



T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

**“SIÇANLARDA, YAĞ DOKUSU KÖKENLİ KÖK HÜCRE  
UYGULAMASININ PERİFERİ--K SİNİR ONARIMINA ETKİSİ”**

**Metin KOCACAN**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Danışman  
Prof. Dr. Ender ERDOĞAN**

**Konya-2014**

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

**SIÇANLARDA, YAĞ DOKUSU KÖKENLİ KÖK HÜCRE  
UYGULAMASININ PERİFERİK SİNİR ONARIMINA ETKİSİ**

**Metin KOCACAN**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Danışman  
Prof. Dr. Ender ERDOĞAN**

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 14102011 proje numarası ile desteklenmiştir.

**Konya-2014**

## ÖNSÖZ

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ender ERDOĞAN gözetiminde hazırlanmış olup, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı'na tıpta uzmanlık eğitimi bitirme tezi olarak sunulmuştur.

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam sırasında bilgi ve görüşleriyle yanımda olan, yönlendiren ve bu tez çalışmasının ortaya çıkmasına çok emek harcayan sayın hocam Prof. Dr. Ender ERDOĞAN'a,

Ayrıca eğitimime ve çalışmama ilgi ve katkıları ile destek olan, eğitim sürem boyunca mesai içinde ve dışında çok güzel anılar paylaştığım Histoloji ve Embriyoloji Bölümü'ndeki mesai arkadaşlarıma,

Bu tez çalışmasında cerrahi konusunda yardımlarını esirgemeyen Plastik Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Zekeriya TOSUN ve Uz. Dr. M. Nebil SELİMOĞLU'na,

Tezin istatistik analizinde yardımlarını esirgemeyen Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Fatih KARA'ya,

Çocukluğumdan beri maddi manevi desteklerini hep arkamda hissettiğim sevgili anne, babam ve ağabeyime,

Son olarak, her alanda olduğu gibi çalışma ve tez yazım süresince de desteğini, sabrını esirgemeyen sevgili eşim Dr. Fatma Nur KOCACAN'a ve moral kaynaklarım kızım Emine Zülâl ve oğlum Semih'e teşekkür ederim.

## ii. İÇİNDEKİLER

<b>I. ÖNSÖZ</b> .....	<b>i</b>
<b>ii. İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>ii</b>
<b>iii. SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>iv</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>1. 1. Sinir Sistemi</b> .....	<b>2</b>
1. 1. 1. Nöronlar.....	2
1. 1. 2. Aksonal Madde Taşınması (Transport).....	4
1. 1. 3. Nöroglia (Gliya) Hücreleri .....	5
1. 1. 3. 1. Schwann Hücreleri ve Miyelin Kılıf.....	7
1. 1. 4. Merkezi Sinir Sistemi .....	9
1. 1. 5. Periferik Sinir Sistemi .....	10
1. 1. 5. 1. Periferik Sinir Histolojisi .....	11
1. 1. 5. 2. Periferik Sinir Embriyolojisi.....	13
1. 1. 5. 3. Periferik Sinir Fizyolojisi.....	14
1. 1. 5. 4. Sıçan Siyatik Siniri .....	16
1. 1. 5. 5. Periferik Sinirde Hasara Reaksiyon .....	18
Aksonal dejenerasyon .....	18
Segmental demiyelinizasyon.....	19
<b>1. 2. Kök Hücre Tanımı ve Özellikleri</b> .....	<b>21</b>
1. 2. 1. Kök Hücre Türleri .....	24
1. 2. 2. Yetişkin Kök Hücreler.....	26
1. 2. 3. Mezenkimal Kök Hücreler .....	26
1. 2. 4. Yağ Dokusu Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreler (ADSC) .....	28
1. 2. 4. 1. Yağ Doku Kökenli Kök Hücrelerin Doku Onarımında Etki Mekanizmaları .....	30
<b>1. 3. Periferik Sinir Yaralanması</b> .....	<b>32</b>
1. 3. 1. Periferik Sinir Onarım Prensipleri ve Zamanlaması .....	33
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>34</b>
<b>2. 1. Deney Gruplarının Belirlenmesi</b> .....	<b>34</b>
<b>2. 2. Yağ Dokusu Kökenli Kök Hücre Elde Edilmesi</b> .....	<b>35</b>
<b>2. 3. Cerrahi İşlemlerin Yapılması</b> .....	<b>36</b>

<b>2. 4. Değerlendirme Yöntemleri .....</b>	<b>39</b>
2. 4. 1. Frozen Kesitte İmmunoflüoresan Boyama Yöntemi .....	39
2. 4. 2. Histomorfolojik analiz .....	40
2. 4. 3. Yürüme Analizi ve Siyatik Fonksiyon İndeksi .....	41
2. 4. 4. İstatistiksel analiz .....	43
<b>3. BULGULAR .....</b>	<b>44</b>
<b>3. 1. Genel Değerlendirme Bulguları .....</b>	<b>44</b>
<b>3. 2. Yürüme Analizi ve Siyatik Fonksiyon İndeksi Bulguları.....</b>	<b>44</b>
<b>3. 3. Genel Histomorfolojik Değerlendirme Bulguları.....</b>	<b>47</b>
<b>3. 4. İmmunohistokimyasal Değerlendirme Bulguları.....</b>	<b>51</b>
3. 4. 1. PGP 9,5.....	51
3. 4. 2. S-100 .....	54
3. 4. 3. DAPI.....	56
<b>4. TARTIŞMA .....</b>	<b>64</b>
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>73</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>74</b>
<b>7. ÖZET.....</b>	<b>80</b>
<b>8. SUMMARY .....</b>	<b>81</b>
<b>9. EKLER.....</b>	<b>82</b>
<b>10. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>83</b>

### iii. SİMGELER VE KISALTMALAR

ADSC	Yağ Dokusu Kaynaklı Kök Hücre
Ark	Arkadaşları
ATP	Adenozin Trifosfat
BDNF	Beyin Kaynaklı Natriüretik Faktör
bFGF	Temel Fibroblast Büyüme Faktörü
BKH	Bağırsak Kök Hücreleri
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
Ca	Kalsiyum
CFU-F	Fibroblast Kolonisi Oluşturan Birim
Cl	Klor
cm	Santimetre
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
dADSC	Farklılaştırılmış Yağ Dokusu Kaynaklı Kök Hücre
DMEM	Dubecco's Modified Eagle Medium
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	Etilen Diamino Tetraasetik Asit
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü (Epidermal Growth Factor)
EKH	Embriyon Kök Hücreleri
EMG	Elektromyografi
FBS	Fetal Sığır Serumumu
GAP-43	Büyüme-İlişkili (Growth-Associated) Protein
GDNF	Glial Hücre Nörotropik Faktör
GFAP	Glial Fibriler Asidik Protein
HGF	Hepatosit Büyüme Faktörü (Hepatocyte Growth Factor)

HKH	Hematopoetik Kök Hücre
IL-10	İnterlökin -10
IL-1 $\beta$	İnterlökin-1 $\beta$
Jak/ Stat	Bir sinyal yolağı
K	Potasyum
MBP	Miyelin Basic Protein
MKH	Mezenkimal Kök Hücreler
Mm	Milimetre
MMP-8	Matriks Metalloproteinaz-8
mRNA	Haberci Ribo Nükleik Asit
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
mV	Milivolt
Na	Sodyum
NF	Nörofilament
NGF	Sinir Bytc (Nerve Growth) Faktör
NKH	Nöral Kök Hücre
NOS	Nitrik Oksit Sentetaz (Nitric Oxide Synthase)
Notch	Bir sinyal yolağı
PBS	Fosfat Buffer Saline
PCL	Polikaprolakton
PDGF	Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü
PGA	Poliglikolik Asit
PGP 9,5	Protein Gen rn 9,5 (Nöronal işaretleyici)
PLA	Polilaktik Asit
PSS	Periferik Sinir Sistemi
RT-PCR	Gerçek Zamanlı - Polimeraz Zincir Reaksiyonu

S-100	Schwann hücre işaretleyicisi
SEM	Tarama Elektron Mikroskop
SFI	Siyatik Fonksiyon İndeksi
SSEA-3	Embriyonik Antijen (Stage Specific Embryonic Antigen)
TGF	Dönüştürücü (Transforming) Büyüme Faktörü
TGF- $\beta$	Dönüştürücü Büyüme Faktörü - $\beta$
TNF $\alpha$	Tümör Nekroze edici Faktör (Tumor Necrosis Factor A)
uADSC	Farklılaştırılmamış Yağ Dokusu Kaynaklı Kök Hücre
uPK/ iPSCs	Uyarılmış Puliripotent Kök Hücre
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
Wnt	Bir sinyal yolağı
YDKKH	Yağ Dokusu Kaynaklı Kök Hücreler
YKH	Yetişkin Kök Hücreleri
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\gamma$	Gama
$\delta$	Delta
$\mu\text{m}$	Mikrometre



## 1. GİRİŞ

Periferik sinir yaralanmaları, çok sayıda operasyon gerektiren, operasyon öncesi ve sonrasında da morbiditede ciddi artışlara yol açan önemli bir sağlık problemi olarak görülmektedir. Operasyon sonrasında, uzun süren bir iyileşme dönemi gerekmekte ve sinir fonksiyonlarının tam olarak geri dönüşü de pek mümkün olmamaktadır. Bu durum da önemli bir iş gücü kaybına sebep olmaktadır (Hu ve ark, 2007).

Periferik sinir hasarlarında çeşitli tamir yöntemleri bulunmaktadır. Periferik sinirde doku kaybının olmadığı ya da az olduğu yaralanmalarda ‘uç-uca ekleme’ yöntemi ile tedavi tercih edilmektedir. Doku kaybının fazla olduğu durumlarda ise; kayıp olan doku boşluğunu tamir için bir ‘greft’ kullanımı gerekmektedir. Fakat ne yazık ki, özellikle bu türden geniş kayıp olan yaralanmalarda tam bir tedavi mümkün olamamaktadır. Doku kaybının fazla olduğu durumlarda ‘otogreft tamir’ ilk tercih olarak düşünülmekte ise de, motor/his kaybı ve nöroma formasyonu gibi bazı dezavantajları bulunmaktadır (Kingham ve ark, 2007). Allogreft tedavide ise; uzun dönemli immünsüpresyon gerekebilmektedir (Bain ve ark, 1992). Greft olarak sentetik ve doğal maddelerde [kollojen, silikon, fibrin, polikaprolakton (PCL), polilaktik asit (PLA), poliglolik asit (PGA)] kullanılmaktadır. Arter ve ven greftleri de tedavide tercih edilebilir (Ahmed ve ark, 2003; Battiston ve ark, 2007; Bender ve ark, 2004; Ciardelli ve Chiono, 2006).

Yağ dokusu; adipositler, pre-adipositler, mikrovasküler endotelial ve düz kas hücreleri, monositler, lenfositler ile kök hücreleri içeren mezodermal kaynaklı karmaşık bir dokudur. Yetişkin dönem kök hücreleri için de önemli bir kaynaktır. Yağ dokusu kaynaklı kök hücreler, elde edilmesi kolay ve uygun koşullarda çeşitli hücre serilerine dönüşüm gösterebilen multipotent hücrelerdir (Santiago ve ark, 2009).

Bu çalışmada; sıçan siyatik sinirinde periferik sinir yaralanma modelleri oluşturularak, bu yaralanmalardaki konvansiyonel cerrahi tedavi yöntemleri ile bu yöntemlerin kök hücre uygulaması ile kombine edildiğinde etkinliğinin fizyopatolojik ve histopatolojik değerlendirmeler ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

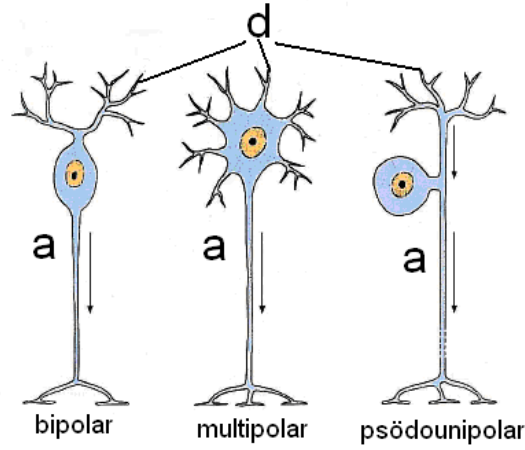
## 1. 1. Sinir Sistemi

Sinir sistemi, beyin, beyincik ve spinal korddan oluşan merkezi sinir sistemi (MSS) ile merkezi sinir sistemi ile diğer sistemler arasında iletişim rolü üstlenmiş olan periferik sinir sisteminden (PSS) oluşmaktadır. Camillo Golgi ve Santiago Ramon y Cajal sinir sisteminin fonksiyonel bağlantıları ile birbiri içerisine geçmiş olan sinir hücrelerin oluşturduğu bir şebeke olduğunu gösteren çalışmalarıyla 1906 Nobel fizioloji/tıp ödülünü almaya hak kazanmışlardır (Glickstein, 2006).

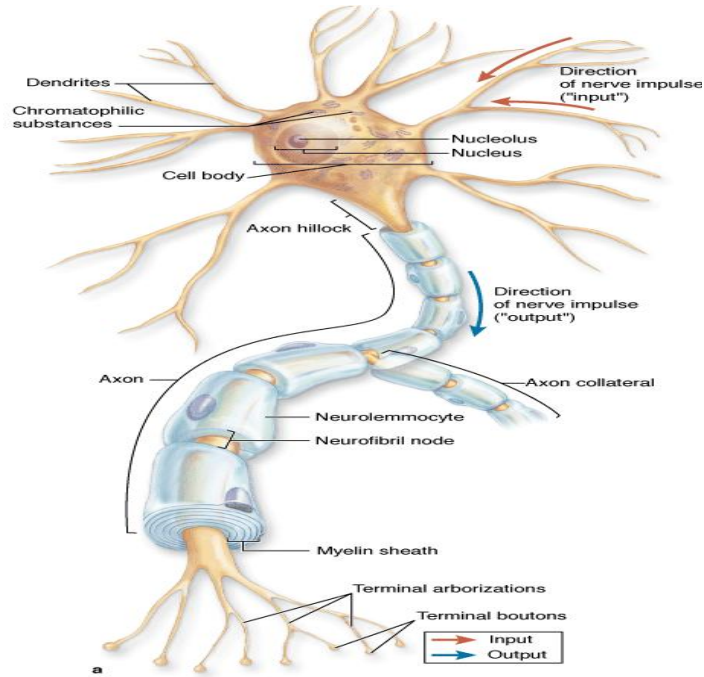
### 1. 1. 1. Nöronlar

Sinir sisteminin en önemli yapısal ve işlevsel ünitesidir. Diğer tüm yapılar nöronlara bağımlıdır. Nöronlar uyarıları almak, iletmek, belli hücrel aktiviteyi başlatmak, nörotransmitterleri ve diğer bilgi moleküllerini salgılamaktan sorumludurlar. Nöronlar fonksiyonel rollerine göre motor (efferent) nöronlar, duyu (afferent) nöronlar ve internöronlar olmak üzere üçe ayrılır. Nöron, beyinde, medulla spinaliste ya da gangliyonlarda yer alan bir gövde (soma) ile periferdeki hedef organa kadar uzanan çok uzun bir akson ve nöronların birbiri ile iletişimini sağlayan dentritlerden meydana gelir. Nöronlar uzantılarının şekil ve büyüklüğüne göre çoğunlukla üç kategoriye ayrılır. Multipolar (çok kutuplu) nöronların ikiden fazla uzantısı vardır. Bunlardan biri akson iken, diğerleri dendrittir. Motor ve internöronlar daha çok multipolardır. Bipolar nöronlarda ise bir akson ve bir dendrit bulunur (Janquerira Luiz Carlos, 2009). Özel duyu (görme, işitme, koku, tat, denge) nöronları bu tiptir. Psödonipolar nöronlarda perikaryondan tek bir uzantı çıkar, kısa bir süre sonra bu uzantı ikiye ayrılır, biri merkezi akson diğer biri de periferik akson (dendrit olur). Periferik spinal/dorsal kök gangliyonunda yer alan genel duyu nöronları bu tiptir (Şekil 1. 1).

Aksonun çıktığı akson tepesi dışında, nöronun tüm yüzeyi çeşitli sinaptik terminallerle doludur. Nöronların sitoplazmaları yuvarlak, oldukça büyük ve ökromatik belirgin bir çekirdek taşır. Golgi cisimciği ve mitokondri belirgin yapılardır. Bunlar sinir duyusu iletimi için enerji desteği ve deposu olarak görev yaparlar. Akson nöronun tipine göre değişen uzunluk ve çapta silindirik bir yapıdır. Genellikle standart bir yapıya sahip olan aksonların çapları 1-24 µm arasında değişirken, uzunlukları da 50 µm'den birkaç metreye kadar uzayabilmektedir (Şekil 1. 2).



