal üretiminde, GB'nin, ksantin oksidaz aktivitesindeki artışı önleyerek, oksidatif hasara karşı güçlü bir antioksidan olduğu gösterilmiştir.

Liu ve ark. (2007), yaptığı bir hayvan çalışmasında ratlarda 60 dk boyunca superior mesenterik arterin klemblenmesi ile oluşturulan intestinal iskemi/reperfüzyon hasarı modelinde, GB'nin akciğer hasarı üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışma sonunda GB'nin ortalama arter basıncını düzenlediği ve akciğer hasarını iyileştirdiği yapılan indekslerle ve histolojik değişikliklerle kanıtlanmıştır.

Keleş ve ark. (2008), 40 rat üzerinde yaptığı bir hayvan çalışmasında ratlarda 90 dk. süresince hepatik iskemi modeli oluşturmuşlardır. Sonrasında reperfüzyona maruz bırakılan ve GB uygulanan ratlarda serum ALT, AST, LDH ve doku TBARS seviyelerinin düştüğü gözlenmiş ve bu nedenle GB'nin post iskemik-reperfüzyon hasarının önlenmesinde etkin olduğu sonucuna varılmıştır.

Özdemir ve ark. (2011) yaptığı 21 ratlık bir hayvan çalışmasında %100 CO₂'e maruz bırakılarak intestinal iskemi oluşturulan ratlarda profilaktik GB uygulamasının

koruyucu etkisinin olduğu, histopatolojik hasarı anlamlı derecede azalttığı sonucuna varılmıştır.

Yapılan bu çalışmalarda GB'nin oksidatif hasara karşı akciğer, karaciğer ve beyin ve sinir dokularını koruyan ve iyileşmesini hızlandıran güçlü bir antioksidan olduğu rapor edilmiştir. Daha önce yapılmış bilimsel çalışmaların sonuçları, GB'nin nöroprotektif ve rejeneratif etkisinin incelendiği bu tez çalışmasının sonuçları ile uyumaktadır. Yapılan çalışmalara bakılarak, GB'nin sadece sinir dokusunda değil vücudun birçok farklı dokularında rejeneratif ve protektif etki gösterdiği ve sinir dokusundaki iyileştirici etkisinin oksidatif hasara karşı etkili bir antioksidan olmasından kaynaklanabileceği söylenebilir.

Rejenerasyonu tam olarak stereoloji sonuçları vermektedir. EMG ve SFI çalışmaları ile stereoloji sonuçları desteklenmek istenmiştir. Çalışma sonuçları karşılaştırıldığında bu 3 çalışmanın sonuçlarının birbiriyle uyumlu olduğunu söyleyebiliriz.

Ezilme tarzı hasar oluşturulan siyatik sinirde lokal ve sistemik uygulanan NS ve GB'nin rejenerasyona katkısı incelenmiştir. Stereoloji, EMG ve SFI çalışmalarının bütün kriterlerinde lokal NS uygulamasının sinir rejenerasyonunu istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı sonucuna varılmıştır.

Lokal GB uygulamasının stereoloji çalışmasında miyelinli akson sayısı açısından, EMG çalışmasında latans değerleri açısından, rejenerasyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı, akson alanı, miyelin kılıf kalınlığı ve amplitüt değerleri açısından ise rejenerasyonu arttırmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadığı sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Çalışmamızda tüm gruplarda, farklı boyutlarda sinir rejenerasyonunun elde edilmesi, çalışmada izlediğimiz yöntemin ve kullandığımız inceleme metodlarının doğruluğunu göstermektedir.

- Bu çalışma, literatürde lokal NS uygulamasının, siyatik sinir hasarı üzerine etkisini inceleyen ilk çalışma olduğundan dolayı literatüre önemli bir katkı sunmaktadır.

- Hasarlı sinir üzerine lokal NS uygulamasının, sinir rejenerasyonunu tüm rejenerasyon değerlerinde istatistiksel olarak arttırdığı ve hiç hasar oluşturulmamış kontrol gruplarına yakın değerler gösterdiği sonucuna varılmıştır. Bu alanda yapılacak yeni çalışmalarla, cerrahi işlem esnasında hasar gören sinir üzerine, rejenerasyonu hızlandırmak amacıyla, lokal uygulanabilen, standardize edilmiş NS ekstrelerini içeren, ilaçlar üretilebilir.