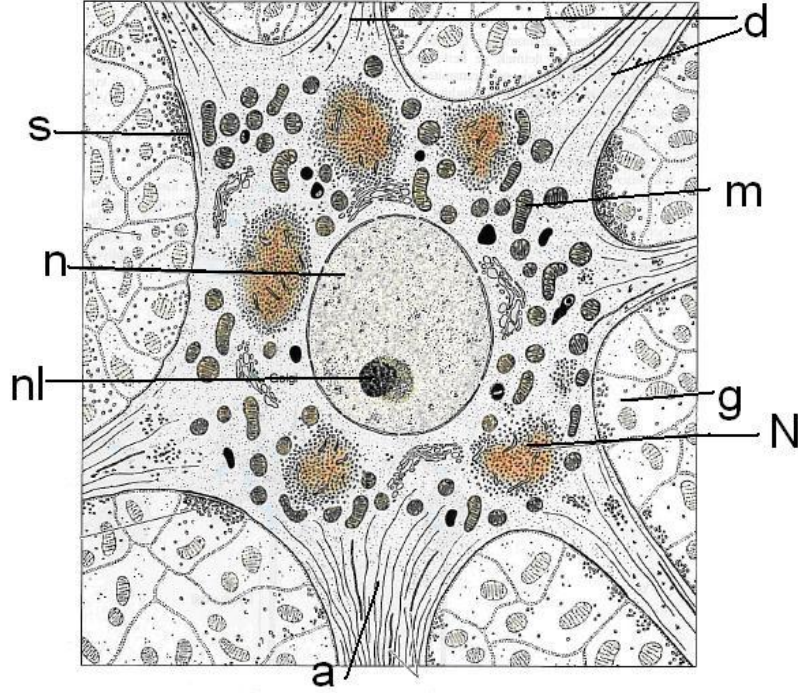
Şekil 1. 1. Başlıca nöron tipleri (Junqueira, 2003).



Şekil 1. 2. Nöron yapısı (Junqueira, 2003).

Perikaryon ve dendritte bulunan granüllü endoplazmik retikulum (Nissl cisimcikleri) ve ribozomlar akson tepeciğinde yoktur. Akson ile akson tepeciğinin birleştiği bölgeye 'başlangıç segmenti' denir. Başlangıç segmenti kısa, dar ve miyelinsiz bir bölgedir. Burası nörona gelen değişik eksitator ve inhibitör uyarıların değerlendirildiği ve bir aksiyon potansiyelinin ya da sinir impulsunun üretilip üretilmeyeceğinin belirlendiği yerdir. Perikaryon içerisinde yer alan ve hücre iskeletinin önemli bir yapısını oluşturan nörotübüller ve nörofilamentler dendrit ve akson uzantıları içine kadar uzanır (Abraham L., 2006). Akson tepeciğinden sonra

akson miyelinlenir, çapını artırır ve sonlanacağı hedef organa kadar aynı çapta devam eder. Aksonal sitoplazma (aksoplazma) birkaç mitokondri, mikrotübül, nörofilaman ve granülsüz endoplazmik retikulum sisternaları içermektedir. Poliribozomların ve granüllü endoplazmik retikulum gibi protein üretiminden sorumlu organellerin bulunmaması, aksonun ihtiyaçları için perikaryona bağımlı olduğunu gösterir (Şekil 1. 3).



Şekil 1. 3. Nöron gövdesi (soma) (Kierszenbaum, 2001).

### 1. 1. 2. Aksonal Madde Taşınması (Transport)

Akson boyunca küçük ya da büyük moleküller hızlı bir biçimde iki yönlü olarak aktarılmaktadır.

Anterograd (ileriye) taşıma ile makro moleküller ve hücre gövdesinde sentezlenen organeller akson boyunca iletilirler. Bu akım üç ayrı hızda gerçekleşmektedir. Yavaş akım (günde birkaç mm) proteinleri ve mikrofilamanları aktarır. Orta hızlı akım mitokondrileri, yüksek hızlı akım (100 kez daha hızlı) sinirsel aktarım sırasında akson terminalinde gereksinim duyulan veziküller içindeki maddeleri aktarır.

Eş zamanlı olarak, endositozla hücre içerisine alınan maddeleri (virüsler ve toksinler dâhil) kapsamak üzere pek çok molekülü taşıyan karışık yönde bir akım bulunmaktadır.

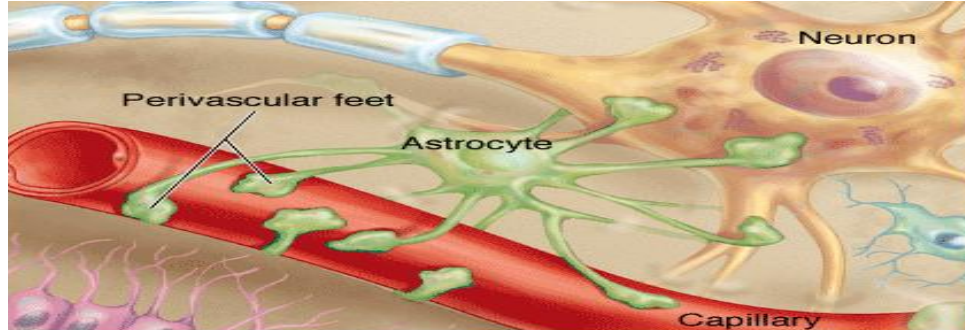
Akson akımı ile ilgili proteinler arasında mikrotübüllerde bulunan, ATPaz aktivitesi gösteren, retrograd akım ile ilgili bir protein olan dynein ve veziküllere bağlandığında aksondaki anterograd akımı uyararak, mikrotübülün aktive ettiği bir ATPaz olan kinesin yer almaktadır (Janquerira, 2009).

### **1. 1. 3. Nöroglia (Gliya) Hücreleri**

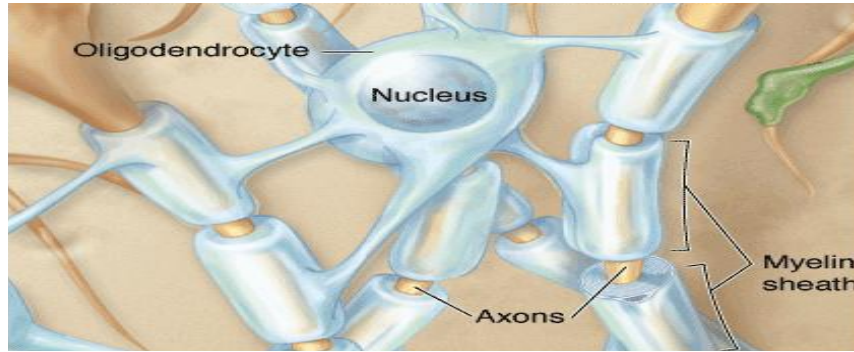
Gliya hücrelerinin sayısı memelilerde nöronlardan yaklaşık on kat daha fazla bulunmaktadır. Bu hücreler nöron aralıklarına yerleşerek hem sinir hücresinin gövdesini, hem de akson ve dendrit uzantılarını saran destek hücreleridir. Merkezi sinir sisteminde dört tip gliya hücresi bulunur. Bunlar: astrositler, oligodentrositler, mikroglia ve ependim hücreleridir. Bu hücrelere; ‘merkezi nöroglia hücreleri’ adı verilir. Periferik sinir sisteminde bulunan gliya hücrelerine ise; ‘periferik nöroglia’ adı verilir. Bunlar; Schwann ve satellit hücreleridir (Ross, 2011).

Astrositler, gliya hücreleri içinde en fazla olan ve çok sayıda uzantıları nedeni ile yıldız şeklinde izlenen hücrelerdir. Bu hücrelerin, yapılarını güçlendiren gliyal fibriller asit proteinden yapılmış ara filamanları bulunur. Astrositler nöronları, kapiller kan damarlarına ve merkezi sinir sistemini örten ince bir bağ dokusu olan piamatere bağlar. Az sayıda uzun uzantılara sahip astrositlere, fibröz astrositler denir ve bunlar ak madde içerisinde yer alır. Çok sayıda kısa dallara sahip olan astrositler protoplazmik astrositlerdir ve gri madde içerisinde yer alırlar. Astrositler destekleme görevine ek olarak; nöronların kimyasal ve iyonik ortamını kontrol ederler. Hasar durumlarında çoğalarak yara iyileşme dokusu oluştururlar. Adrenerjik, aminoasit ve peptid reseptörleri bulundurarak bu reseptörler aracılığıyla uyarılara yanıt verme özelliğine sahiptirler; kan-beyin bariyerine katılırlar (Janquerira, 2009) (Şekil 1. 4).

Oligodentrositler, merkezi sinir sistemindeki nöronların elektriksel yalıtımını sağlayan miyelin kılıfı yaparlar. Bu hücrelerin akson etrafına sarılan uzantıları bulunmaktadır ve böylece miyelin kılıfı oluştururlar (Janquerira, 2009) (Şekil 1. 5).



**Şekil 1. 4.** Astrositler (Junqueira, 2003).



**Şekil 1. 5.** Oligodentrositler (Junqueira, 2003).

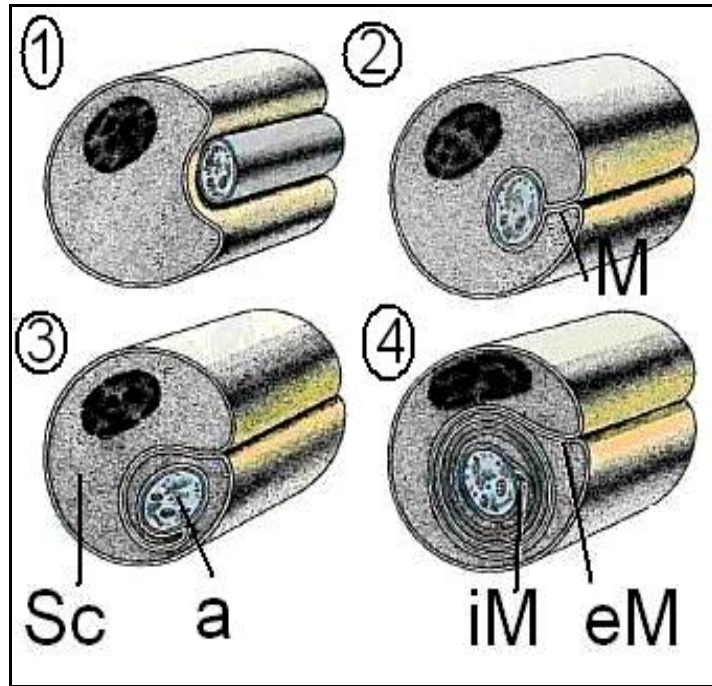
Mikroglia kısa uzantılara sahip, uzun, küçük, tek çekirdekli, mononükleer fagositik sistem kapsamına giren hücrelerdir ve kemik iliğindeki öncü hücrelerden köken alırlar. MSS’de inflamasyon ve onarımda görev alırlar (Janquerira, 2009).

Ependim hücreleri, beyin ventriküllerini ve omurilik orta kanalını döşeyen alçak prizmatik epitel hücreleridir. Bazı yerlerde ependim hücreleri beyin omurilik sıvısının hareketini kolaylaştıracak mikrovilli ve silyaya sahiptirler (Janquerira, 2009).

Satellit (uydu) hücreleri duyuşal, sempatik ve parasempatik sistemlerde gangliyoner nöronları sararlar. Oldukça küçük hücrelerdir. Nöronun dış kimyasal ortamını düzenleyici görevleri vardır. Hasara ve iltihaplanmaya karşı aşırı hassastırlar ve hemen müdahale ederler.

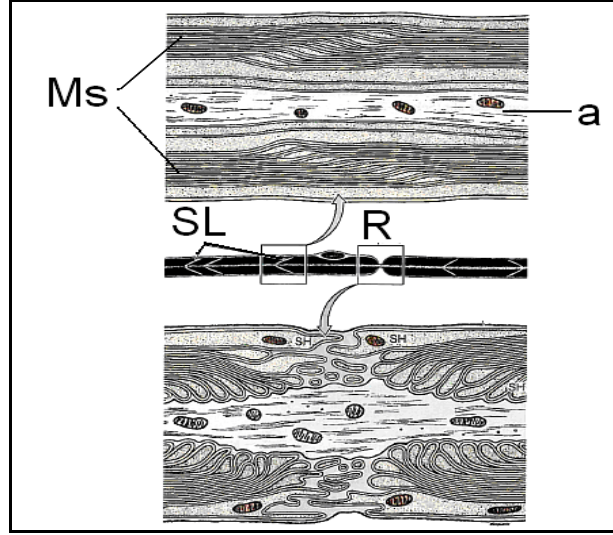
### 1. 1. 3. 1. Schwann Hücreleri ve Miyelin Kılıf

Aksonun çevresinde aksonal yapının hayatiyeti için mutlak gerekli olan Schwann hücresi yer alır. Schwann hücreleri periferik sinir sisteminde, tüm aksonları değişik oranlarda çevreleyen, dışında bir bazal lamina tabakası bulunan ve miyelin üreten hücrelerdir. Nöronlardan farklı olarak nöroektoderm kökenlidirler (Terzis JK, 1990). Schwann hücresinin varlığı aksondan gelen trofik faktörlerin etkisi altındadır. Bir Schwann hücresinin membranı ilk olarak aksonu sarar, daha sonra hücre akson etrafında birçok defa dönerek sfingomiyelin ve lipid içeren hücre membranı ile çok sayıda kat oluşturur (Şekil 1. 6).



Şekil 1. 6. Schwann hücresinin miyelin kılıf oluşturması (Junqueira, 2003)

Miyelin kılıf adı verilen bu madde birçok iyonun akımını engelleyen mükemmel bir yalıtıcıdır. Membranın iyon akışına direncini 5.000 kat artırıp, membran kapasitesini 50 kat düşürür (Thanos ve ark, 1998). Miyelinli aksonlarda akson boyunca, yan yana iki Schwann hücresi arasında, belli aralıklarla (0,08-6mm), ekstrasellüler sıvı ile akson arasında, akabileceği izole edilmiş küçük bir alan kalır. Bu alana: 'Ranvier boğumu' adı verilir. İki boğum arasında kalan miyeline 'Internodal Segment' denir. Miyelin segmentlerini birbirinden ayıran sirküler ya da oblik aralıklar da 'Schmidt-Lantermann yarıkları' diye adlandırılır (Şekil 1. 7).



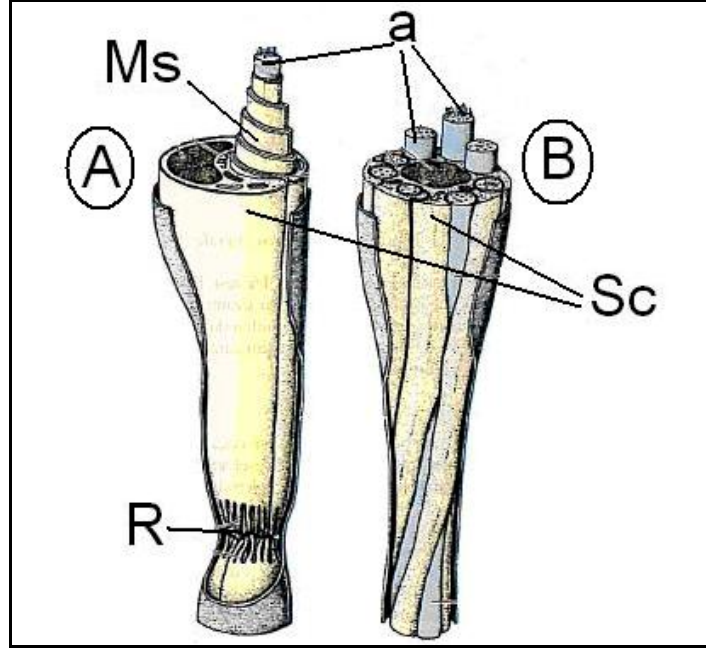
**Şekil 1. 7.** Schmidt Lanterman yarığı ve Ranvier boğumu (Junqueira, 2003).

Bazal lamina tabakası, Ranvier boğumlarında da Schwann hücrelerinin dış tabakasını kesintiye uğramadan sarar. Miyelinli liflerde iyonlar miyelin kılıflarından geçemezken, Ranvier boğumlarından kolayca geçerler. Bu nedenle aksiyon potansiyeli ancak bu boğumlarda gelişir ve bir boğumdan diğerine iletilir. Buna sıçrayıcı (saltator) ileti adı verilir. Sıçrayıcı iletinin iki yönden önemi büyüktür. İlki, depolarizasyon olayının sinir lifinin eksen boyunca uzun aralarla sıçraması, miyelinli liflerde ileti hızını 5-7 kat artırır. İkinci olarak; aksonda enerjinin korunmasını sağlar. Çünkü yalnız boğumları depolarize ederek iyon kaybını 100 kat azaltır. Aksi takdirde, bir seri impulstan sonra membrana sodyum ve potasyum farkını tekrar sağlamak için çok daha fazla enerji gerekecektir (Janquerira, 2009).

Miyelin tabakasının kalınlığı, sardığı aksonun çapına göre değişkenlik gösterir. Daha yeni liflerin miyelin tabakası daha kalın olmaktadır. Ayrıca aynı çapta aksona sahip motor nöronların miyelin tabakası duyu nöronlarına göre daha kalındır.

Bazı sinir lifleri ise miyelinsizdir. Sinir liflerinin neye göre miyelinlendiği belirsizdir. Schwann hücreleri ve bazal lamina tabakası miyelinsiz sinirlerde de aynen miyelinli sinirlerde olduğu gibi dizilidir (Luse, 1956; Rustemeyer ve Dicke, 2010) (Şekil 1. 8). Akson çapı, sinirin miyelinlenmesinde önemli bir etkidir. Küçük çaplı aksonlar, genelde miyelinsiz lifleri oluştururlar. Miyelinsiz sinirlerin insanlarda 0,5-3,5 µm arasında kalınlığa sahip olduğu ve bu sinirlerde iletim hızınının 0,5-2 m/sn arasında değiştiği tespit edilmiştir.





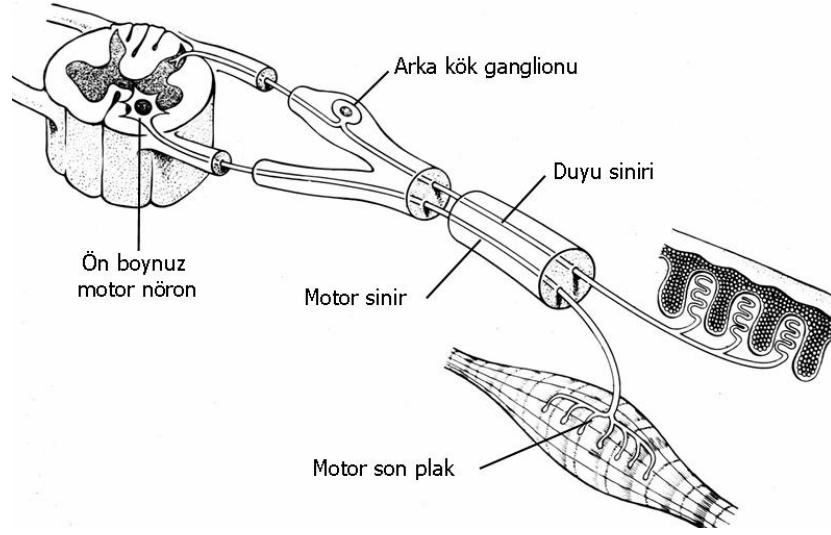
Şekil 1. 8. Miyelinli (A) ve miyelinsiz (B) aksonlar (Junqueira, 2003).

#### 1. 1. 4. Merkezi Sinir Sistemi

MSS beyin, beyincik, omurilikten meydana gelir. Gerçek anlamda bir bağ dokusu bulunmaz bu yüzden yumuşak jel kıvamında organlardır. Kesit alındığında beyaz ve gri madde bölgeleri görülür. Beyaz maddenin ana bileşeni miyelinli aksonlar ve miyelini yapan oligodendrositlerdir. Gri maddede nöronal hücre gövdeleri, gliya hücreleri, aksonlar, dentritler bulunabilir. Gri madde beyin ve beyinciğin kabuğunu oluştururken beyaz madde merkezidir, omurilikte ise beyaz madde dış kısımda gri madde merkezde bulunur. MSS, kafatası ve omurga ile korunur. Aynı zamanda meninks denen zar yapılarla sarılmış durumdadır. En dış tabakadan başlamak üzere dura mater, araknoid ve piamater şeklinde tabakalanır. MSS’de subaraknoid aralıkta ve ventriküllerin içerisinde dolaşan BOS (Beyin Omurilik Sıvısı) bulunmaktadır. BOS berrak, dansitesi düşük ve protein içeriği çok az olan bir sıvıdır, koroid pleksus epiteli tarafından salgılanır.

### 1. 1. 5. Periferik Sinir Sistemi

Periferik sinir sistemi, santral sinir sistemi ile periferik hedef organlar arasında çift yönlü uyarı iletimini sağlayan, bu sayede motor, duyu ve otonomik fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir sistemdir. Bu sistemin afferent bölümü, periferdeki reseptörlerden gelen duyuları MSS'e, efferent bölümü ise MSS'nin oluşturduğu motor cevapları perifere taşımakla görevlidir. Motor, duyu ve otonomik olmak üzere üç tip periferik sinir bulunmaktadır. Bunlardan motor sinirlerin hücre gövdeleri medulla spinalis ön boynuzunda, duyu sinirlerinin hücre gövdeleri ise dorsal spinal arka kökler içerisinde yerleşmiştir. Duyusal ve motor lifler içeren periferik sinirler, dorsal ve ventral spinal köklerin birleşmesinden oluşmaktadır (Şekil 1. 9).



**Şekil 1. 9.** Periferik sinirlerin hücre gövdelerinin yerleşimi (Myers RR. Morphology of the peripheral nervous system and its relationship to neuropathic pain. Anesthesia: Biologic Foundations, Yaksh TL, Lynch III C, Zapol WM, Maze M, Biebuyck JF, Saidman LJ (eds), Lippincott-Raven, Philadelphia, s: 487, 1998).

Periferik sinir sisteminin (PSS) ana bileşenleri sinirler, gangliyonlar, sinir sonlanmalarıdır. Sinir lifleri ektodermal kökenli hücrelerden oluşan özel bir kılıfla sarılmış aksonlardan oluşmaktadır. Periferik sinir, sinir liflerinin bir bağ dokusu tarafından bir araya toplanmış şeklidir. Periferik sinirler motor ve duysal iletileri organ, doku, beyin, spinal kord arasında taşırlar. Periferik sinirde bulunan aksonların hücre gövdeleri MSS'de ya da gangliyonlarda olabilir. Gangliyonlar bağ dokusu tarafından desteklenen nöron hücre gövdeleri ve gliya hücrelerini içeren yuvarlak yapılardır. Sinirsel uyarı aktarımında dağıtım istasyonu olarak görev görürler (Abraham, 2006).

### 1. 1. 5. 1. Periferik Sinir Histolojisi

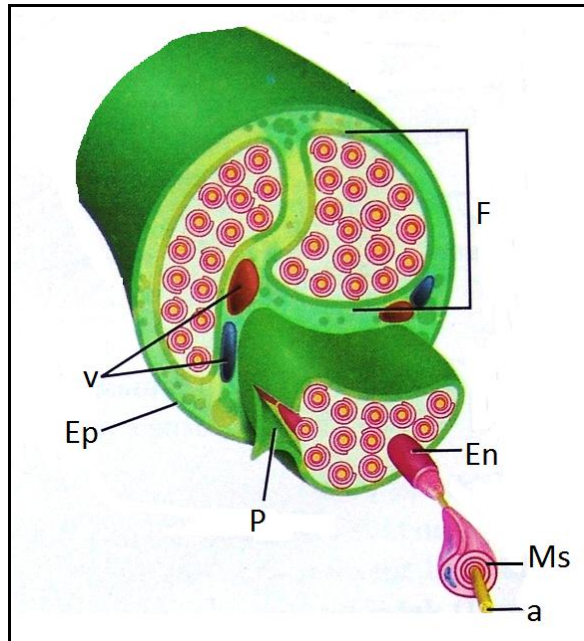
Periferik sinirlerin çevresinde koruyucu tabakalarla bulunur. Bu tabakalara bağ dokusu adı verilir ve periferik sinirin %21-81'ini meydana getirirler (Kline ve Hudson, 1995). Eklem bölgelerinde oranın arttığı bilinmektedir. Bağ dokusunun görevi periferik siniri beslemek ve korumaktır (Hunt, 2002). Periferik sinirleri çevreleyen bağ dokusu epinörium, perinörium ve endonörium adı verilen üç farklı destek doku kılıfından oluşur. Bu yapıların birçok mekanik ve fizyolojik görevleri vardır. Periferik sinir lifleri ve Schwann hücreleri bir araya gelerek fasikül denen yoğun bir demet oluştururlar. Sinir lifleri, fasikülde kollajen ve retikulin lifleri ile birlikte mukopolisakkaritten oluşan temel maddenin (ground substance) içinde bulunurlar. Bu yapının temel hücresi fibroblastlardır ve kollajen üretiminden sorumludur. Hücreler, kollajen, retikulin ve temel maddenin oluşturduğu yapıya endonörium denir. Endonörium içinde bulunan makrofajlar ve mast hücreleri muhtemelen hematojen kaynaklıdır (Kline ve Hudson, 1995).

Epinörium gevşek bağ dokusudur. Sinir boyunca boyuna yerleşmiş kollajen ve elastik liflerden oluşur. Fasikül grupları epinörium tabakası tarafından çevrelenmektedir (Landers, 2003). Eksternal epinörium siniri mekanik etkilerden koruyan en dış tabaka, internal epinörium ise perifasiküler ve interfasiküler bölgelerin arasını dolduran ve fasikülleri ayırarak birbiri üzerinde kaymasına izin veren tabakadır. Epinörium, mezodermden köken alır ve periferik sinir kesitinin % 30-70'ini oluşturur. Bir periferik sinirde ne kadar fasikül varsa epinörium o kadar kalındır. Epinörium, bölgesel lenf nodlarına açılan lenf kanalları içerir (Burnstock G, 1995). Epinörium, sinirin kapiller plexusunu besleyen kanı taşıdığından vasküler bir dokudur. Sinir kesilerinden sonra oluşan skar dokusunun çoğu yine epinöriumda bulunan fibroblastların proliferasyonundan kaynaklanır. Sinir lifinde perinöriumun cerrahi olarak diseke edilmesi sinir iletimini bozarken, epinöriumun diseke edilmesinin böyle olumsuz bir etkisi yoktur (Brushart, 1999).

Sinir liflerinin bir araya gelmesiyle fasikül adı verilen yapılar oluşur. Fasikül cerrahi olarak manipüle edilebilir en küçük sinir yapısıdır. Bu yapılar sağlam bir perinörium tabakası ile çevrilidir. Bu tabaka endonöriumdan daha organize ve iç tabakasında çok katlı ve lamelli hücreler, dış tabakasında ise dairesel, boyuna ve çapraz yerleşimli yoğun kollajen lifler içerir. Bir damar-sinir bariyeri olduğundan

sinir lifinin iç dengesinin korunmasında önemli rol oynar (Burnstock, 1995). Perinörium, fasikülleri hafif bir basınç altında tutar. Perinörium sağlam olduğu sürece sinirin elastikliği ve bütünlüğü korunur. Sinir kesildiğinde fasiküller yumuşak ve jölemsi bir doku halinde perinöriumundan taşarlar.

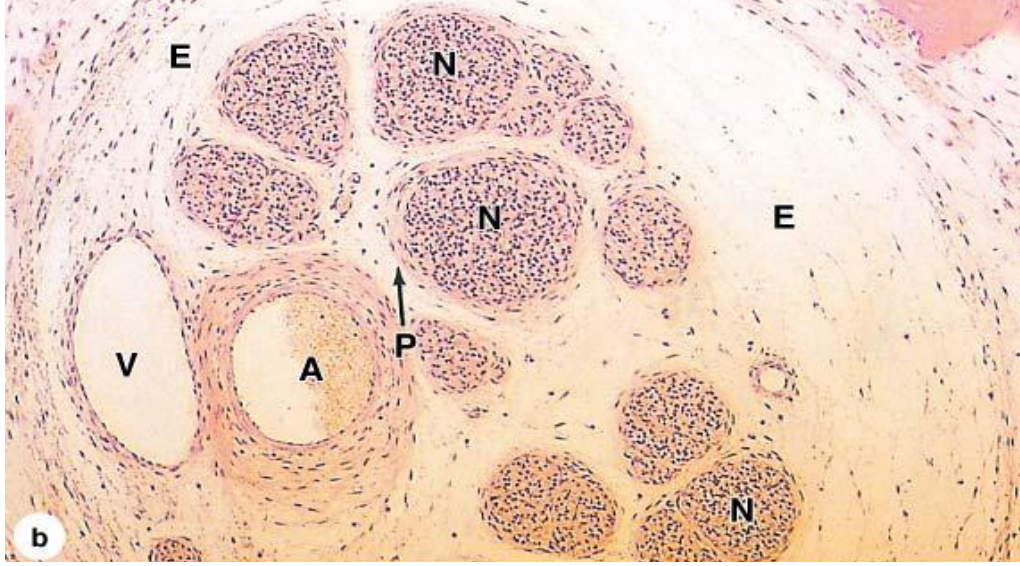
Endonörium, her sinir lifinin bazal zarını saran hassas bir bağ dokusu tabakasıdır (Hunt, 2002). Endonörium akson ve bunu çevreleyen Schwann hücreleri, kollajen ve retiküler lifler, fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri ve kapiller sistemden oluşur (Mills, 2007). Yapısında elastin bulunmamaktadır (Burnstock, 1995; Hunt, 2002). İçerdiği uzun yerleşimli tip I kollajen sayesinde gerilmeye karşı kuvvetli bir yapıdır. Sinirde bulunan endonöral damarlar, Schwann hücrelerini ve miyelini sarar. Morfolojik olarak dalgalı bir yapıya sahiptir ve bu sayede uzamaya karşı uyumludur. Endonöriumun fibröz ve hücreli komponentleri endonöral sıvı ile çevrilidir. Endonöral sıvı basıncı, çevre doku basınçlarına göre daha yüksektir. Bu fark sayesinde, aksona zarar verecek toksik, zararlı maddeler uzak tutulur (Şekil 1. 10).



**Şekil 1. 10.** Periferik sinir bağ dokusu tabakaları (Di Fiore Histoloji Atlası, 2001).

Fasikül sayıları bir sinir boyunca ve kişiden kişiye değişiklik gösterir. Fasiküller bir sinir boyunca birbirine paralel uzanan bağımsız akson dizilimleri değildirler. Seyri boyunca fasiküller birbirlerine sayısız dallar ile bağlıdırlar ve bir

tür intranöral pleksus oluştururlar. Pleksiform yapı nedeni ile bir fasikülden diğerine dallanmalar olması sonucunda, trase boyunca trunkusun içerdiği fasikül sayısı ve fasiküllerin içerdiği akson sayısı değişiklik göstermektedir. Bu durumda sinir trasesi boyunca alınan değişik kesitlerde farklı morfolojik yapılar görülebilir (Şekil 1.11).



**Şekil 1.11.** Periferik sinir fasikül ve bağ dokusu (Junqueira, 2003).

### 1. 1. 5. 2. Periferik Sinir Embriyolojisi

Motor sinir hücreleri, spinal kordun ön boynuz sinir hücrelerinden köken alır ve gelişimin 4. haftasında ortaya çıkarlar. Demetler halinde bir araya geldiklerinde ‘ventral sinir kökleri’ olarak adlandırılırlar. Dorsal sinir kökleri de dorsal kök gangliyonlarındaki hücrelerden çıkan lif demetleridir. Bu gangliyonlardan çıkan merkezi çıkıntılar da demetler halinde spinal kord içine doğru arka boynuzların aksi yönünde büyürler. Distal çıkıntılar ventral sinir kökleriyle birleşerek spinal sinirleri oluştururlar. Hemen ardından da spinal sinir dorsal ve ventral primer ramuslara bölünür. Ventral primer ramuslar ekstremiteleri ve vücut ön duvarını innerve ederler ve major sinir pleksuslarını oluştururlar.