- Hasarlı sinir üzerine lokal GB uygulamasının sinir rejenerasyonunu miyelinli akson sayısı ve latans değerleri açısından istatistiksel olarak arttırdığı, diğer değerler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olmadığı sonucuna varılmıştır. Daha yüksek dozlarda lokal GB uygulamasının sinir rejenerasyonunu akson alanı, miyelin kılıf kalınlığı, amplitüt ve SFI değerleri açısından da arttıracığı düşünülebilir, bunun için daha yüksek dozların kullanıldığı yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

- Sistemik NS ve sistemik GB uygulamasının rejenerasyon değerlerini bir miktar artırmakla birlikte bu artışın sinir rejenerasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna varılmıştır. Sistemik uygulanan NS ve GB dozlarının, sürelerinin ve sıklıklarının artırılması ile bu uygulamaların sinir rejenerasyonunu istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırabileceği düşünülebilir. Bunun için bu maddelerin farklı dozda, sürede ve sıklıkta uygulanmasının sinir rejenerasyonuna etkisini inceleyen yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

- Lokal NS uygulamasının lokal GB uygulamasına göre rejenerasyonu daha fazla arttırdığı ama bu artışın sadece SFI değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu, EMG ve stereoloji değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna varılmıştır.

- Her iki maddenin lokal uygulamalarında, sistemik uygulamalarına göre daha iyi rejenerasyon değerleri gözlenmiştir.

- NS ve GB'nin, sinir rejenerasyonu üzerinde etkisinin, tam anlamıyla açığa kavuşturulması için bu alanda yapılacak insan çalışmalarına ihtiyaç vardır. Ancak böylelikle NS ve GB'nin sinir rejenerasyonunda, bir ilaç olarak yaygın bir şekilde kullanıldığını görmeye başlayabiliriz.



KAYNAKLAR

- Ab Rahman MR, Abdul Razak F, Mohd Bakri M. Evaluation of Wound Closure Activity of *Nigella sativa*, *Melastoma malabathricum*, *Pluchea indica*, and *Piper sarmentosum* Extracts on Scratched Monolayer of Human Gingival Fibroblasts. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014;2014:190342.
- Abu-Al-Basal MA. Influence of *Nigella sativa* fixed oil on some blood parameters and histopathology of skin in staphylococcal-infected BALB/c mice. *Pak J Biol Sci* 2011;14(23):1038-46.
- Acar M, Karacalar A, Ayyıldız M, Unal B, Canan S, Agar E, Kaplan S. The effect of autogenous vein grafts on nerve repair with size discrepancy in rats: An electrophysiological and stereological analysis. *J Brain Research* 2008;1198: 171-181.
- Agbaria R, Gabarin A, Dahan A, Ben-Shabat S. Anticancer activity of *Nigella sativa* (black seed) and its relationship with the thermal processing and quinone composition of the seed. *Drug Design, Development and Therapy* 2015;9:3119-3124.
- Ahlemeyer B, Krieglstein J. Neuroprotective effects of *Ginkgo biloba* extract. *Cell Mol Life Sci* 2003;60(9):1779-1792.
- Ahmad A, Husain A, Mujeeb M, Khan SA, Najmi AK, Siddique NA, Damanhoury ZA, Anwar F. A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pac J Trop Biomed* 2013;3(5):337-52.
- Akakan MA, Demirkan AÇ. Stereoloji ve Veteriner Hekimlikte Kullanım Alanları. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi* 2013;24(2):95-100.
- Akbay A. Periferik sinir mikroanatomi ve sinir kesilerinde uygulanan cerrahi teknikler. *Türk Nöroşirürji Dergisi* 2005;15(3):198-201.
- Al-Ghamdi MS. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*. *J Ethnopharmacol* 2001;76(1):45-48.
- Algora J, Chen LE, Seaber AV, Wong GH, Urbaniak JR. Functional effects of lymphotoxin on crushed peripheral nerve. *Microsurgery* 1996;17(3):131-5.
- Aljabre SH, Randhawa MA, Akhtar N, Alakloby OM, Alqurashi AM, Aldossary A. Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. *J Ethnopharmacol* 2005;101(1-3):116-119.
- Al-Majed AA, Al-Omar FA, Nagi MN. Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus. *European Journal of Pharmacology* 2006;543(1):40-47.

- Al Moutaery K, Arshaduddin M, Tariq M, Al Deeb S. Functional recovery and vitamin E level following sciatic nerve crush injury in normal and diabetic rats. *Int J Neurosci* 1998;96:245–254.
- Al-Okbi SY, Ammar NM, Soroor K, Mohammed DA. Impact of natural oils supplements on disease activity and antioxidant state of Egyptian patients with rheumatoid arthritis. *Medical Journal of Islamic Academy of Sciences* 2000;13(4):161-171.
- Assayed ME. Radioprotective effects of black seed (*Nigella sativa*) oil against hemopoietic damage and immunosuppression in gamma-irradiated rats. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2010;32(2):284-296.
- Awad EM. In vitro decreases of the fibrinolytic potential of cultured human fibrosarcoma cell line, HT1080, by *Nigella sativa* oil. *Phytomedicine* 2005;12(1-2):100-107.
- Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic peroneal and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg* 1989;83(1):129-36.
- Bamosa AO, Ali BA, Sawayan S. Effect of oral ingestion *Nigella sativa* seeds on some blood parameters. *Saudi Pharmaceutical Journal* 1997;5:126-129.
- Barbosa RA, Nunes TL, Paixao AO, Neto RB, Moura S, Albuquerque Junior RL, Candido EA, Padilha FF, Quintans-Junior LJ, Gomez MS, Cardoso JC. Hydroalcoholic extract of red propolis promotes functional recovery and axon repair after sciatic nerve injury in rats. *Pharm Biol* 2015;29:1-12.
- Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. *Ganong's Review of Medical Physiology*, 24. Baskı, New York, McGraw-Hill Medical 2012; 155-175.
- Baydar H. *Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi*, 1.Baskı, Isparta, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları. 2005; 157-159.
- Baykal S, Boz C, Cakır E, Baytan SH, Karakus M, Kuzeyli K. The effects of pentoxifylline in experimental nerve injury. *Turk J Med Sci* 2002;32:207-10.
- Berne RM, Levy MN, Koepfen BM, Stanton BA. *Fizyoloji*. 5. Baskı, Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri. 2008; 22-43, 84-85.
- Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res* 2000;14(5):323-328.
- Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus* 2004;16(5):1-7.
- Badary OA, Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Hamada FM. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology* 2000;143(3):219-226.