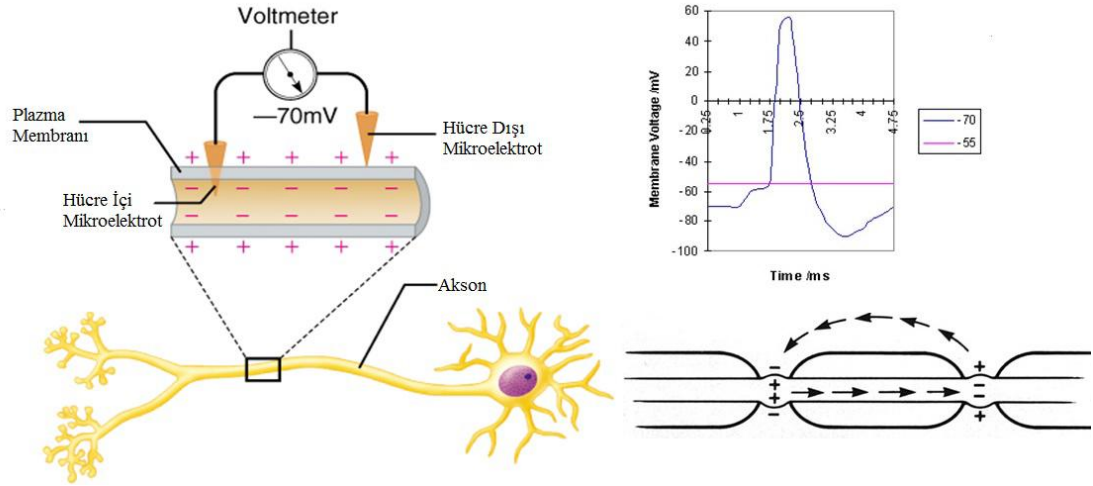
Periferik sinir miyelinizasyonu Schwann hücreleri tarafından gerçekleştirilir. Nöral krestten kaynaklanan bu hücreler, perifere doğru göç ederek aksonların çevresini sararlar ve böylelikle nörolemma kılıfını oluştururlar. Fetal yaşamın 4.

ayının başında sinir liflerinin çoğu, Schwann hücresi membranının akson üzerinde birçok defa kıvrılması sonucu oluşan miyelinin birikmesiyle beyazımsı bir görünüme bürünürler. Her ne kadar spinal kord içindeki sinir liflerinin miyelinizasyonu intrauterin yaşamın yaklaşık 4. ayında başlarsa da yüksek beyin merkezlerinden spinal korda inen motor liflerin bazıları miyelinizasyonunu ancak postnatal 1. yaşta tamamlar (Kaplan ve ark, 2009; Song ve ark, 1999).

### **1. 1. 5. 3. Periferik Sinir Fizyolojisi**

Sinir sisteminde iletimin temel anlamı herhangi bir noktada oluşan aksiyon potansiyelinin sinir gövdesi ve uzantıları boyunca taşınmasıdır. Her hücre gibi nöronlarında hücre dışı ile içi arasında bir elektriksel potansiyel farkı vardır. Bu potansiyel farkı, hücre zarının iyonlara karşı geçirgenlik özelliği ve hücre içi ile dışı arasındaki iyon konsantrasyonlarındaki farklılık sonucu oluşur. Normalde hücre dışında Na ve Cl iyonları fazla iken, hücre içinde K ve Ca iyonları fazladır. Ayrıca hücre içinde negatif yüklü proteinler mevcuttur. Hücre zarının seçici geçirgenliği bu negatif yüklü proteinlerin dışarıya kaçışına izin vermezken, hücre zarına yerleşmiş olan Na, K, Ca ve Cl kanalları hücre içi ile dışı arasında konsantrasyon farkı doğuracak şekilde iyon geçişini denetlerler. Bu konsantrasyon farklılıkları ve ortaya çıkan elektriksel potansiyel hücre içinin dışına göre -60 ile -80 mV arasında bir polarizasyon oluşturur. İstirahatte bu potansiyel sistemin denge halinde kalması ile korunur. Bu durumda Na kanalları tama yakın kapalı, K kanalları ise açıktır. Kanallar dışında difüzyonla hücre içine Na hücre dışına K kaçışı ise Na-K pompası ile kompanse edilir. Bu enerji gerektiren aktif bir pompa olup sodyumu hücre dışına potasyumu hücre içine taşımaktadır. Nöronun uyarılması hücre zarında istirahatte var olan dengeyi bozar ve depolarizasyon meydana gelir. Kanalların açılması ile sodyumun hücre içine girişi başlar, şiddeti yeterli bir membran destabilizasyonu yaparsa hücre içi ile dışı arasındaki potansiyel farkı azalarak eşik değere ulaşır ve hücre membranının bu noktasında ani bir potansiyel değişimi olur. Bu noktada hücre içi hücre dışına göre pozitif potansiyeldedir. Aksiyon potansiyeli oluşturan uyarılar için eşik değeri -59 mV'tur. Bu eşik değeri aşamayan potansiyel değişiklikleri aksiyon potansiyeli yaratmazken eşik değerinin üzerine çıkan potansiyel değişikliği şiddeti ne kadar farklı olursa olsun aynı aksiyon potansiyelini oluşturur. Buna "hep ya da hiç" kuralı denir. Aksiyon potansiyeli bir kez oluştuktan sonra durdurulamaz ve komşu bölgeleri uyararak yayılır (Şekil 1.12).

Miyelinli liflerde, akson boyunca dizilim gösteren Schwann hücreleri arasında miyelin kılıfı olmayan 1  $\mu\text{m}$ 'lik alanlar mevcuttur. Miyelin kılıf boyunca iletilen impulslar "Ranvier düğümü" adı verilen bu alanlarda bir sıçrama (saltatorik iletim) yaparak bir sonraki miyelin kılıfa geçerler (Lawrence, 1995). Ranvier düğümündeki sinir elemanları buraya gelen akımı arttırıcı yapıdadırlar. Bu bölgede bulunan mitokondri gibi enerji üreten hücre elemanlarının sayısı normal alanlara oranla 5 kat fazladır.



**Şekil 1. 12.** Aksiyon Potansiyeli (Nebiloğlu S. 2012).

Erlanger, Gasser ve Grundfast (1937) yaptıkları sınıflamada tüm periferik sinir fibrillerini çaplarına ve ileti hızlarına göre ayırmışlardır. Bunlardan A grubu lifler, miyelinli somatik afferent ve efferent liflerden oluşur. B grubu lifler ise miyelinli otonomik pregangliyonik lifleri içerir. C grubu lifler, en ince çaplı ve en yavaş iletim sağlayan liflerdir. Miyelinsiz somatik ve viseral afferent lifler ile postgangliyonik lifler bu gruptadır (Tablo1. 1).

**Tablo 1. 1.** Periferik sinirlerin çap ve ileti hızlarına göre sınıflandırılması (Nebiloğlu S. 2012).

GRUP	ÇAP ( $\mu$ )	İLETİM HIZI (m/saniye)	FONKSİYON
A ( $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ )	2.5–22	15–100	Miyelinli somatik afferent ve efferent
B	3	3–15	Miyelinli pregangliyonik otonomik ("visceral")
C	0.2–1,5	0.3–1,6	Miyelinsiz somatik afferent ve otonomik postgangliyonik efferent (ağrı, pilomotor ve vazomotor)

### 1. 1. 5. 6. Sıçan Siyatik Siniri

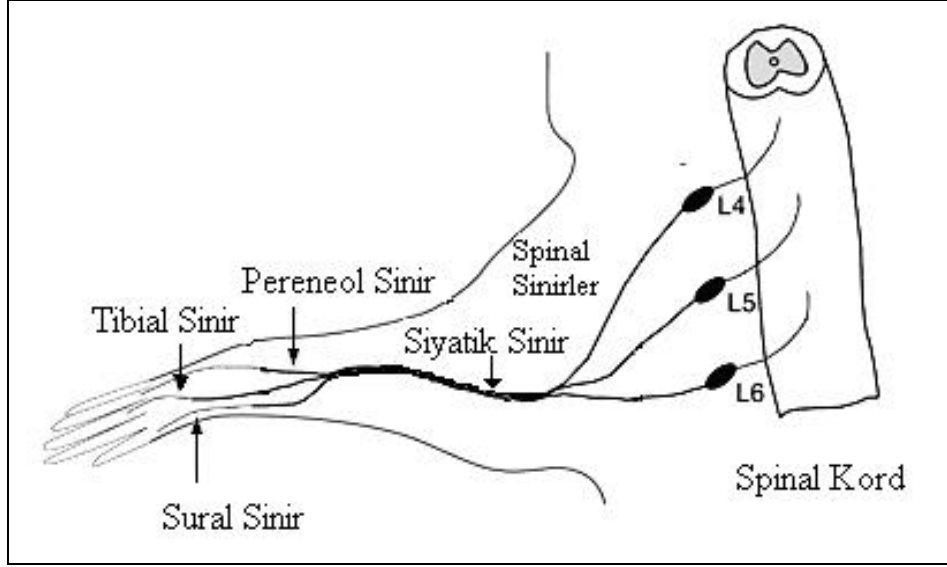
Sıçan siyatik sinir ve dalları deneysel sinir cerrahisinde ve sinir rejenerasyonu çalışmalarında en çok kullanılan sinirlerdir.

Normal sıçan siyatik sinirinin daha çok L4, L5 ve L6'da, az bir kısmı ise L3'de bulunan toplam  $2.005 \pm 89$  motor nöronu ve 10.500 adet dorsal kök gangliyon nöronu vardır (Swett ve ark 1991). Sinirin uylukta, büyük trokanterin distalinde yaklaşık 23.700-27.000 arasında aksonu bulunmaktadır. Bunların sadece 700-800 tanesi miyelinlidir. Miyelinli aksonlardan 4.500 tanesi tibial sinir, 1.900 tanesi peroneal sinir, 1.050 tanesi sural sinir ve 350 tanesi kutanöz sinire ait olduğu düşünülmektedir. Miyelin kılıfının çapı 1,5; 12,5 µm arasında değişkenlik gösterir. Miyelinsiz akson sayısı ise toplam 19.400'dür (Schmalbruch 1986).

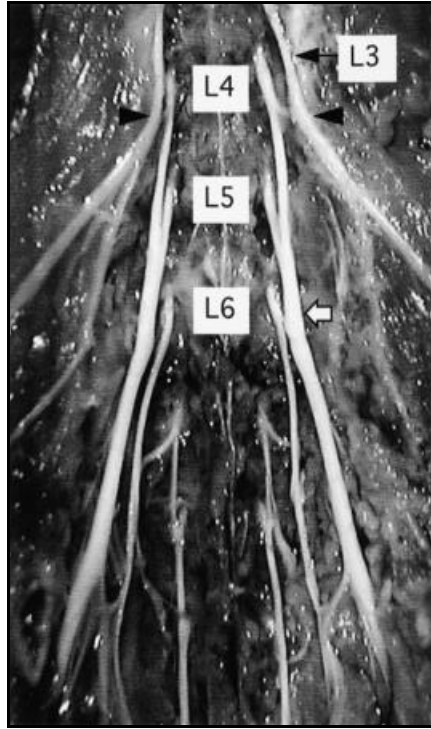
Siyatik sinir pelvisten çıktıktan sonra hamstring ve gluteal kaslara küçük dallar verir ve daha sonra büyük trokanter etrafında döner. Bu safhada sinir unifasikülerdir. Büyük trokanterin 3-5 mm distalinde sinirin ilerde ana dallarını bölen septum görülmeye başlanır. Hemen hemen aynı seviyede sinirin peroneal kısmından bir dal çıkar. Bu dal biceps femorisi ve uyluğun proksimal-lateral yüzeyini innerve eder. Bu daldan 2 cm sonra popliteal bölgede sinir dört dala daha ayrılır. Sural sinir daha yüzeysel seyrederek bir damar eşliğinde gastrokinemius kasının dorsal yüzeyinde seyreder. Tibial sinir popliteal fossanın derininde seyrederken gastrokinemius kasının başları arasında kaybolur ve fleksör kasları innerve eder. Peroneal sinir daha superfisiyal ve lateral seyrederek anterior kas grubunun içine girer. Sinirin çapı, 0.9-1.1mm arasında değişmektedir.

Sıçan siyatik siniri, memeli hayvanlar arasında, elektron mikroskopi düzeyinde bile insan sinir dokusundan ayırt edilemeyen hücresel özelliklere sahip, ucuz ve temini kolay bir sinir dokusu kaynağıdır (Şekil 1. 13, 1. 14).





**Şekil 1.13.** Sıçan siyatik siniri yapısı



**Şekil 1.14.** Sıçan siyatik sinirinin önden görüntüsü. L4 ve L5 spinal sinirler birleşip siyatik siniri oluşturmaktadır. L6 spinal sinir siyatik sinire solda ince bir dal vermektedir (beyaz ok). Siyah okla L4 ve L3 spinal sinirlerin ince birleşimi gösterilmiştir (Asato, 2000).

## 1. 1. 5. 7. Periferik Sinirde Hasara Reaksiyon

### Aksonal Dejenerasyon

Aksonun nöronal hücre gövdesine en uzak kısmının (distal akson) zedelenmesi sonucu buradaki sitoplazmik parçalanma aksonal dejenerasyon olarak adlandırılır. Dejenerasyon, akson içindeki tek bir noktada başlar ve daha distal segmentleri içermek üzere ilerler. Zedelenmeden sonra birkaç gün içinde distal aksonun tüm kısımlarında parçalanma başlar. Nörofilamanlar ve mikrotübüller sitoplâzma artık görülmez ve yerini amorf granüler sitoplazmik materyale bırakır. Aynı zamanda aksosoma da devamlılığını koruyamaz ve aksondaki elektrik üretimi kesilir. Miyelin kılıf dağılır ve hasarın distalindeki alanlarda akson küçük oval segmentlere parçalanır. Fragmanlar, belirgin miyelin debris ve aksonal kalıntılar içerdikleri için ‘miyelin ovoidler’ olarak adlandırılırlar. Eğer hasar nöron hücre gövdesinin hemen proksimalinde ise hücre gövdesi dejenere olur. Aksi takdirde hücre gövdesi, santral eozinofilik bir alan şeklinde genişler ve Nissl cisimcikleri hücrenin periferine yer değiştirir, bu olaya ‘kromatolizis’ veya ‘aksonal reaksiyon’ denir.

Schwann hücreleri aksonal dejenerasyon ve rejenerasyon olayına aktif olarak katılır. Akson parçalanmasının başlangıcından kısa bir süre sonra Schwann hücreleri proliferasyon olarak çoğalır ve aksonal kalıntıları kuşatırlar. Makrofajlar aksonal dejenerasyon alanına gelip lifin dış yüzeyine katılırlar. Birkaç hafta sonra debris ortadan kaldırılır ve makrofajlar vasküler alanlara göç ederler. Eğer aksonal rejenerasyon inkomplet ise önceden aksonun yer aldığı alan kollajen ile doldurulur.

Hızlı aksonal transportun, aksonal dejenerasyon olayı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Aslında aksonal transportun ilk göstergesi, kesiden sonra anterograd akson dejenerasyonudur. Hızlı aksonal transportta en hızlı hareket, membranla ilişkili veziküller içindeki materyallerle ilgilidir. Bunlar anterograd yönde ‘kinesin’ olarak bilinen mikrotübül-ilişkili ATPaz ile ileri doğru hareket ederler. Kinesin hem aksonal veziküllere hem de mikrotübüllere bağlanır ve mikrotübül boyunca vezikül hareketini oluşturur. Hızlı aksonal transportun aksonal dejenerasyonla ilişkisini gösteren kanıt, daha kısa olan aksonlarda bu materyalin (veziküllerin) daha hızlı boşalması ve tükenmesiyle dejenerasyonun uzun aksonlara göre daha hızlı olmasıdır. Ek olarak, hızlı taşınan veziküller aksonal kesinin proksimal kısmında birikir. Sonuç

olarak; aksonal dejenerasyon, kesiden sonra 1-4 gün içinde başlar ve bu zaman çerçevesinde moleküler hareketin ana dalgası, hızlı aksonal transporttur.

PSS, eğer zedelenmeye yol açan ajan elimine edilirse geniş rejenerasyon kapasitesine sahiptir. Aksonal filizlenme ve yeniden büyüme iki paternde gerçekleşir. İlki ve en hızlı olanı, denervasyon alanının bitişiğindeki intakt aksonların filizlenmesidir. Bu olay, terminal akson filizinin atrofik kas lifini tekrar inerve etmesi şeklinde, iskelet kasında da bildirilmiştir. İkinci tip filizlenme, hasarlanan aksonun distal güdüğünde olur ve aksonal büyüme konilerinin formasyonu ile sonuçlanır. Büyüyen koninin yayılımı ve aksonal büyümenin yeterliliğinde birçok faktör rol oynar. Bu büyüyen koniler özelleşmiş, aktinden zengin hücre iskeleri (sitoskeleton) elemanı içerirler. Artmış büyüme-ilişkili (growth-associated) protein (GAP-43) içeren özel vezikül ve membran karakteristikleri vardır. Diğer büyüme faktörleri, sinir büyütücü (nerve growth) faktörler (NGF) aksonal rejenerasyonu kolaylaştırır. Denerve olan Schwann hücreleri de artmış sayıda NGF reseptörü eksprese ederler.

Wallerian dejenerasyon aksonal dejenerasyonun bir tipi olarak görülebilir. Kesi noktasının distalindeki aksonların dejenerasyonu olarak tanımlanır. Kesi yaralanmalarından sonra aksonal dejenerasyon ve rejenerasyon dengede görülmektedir. Ancak transeksiyon zedelenmelerinde sinirin devamlılığı bozulduğu için rejenerasyon distal segmentlerdeki büyüme konilerinin yanlış yerleşimi sonucu bozuk olur. Bu yanlış yerleşim aksonal rejenerasyonun yeterliliğini azaltır ve travmatik nöromaların oluşmasına yol açar.