- Bozkurt G, Benli K. Periferik Sinir Yaralanmaları. In: Benli K (editör) Temel Nöroşirürji. 1. Baskı, Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları. 2004; 319-327.
- Campbell WW. Evaluation and management of peripheral nerve injury. Clin Neurophysiol 2008;119:1951-1965.
- Chao JC, Hung HC, Chen SH, Fang CL. Effects of Ginkgo biloba extract on cytoprotective factors in rats with duodenal ulcer. World J Gastroenterol 2004;10(4):560-6.
- Cheng D, Liang B, Li Y. Antihyperglycemic effect of Ginkgo biloba extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. Biomed Res Int 2012;2013:162724.
- Chung HS, Harris A, Kristinsson JK, Ciulla TA, Kagemann C, Ritch R. Ginkgo biloba extract increases ocular blood flow velocity. J Ocul Pharmacol Ther 1999;15(3):233-240.
- Defeudis FV. Bilobalide and neuroprotection. Pharmacol Res 2002;46(6):565-568.
- Demir H, Kanter M, Coşkun Ö, Uz YU, Koç A, Yıldız A. Effect of black cumin (Nigella sativa) on heart rate, some hematological values, and pancreatic β -cell damage in cadmium-treated rats. J Biological Trace Element Research 2006; 110(2):151-162.
- Demiray O, Mecit N, Gönüllü D, Şimşek A, Köksoy FN, Yücel O, İşman F. İntestinal iskemi-reperfüzyon oluşturulan ratlarda PAF antagonisti ginkgo biloba EGB 761'in bağırsak anastomoz iyileşmesi üzerine etkisi. Ulusal Cerrahi Dergisi 2005;21(2):58-63.
- El-Dakhakhny M, Barakat M, El-Halim MA, Aly SM. Effects of Nigella sativa oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. J Ethnopharmacol 2000;72(1-2):299-304.
- El-Mahmoudy A, Matsuyama H, Borgan MA, Shimizu Y, El-Sayed MG, Minamoto N, Takewaki T. Thymoquinone suppresses expression of inducible nitric oxide synthase in rat macrophages. Int Immunopharmacol 2002;2(11):1603-1611.
- Erdoğan H, Fadillioglu E, Kotuk M, Iraz M, Tasdemir S, Oztas Y, Yildirim Z. Effects of Ginkgo biloba on plasma oxidant injury induced by bleomycin in rats. Toxicol Ind Health 2006;22(1):47-52.
- Erkut A, Cure MC, Kalkan Y, Balik MS, Güvercin Y, Yaprak E, Yüce S, Şehitoğlu I, Cure E. Protective effects of thymoquinone and alpha-tocopherol on the sciatic nerve and femoral muscle due to lower limb ischemia-reperfusion injury. European Review for Medical and Pharmacological Sciences 2016;20(6):1192-1202.
- Fararh KM, Atoji Y, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Takewaki T. Mechanisms of the hypoglycaemic and immunopotentiating effects of Nigella sativa L. oil in streptozotocin-induced diabetic hamsters. Res Vet Sci 2004;77(2):123-129.

- Fitzgerald MJT, Folan-Curran J. *Clinical Neuroanatomy and Related Neuroscience*, 4. Baskı, Edinburg, W.B.Saunders Company. 2002; 65-71.
- Ghosheh OA, Houdi AA, Crooks PA. High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L.). *J Pharm Biomed Anal* 1999;19(5):757-762.
- Grant GA, Goodkin R, Kliot M. Evaluation and surgical management of peripheral nerve problems. *Neurosurgery* 1999;44:825-840.
- Gudemez E, Ozer K, Cunningham B, Siemionow K, Browne E, Siemionow M. Dehydroepiandrosterone As An Enhancer Of Functional Recovery Following Crush Injury to rat sciatic nerve. *Microsurgery* 2002;22:234–241.
- Gurung RL, Lim SN, Khaw AK, Soon JF, Shenoy K, Mohamed Ali S, Jayapal M, Sethu S, Baskar R, Hande MP. Thymoquinone induces telomere shortening, DNA damage and apoptosis in human glioblastoma cells. *PLoS One* 2010;5(8):12124.
- Güleç M, Yılmaz HR, Ağılarmış S, Söğüt S. Sisplatin Nefrotoksisitesi Oluşturulan Sıçanların Plazma Glutasyon Peroksidaz, Süperoksit Dismutaz, Adenozin Deaminaz Aktiviteleri ve Nitrik Oksit Seviyelerine Ginkgo Biloba Ekstraktının Etkileri. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 2004;24(6):585-591.
- Herbyclopedia 2016. <http://www.herbyclopedia.com/item/nigella-sativa>, 2016.
- Ho LJ, Hung LF, Liu FC, Hou TY, Lin LC, Huang CY, Lai JH. Ginkgo biloba extract individually inhibits JNK activation and induces c-Jun degradation in human chondrocytes: potential therapeutics for osteoarthritis. *PLoS One* 2013;8(12):82033.
- Hobbenaghi R, Javanbakht J, Sadeghzadeh S, Kheradmand D, Abdi FS, Jaber MH, Mohammadiyanf MR, Khadivarg F, Mollaei Y. Neuroprotective effects of *Nigella sativa* extract on cell death in hippocampal neurons following experimental global cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. *Journal of The Neurological Sciences* 2014;337(1):74-79.
- Hosseinzadeh H, Parvardeh S. Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice. *Phytomedicine* 2004;11(1):56-64.
- Hsu SH, Chang CJ, Tang CM, Lin FT. In vitro and in vivo effects of Ginkgo biloba extract EGb 761 on seeded Schwann cells within poly (DL-lactic acid-co-glycolic acid) conduits for peripheral nerve regeneration. *Journal of Biomaterials Applications* 2004;19.2:163-182.
- Hunt CG. Peripheral nevre biomechanics: Application to neuromobilization approaches. *Phys Ther* 2002;7:111-121.

- Iddamaldeniya SS, Wickramasinghe N, Thabrew I, Ratnatunge N, Thammitiyagodage MG. Protection against diethylnitrosoamine-induced hepatocarcinogenesis by an indigenous medicine comprised of *Nigella sativa*, *Hemidesmus indicus* and *Smilax glabra*: a preliminary study. *J Carcinog* 2003;2(1):6.
- Islamov RR, Hendricks WA, Jones RJ, Lyall GL, Spanier NS, Murashov AK. 17 β -Estradiol stimulates regeneration of sciatic nerve in female mice. *Brain Res* 2002;943:283–286.
- Jang CH, Cho YB, Choi CH. Effect of ginkgo biloba extract on recovery after facial nerve crush injury in the rat. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2012;76(12):1823-6.
- Javanbakht J, Hobbenaghi R, Hosseini E, Bahrami AM, Khadivar F, Fathi S, Hassan MA. Histopathological investigation of neuroprotective effects of *Nigella sativa* on motor neurons anterior horn spinal cord after sciatic nerve crush in rats. *Pathol Biol (Paris)* 2013;61(6):250-253.
- Junquera CL, Carneiro J. *Basic Histology, Text&Atlas*, 11. Baskı, USA, McGraw-Hill Companies 2005; 153-154.
- Kalus U, Pruss A, Bystron J, Jurecka M, Smekalova A, Lichius JJ, Kiesewetter H. Effect of *Nigella sativa* (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases. *Phytother Res* 2003;17(10):1209-1214.
- Kanter M, Meral I, Yener Z, Ozbek H, Demir H. Partial regeneration/proliferation of the beta-cells in the islets of Langerhans by *Nigella sativa* L. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Tohoku J Exp Med* 2003;201(4):213-219.
- Kanter M, Demir H, Karakaya C, Ozbek H. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. *World J Gastroenterol* 2005;11(42):6662-6666.
- Kanter M, Coskun O, Kalayci M, Buyukbas S, Cagavi F. Neuroprotective effects of *Nigella sativa* on experimental spinal cord injury in rats. *Hum Exp Toxicol* 2006a;25(3):127-133.
- Kanter M, Coşkun O, Uysal H. The antioxidative and antihistaminic effect of *Nigella sativa* and its major constituent, thymoquinone on ethanol-induced gastric mucosal damage. *Arch Toxicol* 2006b;80(4):217-24.
- Kanter M. Effects of *Nigella sativa* and its major constituent, thymoquinone on sciatic nerves in experimental diabetic neuropathy. *Neurochemical Research* 2008a; 33(1):87-96.
- Kanter M. *Nigella sativa* and derived thymoquinone prevents hippocampal neurodegeneration after chronic toluene exposure in rats. *Neurochem Res* 2008b;33(3):579-588.