### **Segmental Demiyelinizasyon**

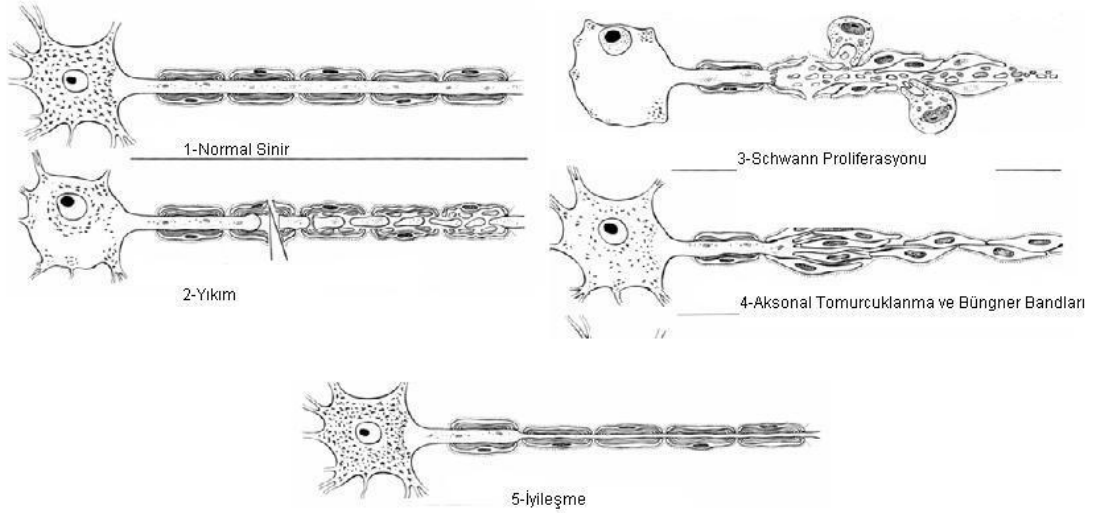
Schwann hücrelerinin miyelini koruma yeteneğinde gerçekleşen patolojik olaylara 'demyelinizasyon' denir. İki Ranvier nodunun (internod) arasındaki akson segmentini, bir Schwann hücresi miyelinlediği için tek bir Schwann hücresinin hasarı sadece bir akson segmenti üzerindeki miyelinin kaybına yol açar. Bu olayın habercisi, akson korunurken miyelinin dağılıyor olmasıdır. Schwann hücreleri çıplak aksonu tekrar örtmek için proliferer olur. Önce sitoplazmik kılıf sonra miyelinin tümü oluşur. Remiyelinizasyon fazı farklı moleküler sinyallerle regüle edilir. Hücre kültüründe, aksonal integral membran proteinleri, istirahat halindeki Schwann hücrelerini bölünmeleri için stimüle ederler. Bir akson, kronik olarak denerve olmuş olan bir sinire greft olmak üzere rejenere olurken, Schwann hücreleri proliferasyon için stimüle olurlar. Yaralanmalarda aksonal filizlenme daha hasarlı dokuya

ulaşmadan, Schwann hücre proliferasyonu oluşur. Bu yüzden aksonal kopmanın, Schwann hücre mitojenlerinin oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca tam olarak karakterize olmamış olsa da, kısmen sindirilmiş miyelin proteinleri Schwann hücreleri için mitojenik gözükmektedir. İlk Schwann hücresi proliferasyonu safhasında miyelin üretilmez. Demiyelinize segmentin tamirinin ikinci fazı miyelinin üretilmesidir. Miyelin protein ekspresyonu, transkripsiyon safhasında regüle olur ve sadece aksonal kontakt hattı üzerindeki Schwann hücrelerinde miyelin proteini için mRNA eksprese olur. Segmental demiyelinizasyon parafine gömülü kesitlerde değerlendirilemez. Bu oluşum plastik gömülü kesitlerde ve glutaraldehid tespitli epoksi rezin preparatlarda fark edilebilir. Remiyelinize internodlar kısadır ve daha incedir. Bu yüzden demiyelinizasyon sonrası internodlar farklı uzunluktadır ve tek lif boyunca miyelinin kalınlığı farklıdır. Tekrarlayan demiyelinizasyon epizodları aynı internodda olduğunda Schwann hücreleri proliferer olur ve konsantrik şekilde tabakalanma gösterirler. Bu tabakalanma az olduğunda ‘Schwann hücre hiperplazisi’ denir ve aynı internoddaki tekrarlayan demiyelinizasyon ve remiyelinizasyona işaret eder.

Olay devam ettiği sürece çok sayıda konsantrik Schwann hücre tabakası soğan kabuğu görünümüne yol açar. Soğan kabuğu görünümündeki dağılmış lifler birçok kronik demiyelinize nöropatide görülebilir.

Uzun süren periferik sinir hastalıklarında, nedenden bağımsız olarak, birbirinden ayırt edilemeyen patolojik değişiklikler görülebilir. Sekonder demiyelinizasyon ile ilişkili aksonopatiler ve demiyelinizan hastalıklar aksonal kayıpla sonuçlanabilir. Örneğin üremik nöropatide, ilk değişiklikler aksonal dejenerasyon ile giden aksonopati ve progresif lif kaybıdır, aynı zamanda segmental demiyelinizasyon da oluşur.

Primer olarak demiyelinize nöropati olan Guillan-Barre sendromunda, aksonal dejenerasyon özellikle distal sinir segmentlerinde belirgindir. Sonuç olarak; periferik sinir biyopsi örneği hem aksonal kaybı hem de segmental demiyelinizasyonu içerebilir. Bu nedenle sinir biopsilerinin sonuçları spesifik klinik ayırıcı tanı ışığında değerlendirilir (Şekil 1.15).



**Şekil 1. 15.** Sinir dejenerasyon ve rejenerasyonu (Lundborg G. The nerve trunk. Nerve injury ve repair. Churchill Livingstone, New York, s: 151, 1988' den çevirilerek alınmıştır).

## 1. 2. Kök Hücre Tanımı ve Özellikleri

Kök hücre gibi işlev ve yapı olarak birbirinden farklı olan bir dizi hücreyi bir tanım altında toplamak oldukça zor olsa da, bugün kabul edilen birkaç temel ölçüt, kök hücrelerin en bilinen tanımını oluşturur;

i) Kendini yenileme,

ii) Farklı hücrelere farklılaşma yetkinliği (potensi)

iii) Klon oluşturma yeteneği (Smith, 2001) bu ölçüt, her ne kadar embriyo kök hücrelerine, belli oranda fetüs kök hücrelerine uymaktaysa da, bir organizmanın yaşamı boyunca süren kök hücre davranışlarını açıklayamaz.

Bu hücreleri tanımlayan en geçerli ortak özellikler aşağıdaki gibidir (Can, 2014).

i) Dokularda az sayıda bulunurlar,

ii) Yaşam boyu belli oranda bölünürler ve bölündükçe sayılarını korurlar,

iii) Bölündüklerinde ortaya çıkan iki yavru hücreden en az birisi kök hücre olarak mevcut kök hücre havuzuna katılır,

iv) Çok kez bölünerek geçici (transit) hücreleri oluştururlar ki, bu hücreler kısa süre içinde bir farklılaşma yoluna giderek dokuya özgü farklılaşmış hücreleri oluşturur.

v) Genellikle bölünme hızları yavaştır; ancak doku yaralanması sonrasında yoğun bölünme etkinliği kazanırlar. Eğer yaralanma ve doku kaybı çok şiddetliyse, kendi hücre havuzlarının yenilenmesi için doğal bölünme hızlarını arttırırlar,

vi) Dokuların en kalıcı ve en uzun süre yaşayan hücreleridir, organizmanın yaşamı boyunca varlıklarını korurlar, ancak yaşla birlikte sayıları azalır,

vii) Büyüme faktörlerine ve sinyal moleküllerine oldukça duyarlıdırlar ve hızla yanıt verirler; TGF, Notch, Wnt ve Jak/ Stat gibi sinyal yollarını etkin bir biçimde kullanırlar,

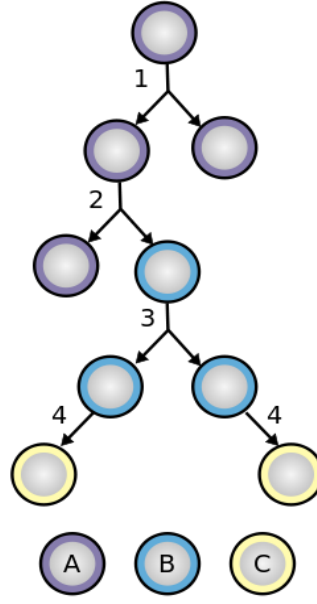
viii) Kök hücrelerin birçoğu hücre dönüşümünün  $G_0$  evresinde sessiz olarak bulunurlar. Embriyo kök hücreleri veya yetişkindeki çoğalan kök hücreler gibi bir grup hücre ise bu süreci çok hızlı geçerek hücre döngüsünü çok çabuk tamamlar,

ix) Diğer hücelere oranla farklı kromatin örüntüsüne sahiptirler. DNA metilazlar veya histon deasetilazların transkripsiyon baskılayıcıları tarafından veya Groucho ailesi proteinleri tarafından özgün DNA düzenlenişi kök hücelere özgün DNA özelliği kazandırır,

x) Tüm kök hücreler strese karşı dayanıklıdır. Bu özelliklerini çoklu ilaç direnci taşıyıcıları, özgün protein katlanma mekanizmaları, ubiquitin ve detoksifikasyon sistemleriyle başarırlar.

Kendini yenileme kavramı, kök hücre ve hücre kültürü literatüründe hücrenin çoğalma sayısı ile ilgili bir kavram olup “infinite/ölümsüz”, “sınırsız”, “sürekli”, “ileri derecede çoğalabilen” gibi farklı terimlerle de anılır. Ancak bu terimlerden bazıları, kök hücelere özelliklerini aşan bir anlam yükler. Söz gelimi, kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin 40-60 kez bölündükten sonra ciddi anlamda yaşlandıkları ve diğer kök hücre özelliklerini de kaybettikleri bilinmektedir (Luna ve ark, 2011).

Bir hücrenin kendini yenilemesi, eskiyen organellerinin onarılması anlamında değil, kök hücre havuzunun yenilenmesi anlamına gelir. Dolayısıyla kök hücre havuzunun tükenmemesi için her bölünen kök hücrenin en az bir yedeğinin ortaya çıkıyor olması ve bu havuza katılıyor olması gerekir. Bölünme sonrası iki farklı fenotipte hücre ortaya çıkar; hücrelerden birisi kök hücrenin yedeği niteliğinde kalırken; diğeri bir sonraki aşama için farklılaşır. Bu tür bölünme, ‘asimetrik hücre bölünmesi’ olarak adlandırılır. Asimetrik hücre bölünmesi prensip olarak ya çevre asimetrisi ya da bölünme asimetrisi olarak iki yolla gerçekleşir (Şekil 1. 16) (Watt ve ark, 2006).



**Şekil 1.16.** Kök hücrenin bölünmesi ve farklılaşması. A: kök hücre; B: öncül hücre; C: farklılaşmış hücre; 1: simetrik kök hücre bölünmesi; 2: asimetrik kök hücre bölünmesi; 3: öncül bölünme; 4: son farklılaşma ([http://tr.wikipedia.org/wiki/Kök\\_hücre](http://tr.wikipedia.org/wiki/Kök_hücre))

Kök hücrelerin birçoğu, ilk bölünmeden sonra hemen farklılaşma yoluna gitmezler. Yukarıda değinildiği üzere bir kısmı kök hücre olarak kalmayı seçerken diğer bir dizi bölünme sürecine daha girer ve bunun sonucunda farklılaşmadan bölünen hücreler ortaya çıkar; çoğalan geçici hücreler denir. Bu kök hücrelerin organizmada idareli kullanıldığı anlamına gelir.

Farklılaşma yetkinliği (potensi) veya farklılaşma zenginliği bir kök hücrenin gelişim hiyerarşisinde hangi basamakta yer aldığı ile ilgili olup en tartışmalı konulardan birisidir.

Tek bir hücre türüne farklılaşabilen (unipotent) hücreleri kök hücre olarak nitelendirmek yerine progenitör, prokürsör olarak nitelendirmek daha doğrudur, bu hücreler kök hücrelerden köken almış olup çoğunlukla bir veya iki hücreye farklılaşma yeteneğine sahip, sınırlı sayıda çoğalabilen hücrelerdir. Farklılaşma, aslında göreceli bir kavramdır; yani bir hücrenin farklılaşması ve böylece fenotipinde meydana gelen değişimler, ancak bir başka hücre ile kıyaslandığında anlam kazanır.

Günümüzde, bir hücrenin farklılaşmasında rol oynayan en önemli mekanizmanın epigenetik mekanizmalar olduğunu biliyoruz. İlk kez Waddington tarafından 1957 yılında oluşturulan modele göre; hücrede farklılaşma üzerinde rol oynayan ve kalıtılabilen bu genom ötesi düzenlemeler vardır. Bu düzenlemeler söz konusu hücrenin hangi farklılaşma durumunda olacağını belirlemekte, bunun da

ötesinde bu mekanizmaların etkisinin artması veya azalmasıyla hücre durum değiştirebilmekte, sonuç olarak vücudumuzdaki kök ve öncü hücreler buna göre davranmaktadırlar (Can, 2014).

Farklılaşma, ileriye ve geriye farklılaşma olarak ele alındığında plastisite kavramından söz edilir. Bir hücrenin farklılaşma yolunda ileri gitmesi daha olağan bir durum gibi gözükürken; gerektiğinde, farklılaşmaya başladığı noktaya kısmen veya tamamen geri dönmesi 'geriye farklılaşma' olarak adlandırılır ki, günümüzde deneysel olarak elde edilmiş uyarılmış pluripotent kök hücreler (uPK) (induced-Pluripotent Stem Cells; iPSCs), bu mekanizmanın gerçekleştiği en tipik örneklerden birisidir.

Klon oluşturma yeteneği (klonalite) kök hücrelerin vazgeçilmez özelliklerinden birisi olmak durumundadır. Tek bir hücreden çok sayıda yeni hücre üretmesi olarak tanımlanan klonalite, klonun büyüklüğüne göre (içerdiği hücre sayısı) ve klon oluşturma hızına göre kök hücreler arasında yapılacak kıyaslamalarda kullanılan ölçütlerdir.

### **1. 2. 1. Kök Hücre Türleri**

Zigotun birbirini izleyen 5-6 kez bölünmesi ile blastokist oluşur. Bu aşamadaki hücreler bütün organları oluşturmak üzere giderek çoğalır, farklılaşır (diferansiyasyon) ve kararlanır (determinasyon). İnsanda 4-6 günlük bir blastokistin iç hücre kütesinde yer alan hücreler 'embriyon kök hücresi' olarak isimlendirilir. Çünkü bunlar, embriyon gövdesine ait bütün hücre tabakalarını ve onlardan köken alacak olan organ sistemlerini oluşturma yeteneğine sahiptir (totipotent; totus: bütün). Bu aşamada embriyon gövdesi dışına çıkarıldıklarında deneysel yolla farklılaşmaları ve dokudaki hücelere benzer hücelere dönüşebildikleri birçok kez gösterilmiştir. Ancak yüksek telomeraz aktivitesi sonucunda kontrolsüz çoğalmayla tümör hücrelerine dönüşme olasılığı da yüksektir.

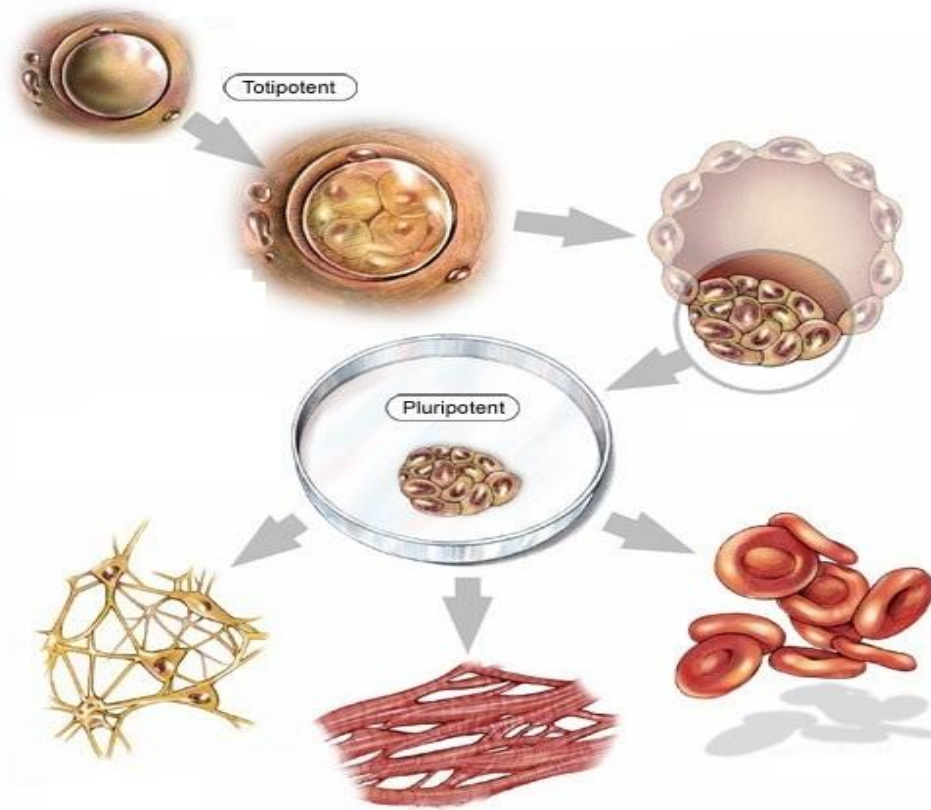
Öte yandan gelişmekte olan organizmada (fötal, prenatal, postnatal, infantil, çocukluk dönemi) embriyonal kök hücrelerinden söz etmek mümkün değildir. Başta kemik iliği olmak üzere çeşitli organlarda ve bu organların belirli bölgelerinde gerektiğinde kendiliğinden çoğalabilen, kararlanabilen ve farklılaşabilen hücreler varlığını sürdürür. Bunlara: 'yetişkin kök hücreler' veya 'dokuya özgü kök hücreler' adı verilmektedir. Bu hücreler totipotent özelliğe sahip olmadıkları için daha az



sayıda hücre türüne farklılaşırlar, bu özellikleri nedeniyle multipotent, unipotent olarak değerlendirilirler (Şekil 1.17, Tablo 1. 2) (TürkiyeBilimlerAkademisi, 2009).

**Tablo 1. 2.** Kök hücre türleri. EKH: embriyon kök hücreleri; YKH: yetişkin kök hücreleri (Türkiye Bilimler Akademisi, 2009).

	<i>Hücre tipi</i>	<i>Farklanma etkinliği</i>	<i>Farklanma yönü</i>
<b>EKH</b>	Morula aşamasındaki hücreler	totipotent	Embriyon ve embriyon dışı tabakalar
<b>EKH</b>	Blastokist aşamasındaki iç hücre kitlesi	pluripotent	Embriyon gövdesi (tüm somatik ve germ hücreleri)
<b>EKH</b>	Gastrula aşamasındaki epiblast hücreleri	pluripotent	Endoderm , mezoderm ve ektoderm
<b>EKH</b>	Ektodrm, endoderm ve mezoderm hücreleri	pluripotent	Tüm somatik hücreler
<b>YKH</b>	Özgün doku hücreleri	multipotent	Hücrenin bulunduğu dokuya göre bir veya daha fazla hücre
<b>YKH</b>	Bir dokuya yerleşik hücreler	unipotent	Bir hücre tipi



**Şekil 1. 17.** Kök hücre türleri ve farklılaşma özellikleri.

### 1. 2. 2. Yetişkin Kök Hücreler

Yetişkin kök hücreler (YKH), erken embriyo gelişimini tamamlamış bir organizmada bulunan kök hücreler olarak tanımlanır. Yetişkin organizmadaki çoğalan geçici hücrelerin öncüsü olan bu hücreler hasarlanan dokuların yenilenmesinde görev alır. Somatik hücreler olarak da adlandırılan bu hücreler bazen “dokuya özgü kök hücreler” olarak isimlendirilirler. Pluripotent embriyo hücreleri, ilkel cinsiyet hücreleri, nöral krista kök hücrelerinin bir kısmı ve embriyo dışı mezogerm kaynaklı hücreleri bir kenara ayıracak olursak bu grupların dışında kalan tüm kök hücreleri yetişkin kök hücre şemsiyesi altında ele alabiliriz.

Günümüzde üzerinde en çok çalışılan YKH tipleri hematopoetik kök hücreler (HKH), mezenkimal kök hücreler (MKH), nöral kök hücreler (NKH), bağırsak kök hücreleri(BKH) ve endotel kök/öncü hücreleridir. Bunların dışında kalp, karaciğer, akciğer, pankreas, göz, burun, kulak gibi organlarda yer alan parankim hücrelerinin köken aldığı kök hücrelerden söz edilebilir.

Yetişkin kök hücreler arasında multipotent olanların yanı sıra oligopotent hatta unipotent olanlarına da rastlamak olasıdır. Bu hücreleri öncü hücrelerden ayıran en önemli özellik, belki de pluripotent hücrelerde olduğu gibi asimetric hücre bölünmeleriyle bölünüyor olmalarıdır. Böylece, kök hücre havuzunun yenilenmesi ve yaşam boyunca kök hücre sayısının görece azalmadan sürdürülebilmesi garanti altına alınır. YKH hemen hiç birisi doğrudan bölünmeye uğramazlar. Bunun yerine çoğalan geçici hücreleri meydana getirirler ve bu sürecin sonunda sonuna kadar farklılaşmış hücrelere dönüşürler.

### 1. 2. 3. Mezenkimal Kök Hücreler

“Mezenkim” terimi epiblastın farklılaşmasından başlayarak embriyonun gelişmesinde ve daha sonra fetüsün yaşamında önemli yer tutan, bağ dokusu yapısındaki dokulara verilen genel isimdir.

HKH (Hematopoetik kök hücre)’nin keşfinden kısa süre sonra Friedenstein ve ark. farede kemik iliği stromasını bir başka dokuya naklettiklerinde (heterotopik nakil) kemik, yağ, kıkırdak ve retikulum hücrelerine dönüşebileceğini göstermişlerdir (Friedenstein ve ark, 1966). Bu bulgu, kemik iliğinde hematopoetik olmayan bir grup öncü hücrenin olduğunu ortaya koymuştur. Bu hücrelerin etkinliği daha sonra HKH etkinliğini ölçmede kullanılan yöntemin bir benzeri olan fibroblast

kolonisi oluşturan birim (CFU-F) etkinliğiyle ölçülmüş ve bu hücrelerin fibroblast öncüsü hücreler oldukları öne sürülmüştür (Friedenstein ve ark, 1970). Temel olarak bu hücreler plastik yüzeye yapışmaları ve in vitro olarak çoğaltılabilmeleriyle tanımlanmışlardır. Yıllar sonra bu hücreler tek bir koloniden ayrıştırılarak in vitro olarak osteoblast, adiposit ve kondrosite farklılaştırılmıştır (Pittenger ve ark, 1999). Birden fazla hücre serisine farklılaşabilmeleri (multipotensi) ve in vitro çoğalabilme (kendini yenileme), yani kısaca köklülük (stemness) özelliği göstermeleri nedeniyle bu hücreler mezenkimal kök hücre (MKH) olarak adlandırılırlar (Caplan, 1991; Prockop, 1997). Bu isim altında ele alınan hücreler o günden bu yana yetişkin ve embriyonun özellikle bağ dokusu yapısındaki birçok dokudan elde edilmiş ve günümüzde kök hücre çalışma alanının önemli konularından biri haline almıştır. Günümüzde bu hücrelerin hangi dokulardan elde edilip hangi hücre serilerine dönüştürülebildiğine ilişkin binlerce araştırma makalesine ve yüzlerce derleme ve kitap bölümüne ulaşmak mümkündür (Can, 2014).

Uluslararası hücre tedavileri topluluğunun mezenkimal kökenli kök hücreler için tanımladığı kıstaslar şu şekilde sıralanabilir;

1. Plastik ve cam yüzeylere yapışabilme,
2. Hücre yüzeyinde minimum CD73, CD90, CD105 pozitif ifadesi (ekspresyonu) yanı sıra hematopoetik kök hücre belirteçleri olan CD45, CD34, CD14 veya CD11b, CD79  $\alpha$  veya CD19 ve HLA-DR yüzey moleküllerinin negatifliği,
3. Bu hücrelerin in-vitro adiposit, kondrosit veya osteoblast gibi mezenkimal hücrelere dönüşebilme yeteneğinin bulunmasıdır (Dominici ve ark, 2006). İlerleyen zaman içinde bu hücrelerin mezoderm dışında, endoderm ve ektoderm kökenli hücrelere de dönüşebildikleri in-vivo ve in-vitro çalışmalarda gösterilmiştir (Snykers ve ark, 2011; Trzaska ve ark, 2007; Zavan ve ark, 2010).

MKH insan vücudunun özellikle damardan zengin bağ dokusu içeren dokulardan elde edilmektedir. Bunlar arasında kemik iliğinin en çok MKH içerdiği kanısı hakim olsa da yağ dokusu, göbek kordonu stroması gibi MKH kaynaklarının da yabana atılmayacak yetkinliğini ortaya koyan çalışmalar giderek artmaktadır. Ancak unutulmaması gereken nokta, bu kaynaklardan elde edilen hücrelerin sayısı, genetik yapıları (Wagner ve ark, 2005), fenotipleri, büyüme-çoğalma ve farklılaşma özellikleri, sitokin ve kemokin salgılama yetileri değişen oranlarda birbirinden farklılık gösterir (Friedman ve ark, 2007). Onarım tıbbı açısından değerlendirildiğinde; her hücrenin aynı verimlilikte yanıt vermesi beklenemez.

Örneğin, kemik iliğinden elde edilen MKH'nin kondrojenik farklılaşma yetisi, yağ dokusundan elde edilenlere göre daha yüksektir (Huang ve ark, 2005). İnsanlarda MKH kaynaklarını değerlendirirken kişinin yaşını da dikkate almak gerekir. MKH'nin sayısı yaşla birlikte azalmaktadır, yeni doğanın kemik iliğinde her 10.000 çekirdekli hücreden birisinin MKH olduğu, buna karşın ergenlik yıllarında bu sayının 1:100.000, 30'lu yaşlarda 1:250.000, 50'li yaşlarda 1:400.000 ve 80'li yaşlarda 1:2.000.000 olduğu varsayılmaktadır (Caplan, 1994) (Tablo 1.3).

#### **1. 2. 4. Yağ Dokusu Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreler (ADSC)**

Yağ dokusunu oluşturan hücrelerin %90'ı adipositdir. Flow-sitometri ile yapılan incelemeler sonucunda yağ dokusu içerisinde; matür adiposit, pre-adiposit, post-adiposit (obesite sırasında yağ hücresine dönüşen ve kilo kaybıyla yeniden eski hücre tipi olan fibroblast yerine adiposit olarak kalan hücreler), mezenkimal kökenli kök hücre, makrofaj, fibroblast, retikülosit, vasküler endotel hücreleri, mast hücreleri ve sinir sistemi elemanlarının da bulunduğu tesbit edilmiştir (Astori ve ark, 2007). Yoshimura ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada: intakt yağ dokusunun %16 adiposit, %30 adipoz kökenli kök hücre, %15 endotel, %9 kan orjinli hücreler ve %30 diğer hücrelerden oluştuğu bildirmiştir (Eto ve ark, 2009).

Kök hücrelerin yağ dokusu içerisinde kan damarları çevresindeki perisitler olduğu veya fibroblastların bir subpopulasyonu olabileceği şeklinde yorumlar mevcut olmakla birlikte henüz kökenleri net olarak tanımlanamamıştır (Amos ve ark, 2008; Crisan ve ark, 2008; Traktuev ve ark, 2008). Son dönemde yağ dokusu içinde, adipositler arasında SSEA-3 (stage specific embriyonic antigen) olarak tanımlanan ve diğer adipoz kökenli kök hücrelerden farklı yeni multipotent master hücre türü keşfedilmiştir (Gündeşlioğlu ve ark, 2013; Kuroda ve ark, 2010; Wakao ve ark, 2011). Bu bilgi, biri yağ dokusu içinde sınırlandırılmış ve sadece acil durumlarda aktive olan multipotent kök hücrelerin varlığını, diğeri ise kapillerler çevresinde yerleşen ve dokunun fizyolojik dönüşümünü düzenleyen progenitor hücrelerin varlığını ortaya koyması bakımından önemlidir. Yağ doku kökenli kök hücreler, diğer endotel hücrelerinden, makrofajlardan ve periferik monositlerden minimum CD105, CD73 ve CD90 olmak üzere taşıdıkları farklı fakat sabit yüzey ayırıcılarının varlığıyla ayrılırlar (Gündeşlioğlu ve ark, 2013).

**Tablo 1. 3.** İnsanda perinatal ve yetişkin kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin elde edildiği doku ve organlar (Can, 2014).

Doku/ Organ	Kaynaklar (ilk tanımlayanlar)
<b><i>Fetus ve yenidoğanın doku ve organlar</i></b>	
Amniyon sıvısı	In't Anker ve ark. 2003
Amniyon zarı	In't Anker ve ark. 2003
Dermis	Young ve ark. 2001; Toma ve ark. 2005
Göbek kordonu kanı	Erices ve ark.2000
Göbek kordonu stroması	Wank ve ark. 2004
Göbek kordon veni duvarı	Cavas ve ark. 2003; Romanov ve ark.2003
İskelet kası	Young ve ark. 2001
Karaciğer	Campagnoli ve ark. 2001
Kemik iliği	Campagnoli ve ark. 2001
Pankreas	Hu ve ark.2003
Periferik kan	Campagnoli ve ark. 2001
Plasenta	Zhang ve ark.2003
<b><i>Yetişkin doku ve organları</i></b>	
Akciğer	Sabatini ve ark. 2005
Dalak	Krampera ve ark. 2007
Dermis	Young ve ark. 2001
Diş pulpası	Gronthos ve ark.2000
Endometrium	Schwab ve Gargett 2007
Fallop tüpleri	Jazedze ve ark.2009
Göz (limbus)	Polisetty ve ark.2008
İntervertebral disk	Rizbud ve ark.2007
İskelet kası	Williams ve ark. 1999
Kemik	Bruder ve ark. 1997
Kemik iliği	Castro-Malaspina ve ark.1980
Kıkırdak	Alsalamhah ve ark.2004
Kıl folikülü	Jahoda ve ark. 2003
Menstüral kan	Cui ve ark. 2007
Pankreas adacıkları	Gallo ve ark.2007
Pankreas duktus epiteli	Seeberger ve ark.2006
Periferik kan	Fernandez ve ark. 1997
Periost	Nakahara ve ark. 1991
Periyodontal ligaman	Seo ve ark. 2004
Retina	Covas ve ark. 2008
Sinoviya zarı ve sıvısı	De Bari ve ark. 2001
Süt dişi pulpası	Miura ve ark. 2003
Tendon	Young ve ark. 1998
Timus	Krampera ve ark. 2007
Visseral ligamanlar	Cheng ve ark.2009
Yağ dokusu	Zuk ve ark. 2001

## 1. 2. 4. 1. Yağ Doku Kökenli Kök Hücrelerin Doku Onarımında Etki Mekanizmaları

Kök hücrelerin doku onarımına katkıları özellikle doku yaralanmasının var olduğu durumlarda ortaya çıkar. Normalde sağlıklı doku içerisinde sessiz bulunan kök hücreler, yaralanma sonrası ortaya çıkan endokrin ve parakrin çağrılar (selektin, kemokin, integrin etkileşimleriyle) sonucu çevre dokulardan ve kemik iliğinden yaralanmış dokuya doğru göç eder (Fox ve ark, 2007). Kök hücreler, aldıkları sinyal mekanizmaların etkisi ile ortamdaki progenitor hücreleri çoğalma ve farklılaşmaya stimüle etmeleri yanı sıra salgıladıkları büyüme faktörleri ve mediatörler yoluyla da anti-inflamatuar ve immunmodulatuar etki gösterirler ve matriksin yeniden şekillenmesine katkıda bulunurlar (Caplan, 2007; Chamberlain ve ark, 2007; Dazzi ve Horwood, 2007; Phinney ve Prockop, 2007; Uccelli ve ark, 2007). Kök hücrelerin, transfer edildikleri ortamlarda bulunan hücre türlerinin yüzey işaretçilerini sunabildikleri immünohistokimyasal yöntemler ve revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ile gösterilmiştir. Fakat temelde etkilerini ortam hücrelerine dönüşerek mi veya parakrin fonksiyonlarıyla mı yaptıkları konusundaki tartışma halen devam etmektedir.

Doku hasarının ilk gününde ortama, yaralanmış dokulardan ve aktive olan plateletlerden; temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF, basic fibroblast growth factor), trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF, platelet-derived growth factor), epidermal büyüme faktörü (EGF, epidermal growth factor), dönüştürücü büyüme faktörü (TGF- $\beta$ , transforming growth factor- $\beta$ ) ve tümör nekrozis faktör TNF $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ ) salınır (Aiba-Kojima ve ark, 2007; Muthukrishnan ve ark, 1991).