- Kanter M. Protective effects of *Nigella sativa* on the neuronal injury in frontal cortex and brain stem after chronic toluene exposure. *Neurochemical research* 2008c, 33.11: 2241-2249.
- Kaplan S, Geuna S, Ronchi G, Ulkay MB, von Bartheld CS. Calibration of the stereological estimation of the number of myelinated axons in the rat sciatic nerve: a multicenter study. *J Neurosci Methods* 2010;187(1):90-9.
- Kaplan S, Pişkin A, Ayyıldız M, Aktaş A, Köksal B, Ulkay MB, Türkmen AP, Bakan F, Geuna S. The Effect of Melatonin and Platelet Gel on Sciatic Nerve Repair: an Electrophysiological and Stereological study. *J Microsurgery* 2011;31(4):306–313.
- Kaplan S, Canan S, Altunkaynak ME, Odaci E, Aslan H, Unal B. An unbiased way to estimate total quantities: the fractionator technique. *Neuroquantology* 2012a;10(1):54-65.
- Kaplan S, Odaci E, Canan S, Onger ME, Aslan H, Unal B. The disector counting technique. *Neuroquantology* 2012b;10(1):44-53.
- Kar Y, Sen N, Tekeli Y. Samsun yöresinde ve Mısır ülkesinde yetiştirilen çörekotu (*Nigella sativa* L.) tohumlarının antioksidan aktivite yönünden incelenmesi. *Süleyman Demirel Üniv. Fen Edebiyat Fak. Fen Derg* 2007;2:197-203.
- Kaya MS, Kara M, Özbek H. Çörek otu (*Nigella sativa*) tohumunun insan hücrel bağışıklık sisteminin CD3+, CD4+, CD8+ hücreleri ve toplam lökosit sayısı üzerine etkileri. *Genel Tıp Derg* 2003;13:109-112.
- Kaya Y, Sarıkcıoğlu L. Sciatic Nerve Injury Models. *Turkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics* 2014;7(2):5-11.
- Keleş MS, Demirci N, Yıldırım A, Atamanalp SS, Altinkaynak K. Protective effects of N-acetylcysteine and Ginkgo biloba extract on ischaemia-reperfusion-induced hepatic DNA damage in rats. *Clin Exp Med* 2008;8(4):193-198.
- Keskin M, Akbaş H, Uysal A, Canan S, Ayyıldız M, Açar E, Kaplan S. Enhancement of Nerve Regeneration and Orientation across a Gap with a Nerve Graft within a Vein Conduit Graft: A Functional, Stereological, and Electrophysiological Study. *Plast Reconstr Surg* 2004;113(5):1372-1379.
- Khan MA, Ashfaq MK, Zuberi HS, Mahmood MS, Gilani AH. The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from *Nigella sativa* seeds. *Phytother Res* 2003a;17(2):183-186.
- Khan N, Sharma S, Sultana S. *Nigella sativa* (black cumin) ameliorates potassium bromate-induced early events of carcinogenesis: diminution of oxidative stress. *Hum Exp Toxicol* 2003b;22(4):193-203.

- Kızkın S, İlhan A, Özışık HI, Özcan C. Vertebro baziler Yetmezlikte Ginkgo biloba Ekstrelerinin Transkraniyal Doppler Ultrasonografi İle Değerlendirilmesi: Ön Çalışma. İnönü Üniv. Tıp Fak. Derg 2003;10(2):63-66.
- Kierszenbaum A. Sinir dokusu. In: Demir R, editör. Histoloji hücre biyolojisi, patolojiye giriş. 1. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık. 2006; 202-220.
- Kim J, Yokoyama K, Araki S. The effects of Ginkgo biloba extract (GBe) on axonal transport microvasculature and morphology of sciatic nerve in streptozotocin-induced diabetic rats. Environmental Health and Preventive Medicine 2000;5(2):53-59.
- Kirui PK, Cameron J, Benghuzzi HA, Tucci M, Patel R, Adah F, Russell G. Effects of sustained delivery of thymoquinone on bone healing of male rats. Biomed Sci Instrum 2004;40:111-6.
- Klein J, Chatterjee SS, Loffelholz K. Phospholipid breakdown and choline release under hypoxic conditions: inhibition by bilobalide, a constituent of Ginkgo biloba. Brain Res 1997;755(2):347-350.
- Koçbeker A, Oğuz H. Periferik sinir anatomi ve fizyolojisi. In: Oğuz H, editors. Tıbbi rehabilitasyon. İstanbul, 1. Baskı, Tayf Ofset. 1995; 71-72.
- Köse K, Dogan P. Lipoperoxidation induced by hydrogen peroxide in human erythrocyte membranes. 2. Comparison of the antioxidant effect of Ginkgo biloba extract (EGb 761) with those of water-soluble and lipid-soluble antioxidants. J Int Med Res 1995;23(1):9-18.
- Lawrence R, Robinson LR. Traumatic injury to peripheral nerves. Muscle Nerve 2000;23:863-873.
- Lee EJ, Chen HY, Wu TS, Chen TY, Ayoub IA, Maynard KI. Acute administration of Ginkgo biloba extract (EGb 761) affords neuroprotection against permanent and transient focal cerebral ischemia in Sprague-Dawley rats. J Neurosci Res 2002;68(5):636-645.
- Lee JH, Kim YG, Ryu SY, Cho MH, Lee J. Ginkgolic acids and Ginkgo biloba extract inhibit Escherichia coli O157:H7 and Staphylococcus aureus biofilm formation. Int J Food Microbiol 2014;174:47-55.
- Lee M, Doolabh VB, Mackinnon SE, Jost S. FK506 promotes functional recovery in crushed rat sciatic nerve. Muscle Nerve 2000;23:633-640.
- Lei Z, QingJun L, Hong C, HuaWei D, Ping B, Qing L, Yong N, YuFei D, YuXin Z. The Effect of 2, 5-hexanedione on Myelin Protein Zero Expression, and Its Mitigation Using Ginkgo Biloba Extract. Biomedical and Environmental Sciences 2011;24(4):374-382.
- Lin H, Wang H, Chen D, Gu Y. A dose-effect relationship of Ginkgo biloba extract to nerve regeneration in a rat model. Microsurgery 2007a;27(8):673-677.