Yoshimura ve arkadaşlarının, yağ dokusunda iskemi ve reperfüzyon yaralanmasıyla ilgili yaptıkları deneysel çalışmada; yaralanmanın 1. gününde ortama salınan bFGF faktöre ve iskemiye cevap olarak, yağ dokusu kaynaklı kök hücrelerin (ADSC, Adipose Derived Stem Cell), çoğalmakla kalmayıp aynı zamanda kuvvetli damarlanma stimülanı ve fibrogenesis inhibitörü olan hepatosit büyüme faktörü (HGF, hepatocyte growth factor), salgıladıkları tespit edilmiştir (Suga ve ark, 2009). Ortamdaki apoptotik endotel hücrelerinden salınan EGF'ün de kök hücrelerin anti-apoptotik cevabını arttırdığı gösterilmiştir (Soulez ve ark, 2010). ADSC'lerin ortamdaki büyüme faktörleri ve stimülanlara cevap olarak hem adipositlere hem de

vasküler endotelial hücelere dönüştüğü düşünölmekle birlikte, vasküler endotel hücelerine dönüştüm deneysel çalışmalarda gösterilmiş ve fakat in vivo çalışmalarda nadiren tespit edilmiştir (Kondo ve ark, 2009; Moon ve ark, 2006). Ayrıca, kök hücelerin yaralanmış ortama infiltre olan lökositlerden salınan pro-inflamatuar sitokinlerin interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), TNF- $\alpha$ , interferon- $\gamma$  ve nitrik oksit sentetaz NOS (nitric oxide synthase) salınımını azaltıp, anti-inflamatuar sitokinlerin (IL-1beta, IL-10, bFGF, TGF- $\beta$  ve antipitotik gen Bcl-2) salınımını arttırdığı da gözlenmiştir (Cui ve ark, 2007; Niemeyer ve ark, 2008).

Bu mediatörlerden özellikle TGF- $\beta$  mezenkimal kök hücelerin doku hasarı üzerindeki etkilerinin yönetilmesinde önemli rol oynar ve çevre yağ dokuda sessiz pozisyonda bulunan veya kemik iliğinden orijin alan diğerk kök hüceleri aktive ederek ortama çağırır. Yaralanmanın 2-4. (inflamatuar faz) günlerinde yağ dokusu içinde yerleşmiş mast hüceleri ve trombositler de diğerk hüceler gibi TNF alfa, VEGF, PDGF, TGF-B salgılayarak iyileşmeye katkıda bulunur. Yaralanmanın 5-7. günlerinde (proliferasyon fazı) ise VEGF, HGF, IL-8 ve matriks metalloproteinaz-8'in (MMP-8) yara sıvısında arttığı gösterilmiştir (Doi ve ark, 2013). Kompansatuar proliferasyon olarak da adlandırılan bu dönemde yağ doku kökenli kök hücelerin yeni yağ dokusu hücelerini oluşturduğu gösterilmiştir (Fan ve Bergmann, 2008).

Bu şekilde bir taraftan iskemiye bağılı bir grup hücre apoptoza giderken bir taraftan da yeni nesil adipositler oluşturularak remodeling sürecine girilmiş olur ve yaklaşık 2 hafta içerisinde yaralanmış yağ dokusu iyileştirilir. Ortamda bulunan kök hücelerin sayısı ve kök hücelerin yerleştiği mikro çevreyi oluşturan matriks bileşenleri sürecin yeni dokunun rejenerasyonu ile mı yoksa fibrozis ve kalsifikasyonla mı sonuçlanacağını belirler (Gündeşlioğlu ve ark, 2013).

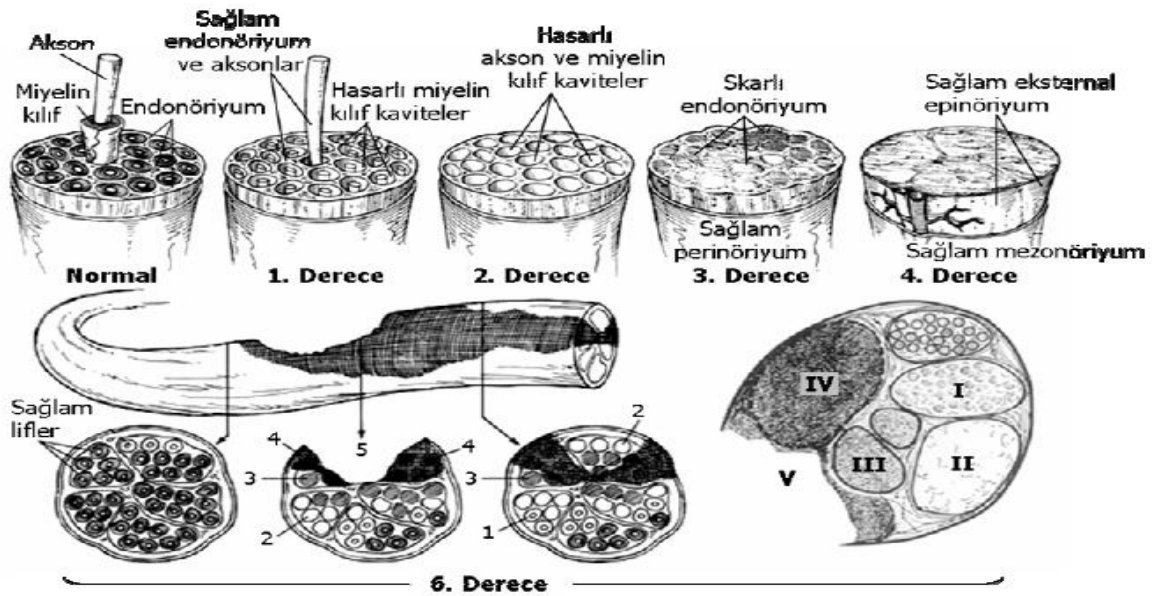
MKH klinik kullanımları henüz yenidir ancak farklı türlerde bugüne kadar yürütölmüş ve yürütölmekte olan yüzlerce hayvan deneyi bu hücelerin gerek otolog gerekse allojenik olarak birçok hastalıkta kullanılabileceğini göstermektedir. MKH lokal hasarların onarımı amacıyla organizmaya verilmeden önce laboratuvarda istenen hücre tipine in vitro olarak farklılaşabileceği gibi daha yaygın biçimiyle 1-3. pasajlarda yeterince hücre sayısına ulaşıldığında vücuda verilir. Çoğunlukla hastanın kilosu başına 1-2 milyon hücre verilmektedir. Veriliş şekli de en çok tartışılan konulardan birisidir. Hücelerin yamanma özelliklerinin bulunması nedeniyle yerel uygulamanın yanı sıra ven yoluyla da uygulama yaygındır (Can, 2014).

### 1. 3. Periferik Sinir Yaralanması

Periferik sinir yaralanmaları birçok sebebe bağlı oluşabilir. Burada en önemli faktör yaralanmanın derecesidir. Sinir yaralanmalarında Seddon (1947) ve Sunderland (1951) tarafından tarif edilen iki önemli kabul görmüş sınıflandırma mevcuttur (Seckel, 1990; Thomas PK ve ark, 1993) (Tablo 1. 4, Şekil 1.18).

**Tablo 1. 4.** Sinir yaralanma sınıflandırmalarının özeti (Seddon, 1947)

Seddon	Seddon	Hasar	İyileşme Potansiyeli
Nöropraksi	I	İyonik blok; olası segmental demiyelinizasyon	Tam
Aksonotmezis	II	Akson kopması; endonöral tüp sağlam, distal segment Wallerian dejenerasyon	Tam
	III	Endonöral tüp kopması, perinörium sağlam	Yavaş; inkomplet
	IV	Perinörium hasarı, yalnızca Epinörium sağlam	Nöroma
Nörotmezis	V	Epinörium hasarı, sinirde tam kopma	Yok
	VI	Sinir trasesi boyunca değişik seviyelerde ve değişik derecelerde yaralanmalar	Yok



**Şekil 1. 18.** Periferik sinir yaralanmalarının sınıflandırılması (Brandt KE ve Mackinnon SE: Microsurgical repair of peripheral nerves and nerve grafts. Grabb and Smith's Plastic Surgery. Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM (eds) Lippincott-Raven, Philadelphia, s:82, 1997 and Mackinnon SE. New directions in peripheral nerve surgery. Ann Plast Surg. 22: 257-64, 1989'dan değiştirilerek).



### 1. 3. 1. Periferik Sinir Onarım Prensipleri ve Zamanlaması

Sinir onarımının, uygun magnifikasyon, mikrocerrahi alet ve sütürlerle mümkün olan en erken dönemde yapılması gereklidir. Hastanın klinik ve cerrahi durumu elverdiği sürece onarım gergin olmamalıdır (Myckatyn ve Mackinnom, 2007). Sinir onarımı için en uygun zaman yaralanmadan sonraki mümkün olan en erken dönemdir (Myckatyn ve Mackinnom, 2007). En iyi sonuçlar düzgün şekilde kesilmiş, erken onarım yapılan sinirlerde görülür. Sinir uçlarındaki vasküler işaretler ve fasiküler yapılar, erken onarımda dikkat edilmesi gereken yapılardır. Bunlara dikkat edilerek sinirin tam karşılıklı gelmesine çalışılır (Lundborg, 1987; Myckatyn ve Mackinnom, 2007).

Klinikte en sık kullanılan onarım tekniği epinöral onarımdır. Dikiş proksimal ve distal uçlardaki epinöriumdan geçer. Perinöral (fasiküler) onarım, en uygun esleşmeyi sağlayabilmek için proksimal ve distal sinir uçlarındaki eş fasiküllerin birbirlerine dikilmesi amaçlanır. Yapılan çalışmalar epinöral ve perinöral dikiş tekniklerinin birbirlerine bariz bir üstünlüğünün olmadığını göstermiştir (Bennett ve Schultz, 1993; Lundborg, 1987). Epiperinöral onarım, her iki yöntemin birleşimi olan bir tekniktir. Epinöral dikişlerin yeterli fasikül uyumu sağlayamadıkları, buna karşın perinöral dikişlerin ise hem aşırı intranöral diseksiyon, hem de içerdeki dikiş materyalleri nedeniyle fazla skar oluşumuna yol açtıkları düşüncesinden ortaya çıkmıştır.

## **2. GEREÇ ve YÖNTEM**

### **2. 1. Deney Gruplarının Belirlenmesi**

Tez projemizde Albino Wistar cinsi erişkin, dişi 65 sıçan sekiz gruba ayrılmış, ayrıca yağ dokusu kaynaklı kök hücre (ADSC) eldesi amacıyla da aynı cins erişkin, dişi 10 sıçan kullanılmıştır.

Grup 1: Sıçanların sağ siyatik sinirinde boşluk oluşturmeyen kesi yapıldı ve bu kesi primer dikiş ile karşılıklı birleştirilerek tamir edildi (n=9).

Grup 2: Sıçanların sağ siyatik sinirinde boşluk oluşturmeyen kesi yapıldı, bu kesi primer dikiş ile tamir edildi ve primer dikiş bölgesine yağ dokusu kökenli kök hücre eklendi (n=8).

Grup 3: Sıçanların sağ siyatik sinirinde 10 mm boşluklu hasar oluşturuldu ve otogreft ile tamir edildi (n=9).

Grup 4: Sıçanların sağ siyatik sinirinde 10 mm boşluklu hasar oluşturuldu, otogreft ile tamiri yapıldı ve tamir yapılan bölgeye yağ dokusu kökenli kök hücre eklendi (n=8).

Grup 5: Sıçanların sağ siyatik siniri etraf dokulardan ayrılarak açığa çıkartıldı ve bu diseksiyon sonrası başka işlem yapılmadan doku kapatıldı (n=8).

Grup 6: Sıçanların sağ siyatik siniri etraf dokulardan ayrılarak açığa çıkartıldı ve bu diseksiyon sonrası sinir etrafına kök hücre uygulanıp doku kapatıldı (n=7).

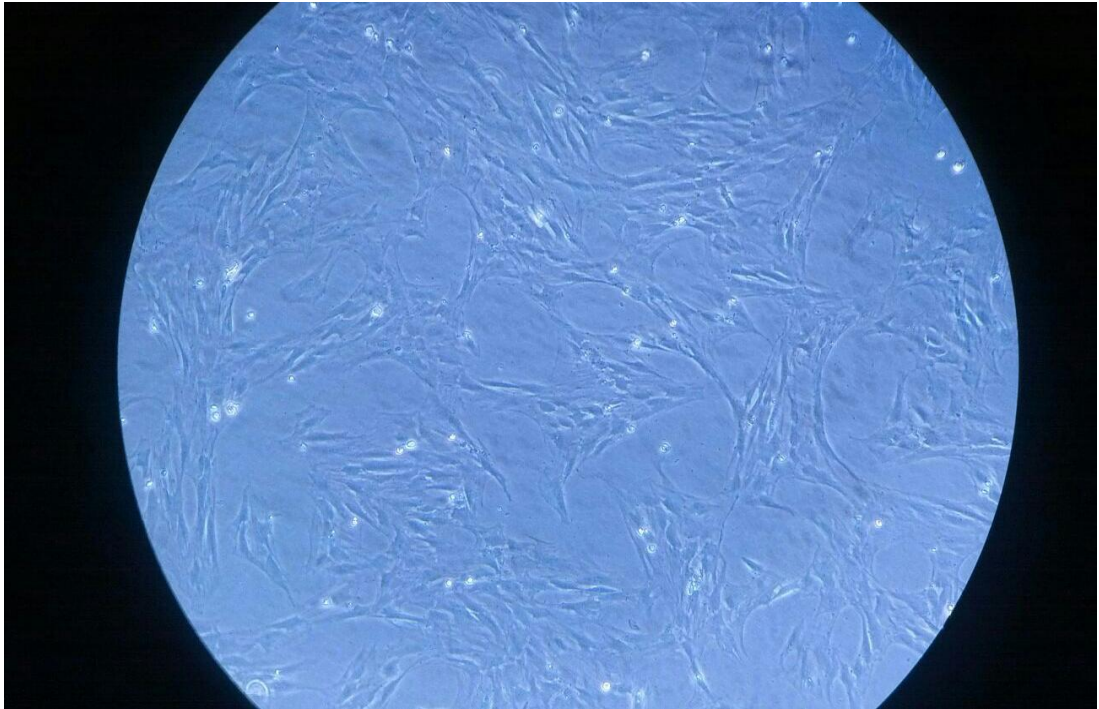
Grup 7: Bu gruptaki hayvanların sağ siyatik sinirleri operasyon yapılmamış kontrol grubu olarak kullanıldı (n=7).

Grup 8: Sıçanların sağ siyatik sinirinde 10 mm boşluklu hasar oluşturuldu, tedavi uygulanmadan proksimal distal uçlar komşu kas yapılarına sabitlendi (negatif kontrol grubu) (n=9).

## 2. 2. Yağ Dokusu Kökenli Kök Hücre Elde Edilmesi

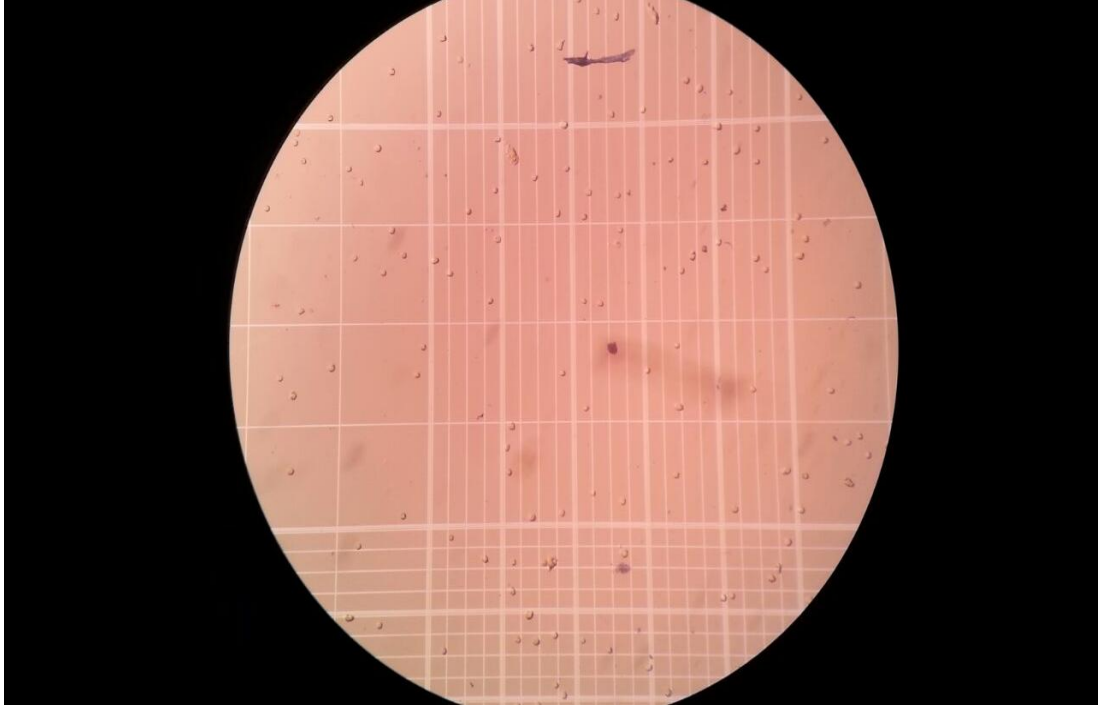
Kayseri Üniversitesi Gen-Kök Merkezi'nden yağ dokusu kaynaklı, yüzey belirteçleri CD45(-), CD90(+), CD44(+), CD29(+), CD73(+) olarak değerlendirilmiş  $2 \times 10^6$  kök hücre temin edildi.