- Lin H, Wang H, Chen D, Li J, Gu Y. Effect of extract of ginkgo biloba leaves on proliferation of SCs cultured in vitro. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery* 2008;22(9):1047-1050.
- Lin H, Wang H, Chen D, Li J, Gu Y. Effect of extract of ginkgo biloba leaves on proliferation of SCs cultured in vitro. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery* 2008;22(9):1047-1050.
- Lin HD, Wang H, Chen DS, Li JF, Gu YD. Effect of extract of Ginkgo biloba leaves on expression of inducible nitric oxide synthase after sciatic nerve injury: experiment with rats. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2007b;87(7):485-8.
- Liu KX, Wu WK, He W, Liu CL. Ginkgo biloba extract (EGb 761) attenuates lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion in rats: roles of oxidative stress and nitric oxide. *World J Gastroenterol* 2007;13(2):299-305.
- Logani S, Chen MC, Tran T, Le T, Raffa RB. Actions of Ginkgo Biloba related to potential utility for the treatment of conditions involving cerebral hypoxia. *Life Sci* 2000;67(12):1389-1396.
- Lu JM, Yan S, Jamaluddin S, Weakley SM, Liang Z, Siwak EB, Yao Q, Chen C. Ginkgolic acid inhibits HIV protease activity and HIV infection in vitro. *Med Sci Monit* 2012;18(8):293-298.
- Luis, AL, Amado S, Guena S, Rodrigues JM, Simões MJ, Santos JD, Fregand F, Raimondod S, Prieto Velosoc A, Ferreira AJA. Long-term functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. *Journal of Neuroscience Methods* 2007;163(1):92-104.
- Mackinnon SE, Hudson AR, Hunter DA. Histologic assessment of nerve regeneration in the rat. *Plast Reconstr Surg* 1985;75(3):384-8.
- MacLennan KM, Darlington CL, Smith PF. The CNS effects of Ginkgo biloba extracts and ginkgolide B. *Prog Neurobiol* 2002;67(3):235-257.
- Mahadevan S, Park Y. Multifaceted therapeutic benefits of Ginkgo biloba L.: chemistry, efficacy, safety, and uses. *J Food Sci* 2008;73(1):14-19.
- Mancuso C, Siciliano R, Barone E, Preziosi P. Natural substances and Alzheimer's disease: from preclinical studies to evidence based medicine. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 2012;1822(5):616-624.
- Martins RS, Bastos D, Siqueira MG, Heise CO, Teixeira MJ. Traumatic injuries of peripheral nerves: a review with emphasis on surgical indication. *Arq Neuropsiquiatr* 2013;71(10):811-4.
- McKenna DJ, Jones K, Hughes K. Efficacy, safety, and use of ginkgo biloba in clinical and preclinical applications. *Altern Ther Health Med* 2001;7(5):70-86, 88-90.

- Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ, An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol* 1982;77(3):634-43.
- Mills SE. *Histology For Pathologists*, 3. Baskı, USA, Lippincott Williams & Wilkins. 2007; 244-246.
- Morsi NM. Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics-resistant bacteria. *Acta Microbiol Pol* 2000;49(1):63-74.
- Mumenthaler M, Stöhr M, Müller-Vahl H. *Periferik Sinir Lezyonları ve Radiküler Sendromlar*. 2. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. 2005; 14-16, 92.
- Nakanishi K. Terpene trilactones from *Ginkgo biloba*: from ancient times to the 21st century. *Bioorg Med Chem* 2005;13(17):4987-5000.
- Nergiz C, Ötleş S. Chemical composition of *Nigella sativa* L. seeds. *Food Chemistry* 1993;48(3):259-261.
- Önger ME, Altun G, Aydın I, Kıvrak EG, Yurt KK, Altunkaynak BZ, Kaplan S. Periferik Sinir İçin Stereolojik İnceleme Yöntemi. *Türkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics* 2014;7(2):56-60.
- Özdemir OM, Ergin H, Yenisey C, Turk NS. Protective effects of *Ginkgo biloba* extract in rats with hypoxia/reoxygenation-induced intestinal injury. *J Pediatr Surg* 2011;46(4):685-690.
- Pak Y. *Siyatik Sinir Hasarına Karşı Epigallokateşin 3-Gallat (EGCG) ve Ginkgo Biloba (EGb 761)'nın Etkilerinin İncelenmesi*. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, Yüksek Lisans Tezi, 2011; 1-71.
- Paydarfar JA, Paniello RC. Functional study of four neurotoxins as inhibitors of post-traumatic nerve regeneration. *Laryngoscope* 2001;111:844–850.
- Pişkin A, Kaplan S, Aktaş A, Ayyıldız M, Raimondo S, Aliç T, Bozkurt HH, Geuna S. Platelet Gel Does Not Improve Peripheral Nerve Regeneration: An Electrophysiological, Stereological, and Electron Microscopic Study. *J Microsurgery* 2009;29(2):144-153.
- Rastogi L, Feroz S, Pandey BN, Jagtap A, Mishra KP. Protection against radiation-induced oxidative damage by an ethanolic extract of *Nigella sativa* L. *Int J Radiat Biol* 2010;86(9):719-731.
- Riffel AP, Souza JA, Santos MD, Horst A, Scheid T, Kolberg C, Bello-Klein A, Partata WA. Systemic administration of vitamins C and E attenuates nociception induced by chronic constriction injury of the sciatic nerve in rats. *Brain Res Bull* 2016;121:169-177.

- Salem ML, Hossain MS. Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection. *Int J Immunopharmacol* 2000;22(9):729-740.
- Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Int Immunopharmacol* 2005;5(13-14):1749-1770.
- Saleem S, Zhuang H, Biswal S, Christen Y, Dore S. Ginkgo biloba extract neuroprotective action is dependent on heme oxygenase 1 in ischemic reperfusion brain injury. *Stroke* 2008;39(12):3389-3396.
- Salim EI, Fukushima S. Chemopreventive potential of volatile oil from black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds against rat colon carcinogenesis. *Nutr Cancer* 2003;45(2):195-202.
- Sarı H. Periferik sinir yaralanmaları. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2007;3(10):8-18.
- Shen J, Lee W, Gu Y, Tong Y, Fung PC, Tong L. Ginkgo biloba extract (EGb761) inhibits mitochondria-dependent caspase pathway and prevents apoptosis in hypoxia-reoxygenated cardiomyocytes. *Chin Med* 2011;6(1):1.
- Singh B, Kaur P, Gopichand, Singh RD, Ahuja PS. Biology and chemistry of Ginkgo biloba. *Fitoterapia* 2008;79(6):401-418.
- Smith JV, Luo Y. Studies on molecular mechanisms of Ginkgo biloba extract. *Appl Microbiol Biotechnol* 2004;64(4):465-472.
- Sunderland S. The anatomy and physiology of nerve injury. *Muscle Nerve* 1990;13:771-784.
- Thomas MB. Nerve Repair and Grafting. In: Green DP, Hotchkiss RN, Pederson WC, editors. *Green's Operative Hand Surgery*. 4. Baskı, Philadelphia, Churchill Livingstone. 1999; 1381-404.
- Toptaş A. Çörekotu Tepeden Tırnağa Şifa Deryası. 1. Baskı, İstanbul, Gonca Yayınevi, 2008; 1-239.
- Torres MP, Ponnusamy MP, Chakraborty S, Smith LM, Das S, Arafat HA, Batra SK. Effects of thymoquinone in the expression of mucin 4 in pancreatic cancer cells: implications for the development of novel cancer therapies. *Mol Cancer Ther* 2010;9(5):1419-1431.
- Türkdoğan MK, Agaoglu Z, Yener Z, Sekeroglu R, Akkan HA, Avcı ME. The role of antioxidant vitamins (C and E), selenium and *Nigella sativa* in the prevention of liver fibrosis and cirrhosis in rabbits: new hopes. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 2001;108(2):71-73.
- Türkdoğan MK, Ozbek H, Yener Z, Tuncer I, Uygan I, Ceylan E. The role of *Urtica dioica* and *Nigella sativa* in the prevention of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Phytother Res* 2003;17(8):942-946.

- Van Beek TA. Ginkgolides and bilobalide: their physical, chromatographic and spectroscopic properties. *Bioorg Med Chem* 2005;13(17):5001-5012.
- Varlı K. Periferik sinir yaralanmalarında elektromiyografi. *Türk Nöroşirürji Derg* 2005;15(3):202-205.
- Waxman SG. Sinir Dokusu: Korrelatif Nöroanatomi. 24. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd Sti, 2002; 8-19.
- Widmaier EP, Raff H, Strang KT. *Vander İnsan Fizyolojisi*, 10. Baskı, İzmir, Güven Kitabevi. 2010; 158-175.
- Wikipedia 2016. https://en.wikipedia.org/wiki/Nigella_sativa, 2016.
- Xia SH, Fang DC. Pharmacological action and mechanisms of ginkgolide B. *Chin Med J (Engl)* 2007;120(10):922-928.
- Xin W, Wei T, Chen C, Ni Y, Zhao B, Hou J. Mechanisms of apoptosis in rat cerebellar granule cells induced by hydroxyl radicals and the effects of EGb761 and its constituents. *Toxicology* 2000;148(2-3):103-110.
- Yağmurca M, Orhan B, Şahin Ö, Nacar A, Yüksel Ş, Narcı A. Ratlarda Sisplatin İle İndüklenmiş Böbrek Hasarına Karşı Melatonin ve Ginkgo Bilobanın Koruyucu Etkileri. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2007;8(2):29-34.
- Yılmaz D, Şenoğlu M, Kurutaş EB, Çıraklık H, Özbağ D. Neuroprotective Effects of Mannitol And Vitamin C on Crush Injury of Sciatic Nerve; An Experimental Rat Study. *Journal of Neurological Sciences (Turkish)* 2011;28(4):538-551.
- Yüce S, Cemal Gökçe E, Işıkdemir A, Koç ER, Cemil DB, Gökçe A, Sargon MF. An experimental comparison of the effects of propolis, curcumin, and methylprednisolone on crush injuries of the sciatic nerve. *Ann Plast Surg* 2015;74(6):684-92.
- Zaoui A, Cherrah Y, Lacaille-Dubois MA, Settaf A, Amarouch H, Hassar M. Diuretic and hypotensive effects of *Nigella sativa* in the spontaneously hypertensive rat. *Therapie* 2000;55(3):379-382.
- Zhang D, Wu R, Kang H, Hong G, Kang S, Zhang Z. The Protective Effect of EGB761 on Vessels of Denervated Gastrocnemius in Rats and Its Mechanism. *J Huazhong Univ Sci Technol (Med Sci)* 2011;31(6):789-793.
- Zhao L, Liu Q, Chen H, Duan H, Bin P, Liu Q, Niu Y, Dai Y, Zheng Y. The Effect of 2,5hexanedione on Myelin Protein Zero Expression, and Its Mitigation Using Ginkgo Biloba Extract. *J Biomed Environ Sci* 2011;24(4):374-382.
- Zhu Z, Zhou X, He B, Dai T, Zheng C, Yang C, Zhu S, Zhu J, Zhu Q, Liu X. Ginkgo Biloba Extract (EGb 761) Promotes Peripheral Nerve Regeneration and Neovascularization After Acellular Nerve Allografts in a Rat Model. *Cellular and Molecular Neurobiology* 2015;35(2):273-282.

EKLER

EK 1- Etik Kurul Onayı



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
SAMSUN

Sayı : B.30.2.ODM.0.20.09.00-050.04 -63
Konu : Araştırma Projeniz hk.

02/09/2013

Prof. Dr. Nergiz YILMAZ
Dış Hekimliği Fakültesi Ağız Dış Çene Hastalıkları Anabilim Dalı

2013/38 numaralı "ÇÖREK OTU (NİGELLA SATİVA), MABET AĞACI (GİNKGO BİLOBA)' NİN SİNİR REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ" konu başlıklı Projeniz; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 28.08.2013 tarihli toplantısında görüşülmüş, Hayvan Hakları ve Deney Etiği açılarından uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Araştırmanın yürütüldüğü süreç içinde etik kurallar ve hayvan haklarına uygunluk yönünden sorumluluk araştırmacılara ait olmak kaydıyla ve 6 aylık dönemler halinde Çalışma Raporu verilmesi şartıyla çalışmanıza başlamanız uygun görülmüştür.

Prof. Dr. R. Cankon GERMİYANOĞLU
HADYEK Başkan

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Halil İbrahim EVMEK

Doğum Yeri: Kumru/Ordu

Doğum Tarihi: 16.03.1985

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce (ÜDS: 67)

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Yeşiltepe ilkokulu (Zonguldak-1993)

Yeşilirmak İlkokulu (Samsun-1996)

Samsun Anadolu İHL (1996-2000)

Ordu Fen Lisesi (2000-2003)

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (2004-2009)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi AD (2011-2016)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Özel Beyaz Çizgi Ağız Diş Sağlığı Polikliniği, İstanbul (2009-2010)

Tunceli Jandarma Bölge Komutanlığı (Diş Tabibi Asteğmen), (2010-2011)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi AD, Samsun (2011-2015)

T.C. Sağlık Bakanlığı İzzet Baysal Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi, Bolu (2015-)

E-posta: hievme@hotmai.com