Hücreler, %10 fütal sığır serumu (Foetal Bovine Serum; FBS), %1 L-glutamin, %1 penisilin/streptomisin içeren Modifiye Eagle's Medyum (MEM) içerisinde T75 flaskta 37°C, %5CO<sub>2</sub> şartlarında inkübe edildi. Flasklarda yeterli doluluk sağlanınca pasajlama işlemleri yapıldı. Pasajlama için; Tripsin/EDTA (Ethylene diamino tetraasetik asit) kullanıldı. Yaklaşık 6 ml Tripsin/EDTA her flaska eklendi ve 5 dakika beklendi. Yapışık halde bulunan hücrelerin medyum içerisinde yüzdüğü gözlemlendi. Tripsin/EDTA aktivitesini inhibe etmek amacı ile eklenen Tripsin/EDTA'nın %10'u oranında FBS (yaklaşık 600µl) içeren medyum eklendi ve 500 rpm ile 7 dakika santrifüj edildi. Elde edilen pellet içerisindeki hücreler sayılarak uygun sayıdaki flasklara ekimi yapıldı (Şekil 2. 1).



Şekil 2. 1. Yağ dokusu kaynaklı kök hücre kültürü.

Hücrelerin canlılık değerlendirmeleri trypan blue ile yapıldı. Yapılan sayımlarda % 95 ve üzeri oranda canlı hücre sayıldı (Şekil 2. 2).



**Şekil 2. 2.** Yağ dokusu kaynaklı kök hücrelerin canlılık değerlendirilmesi.

Elde edilen hücreler, kök hücre tedavisi planlanan sıçanlara  $1-2 \times 10^6/\text{kg}$  olacak şekilde uygulandı. Uygulama lokal olarak, hasar oluşturulan bölgeye yapıldı.

### **2. 3. Cerrahi İşlemlerin Yapılması**

Genel anestezi; ketamin  $60\text{mg}/\text{kg}$  ve xylazine  $8 \text{ mg}/\text{kg}$  ile yapıldı. Genel anestezi altında sıçanların sağ uyluk mediyal bölgeleri tıraş edildi ve povidone-iodine ile doku temizliği yapıldı. Yaklaşık olarak  $1,5 \text{ cm}$  boyutlarında longitudinal insizyon yapıldı (Noorafshan ve ark, 2011a). Sağ siyatik sinir siyatik foramene yaklaşık  $12 \text{ mm}$  uzaklıkta açığa çıkartıldı ve dikkatlice diseke edildi (Ngeow ve ark, 2011). Sadece diseksiyon yapılacak gruptaki (grup 5) sıçanlarda bu işlem sonrası, diseksiyon ve kök hücre uygulanacak gruptaki (grup 6) sıçanlarda diseke edilen bölge etrafına kök hücre eklendikten sonra cilt altı dokular ve cilt homeostasisine dikkat edilerek nylon sütün ile kapatıldı (Noorafshan ve ark, 2011b). 24 sıçanda (grup 3, 4, 8)  $10 \text{ mm}$  sağ siyatik sinir bölümü çıkartıldı (Mohammadi ve ark, 2013). Otogreft tamiri yapılacak gruptaki (grup 3) 8 hayvanda boşluk oluşturulurken çıkartılan  $10 \text{ mm}$ 'lik bölüm distal ve proksimal uca  $10/0$  epinöral sütünlerle tekrar eklenerek otogreft tamiri yapıldı (Meng ve ark, 2011). Otogreft ve kök hücre grubundaki (grup 4) sıçanlarda grup 3'teki gibi tamir yapıldıktan sonra tamir edilen bölge etrafına kök hücre eklenerek hemaostasisine uygun olarak doku kapatıldı.

Negatif kontrol grubundaki (grup 8) 8 hayvanda herhangi bir tedavi yapılmadan 10 mm boşluğun distal ve proksimal uçları komşu kas yapılarına 10/0 Nylon epinöral sütürlerle sabitlendi (Mohammadi ve ark, 2013). 16 sıçanda (grup 1, 2) diseke edilen sol siyatik sinire boşluk oluşturmeyen kesi yapıldı 8 hayvanda (grup 1) kesi uç-uca primer dikiş ile tamir edildi, 8 hayvanda (grup 2) uç-uca tamir yapıldıktan sonra tamir bölgesine kök hücre eklenerek uygun şekilde doku kapatıldı. Kontrol grubundaki (grup 7) hayvanlar herhangi işlem uygulanmamış kontrol grubu olarak kullanıldı. Tüm sıçanların cilt ve cilt altı dokuları homeostasise dikkat edilerek kapatıldı.

Hayvanlar 6 hafta  $21\pm 1^{\circ}\text{C}$  oda sıcaklığında, 12 saatlik karanlık aydınlık döngüsü ve ad libidum ile yaşatıldı. 6 haftalık dönem sonunda hayvanların yüksek doz genel anestezi (ketamine+xylazine; sırasıyla, 90mg/kg ve 10mg/kg, i.p.) altında servikal dislokasyon marifetiyle ötanazi işlemi yapıldı ve sağ siyatik sinirdeki işlem yapılmış olan 10 mm'lik bölüm çıkartıldı (Carriel ve ark, 2013), (Şekil 2. 3, 2. 4).



Şekil 2.3. Çalışmada kullanılan cerrahi donanım.



**Şekil 2.4.** Sıçanların operasyona hazırlanması, siyatik sinir diseksiyonu, hasar oluşturulması ve onarımı ile operasyon sonrası cilt ve cilt altı dokuların uygun olarak kapatılması.

## 2. 4. Değerlendirme Yöntemleri

Uygulamaların etkisinin değerlendirilmesi açısından; motor iyileşmeyi kontrol için, hayvanlar operasyon sonrasında ve deney sonunda (6 hafta sonunda) sakrifiye edilmeden önce foot-print (ayak izi) testine tabi tutuldu (Wei ve ark, 2011). Bu testte ayakaltları çini mürekkebi ile boyanan hayvanlar kâğıt üzerindeki yürüme hareketlerine göre motor işlevleri değerlendirilebilmektedir.

Çıkartılan periferik sinirde morfometrik parametrelerin değerlendirilmesi açısından; dokular, anti-S100, anti PGP 9.5 antikoları ile indirekt immunohistokimyasal yöntem ile flüoresan olarak işaretlendi. İmmunohistokimyasal olarak boyanan preparatlar flüoresan (Olympus BX51) ve konfokal (Nikon A1+) mikroskoplarda incelendi ve dijital 2D ve 3D olarak görüntülendi. Görüntülerde akson organizasyonu, Schwann hücre durumu, akson durumu gibi parametreler ayrı ayrı Image J 1.46r (Wayne Rasband, NIH, USA, Public Version) görüntü analiz programı ile analiz edildi ve nokta sayım cetveli ile skorlanarak karşılaştırıldı.

### 2. 4. 1. Frozen Kesitte İmmunoflüoresan Boyama Yöntemi

I- PBS'de taze hazırlanmış ve soğutulmuş %4 parafomaldehit ile (+4<sup>0</sup>C) 20-40 dakika fiske edildi

II- %30'luk sükröz solüsyonunda en az 1 gece bekletildi. Dokuların yeterli sükröz doygunluğuna ulaşp ulaşamadığı dibe çökmeleri kontrol edilerek yapıldı.

III- Frozen mikrotomda kesit alma işlemi yapıldı. Kesitler poly L-lysine kaplı özel lamlara alındı. Kesitler kurumalarını önlemek üzere nemli kutulara alındı ve kesitin etrafı kesit alınan lam yüzeyinde hidrofobik kalemle (PAP Pen<sup>®</sup>), arka yüzeyi ise cam yazar (permanent) kalemle işaretlendi.

IV- % 0.2 Triton X-100 içeren goat serum %5 (v/v) 1 saat bloklama işlemi gerçekleştirildi.

V- 1 kez 5 dk PBS ile yıkama

VI- Primer antikolar (1/100-1/300 dilüsyonda) ile 1 gece +4 °C inkübasyon,

VII- 3 kez 10 dk PBS ile yıkama

VIII- Fluorokrom konjuge (FITC/ Texas Red) sekonder antikorlar (antimouse / antirabbit IgG) (1/100-1/300 dilüsyonda) ile 1 saat karanlık ortamda inkübe edildi

IX- 3 kez 10 dk PBS ile yıkama (karanlık ortamda)

X- DAPI çekirdek boyaması yapıp Fluoromount Medium® ile lamel kapatılır (karanlık ortamda).

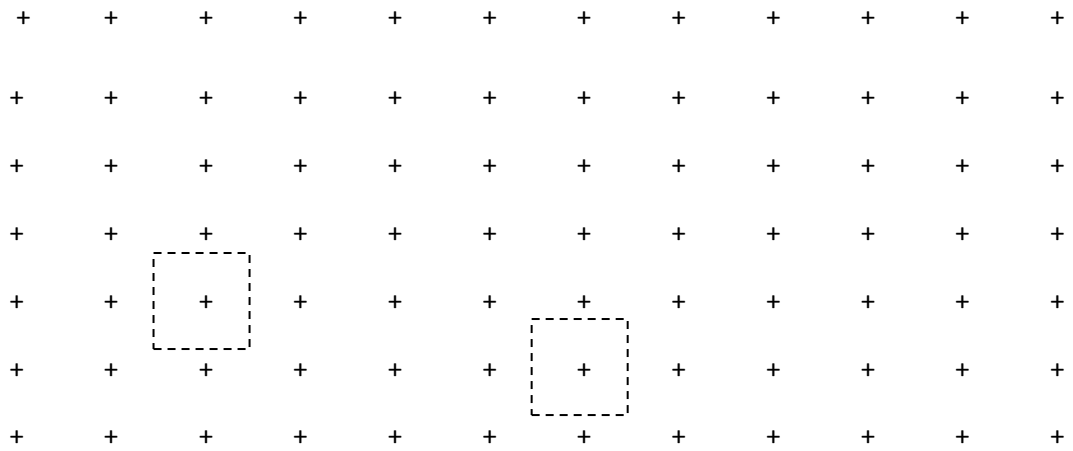
XI- Lamel kenarları şeffaf tırnak cilası ile tespit edildi (karanlık ortamda).

XII- Kuruması beklenerek-karanlık odada- mikroskopta incelendi

#### 2. 4. 2. Histomorfolojik analiz

İmmünohistokimyasal olarak: Dokular, anti-S100, anti PGP 9,5 antikorları ile indirekt immunohistokimyasal yöntem ile flüoresan olarak işaretlendi. S-100, FITC ile işaretlenerek flüoresan yansıması yeşil olarak kaydedildi. PGP 9,5, TR ile işaretlenerek flüoresan yansıması kırmızı olarak kaydedildi. DAPI içeren kapatma medyumu ile dokuların çekirdek işaretlemeleri (mavi) yapıldı.

Nokta sayım cetveli, bir asetat üzerinde eşit aralıklarla işaretlenmiş + işaretlerinden oluşmaktadır. Her bir + kendi etrafındaki birim alanı temsil etmektedir. Dolayısı ile her parametre için elde edilen nokta sayısı yüzdeye çevrilerek yüzde oranları belirlendi (Howard, 1998) (Şekil 2. 5). 40X objektif büyütmesi ile elde edilen dijital resimler monitör üzerinde nokta sayım cetveli kullanılarak analiz edildi (Şekil 2. 6).



Şekil 2. 5. Nokta sayım cetveli: Kare alanlar + işaretinin temsil ettiği birim alanı göstermektedir.





**Şekil 2. 6.** Monitöre yerleştirilmiş nokta sayım cetveli ile boyanma birimlerinin sayılması.

H&E boyama ile sinirin genel durumu, inflamasyon ve fibrosis varlığı ve derecesi, damarlanma durumu değerlendirildi ve 0-4 arası skorlandı.

#### **2. 4. 3. Yürüme Analizi ve Siyatik Fonksiyon İndeksi**

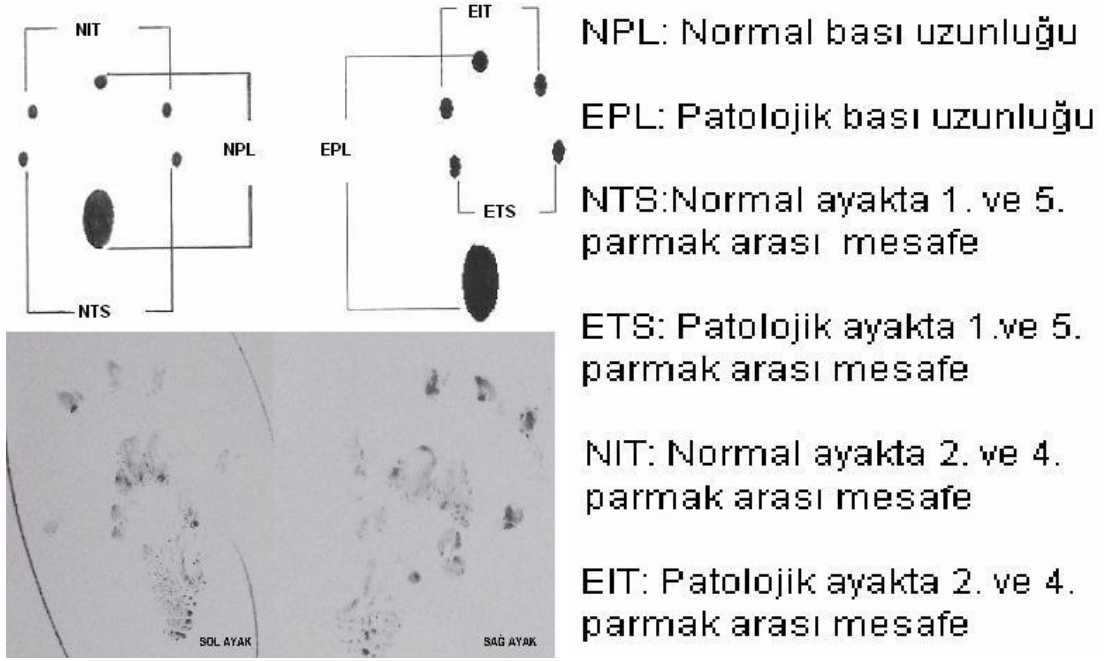
Sıçanların aynı doğrultuda yürümelerini sağlamak için 8.2 cm eninde 42 cm uzunluğunda, kenarları 12 cm yükseklikte olan bir yürüyüş yolu düzeneği hazırlandı (Kanaya ve ark, 1996; Ozmen ve ark, 2002; Varejao ve ark, 2004; Varejao ve ark, 2001). Yürüme kulvarı içine kulvar ile aynı boyutta kesilerek hazırlanan beyaz dosya kağıtları yerleştirildi. Sıçanların her iki arka ayakları mavi mürekkep emdirilmiş ıstampaya bastırıldı ve hazırlanan kulvarda yürütülerek ayak izleri alındı (Ozmen ve ark, 2002) (Şekil 2. 7).



**Şekil 2. 7.** Yürüme analizi düzeneğinin hazırlanması ve sıçanların ayak izlerinin alınması.

Kağıt şeritlerdeki en uygun ayak izleri kullanılarak, topuk ve parmak ucu arasındaki mesafe-bası uzunluğu (print length, PL), birinci ve beşinci parmaklar arası mesafe-adım genişliği (toe spread, TS), ikinci ve dördüncü parmaklar arası mesafe-adım ortası genişlik (intermediate toe spread, IT) milimetrik cetvel yardımı ile ölçüldü.

Her hayvanda deneysel (NPL, NTS, NIT) ve kontrol (EPL, ETS, EIT) taraflarında cetvelle ölçüldü. Her üç ölçüm için, deney sonrası (sol bacak) ve normal (sağ bacak,) arasındaki farkın normal değerlere bölünmesi ile bir faktör oluşturuldu (Bain ve ark, 1989), (Şekil 2. 8).



**Şekil 2. 8.** Sıçan ayak izlerinin analiz edilmesi.

-Baskı Uzunluk Faktörü (BUF):  $(EPL - NPL) / NPL$

-Parmak Ayıklık Faktörü (PAF):  $(ETS - NTS) / NTS$

-Orta Parmak Ayıklık Faktörü (OAF):  $(EIT - NIT) / NIT$

SFI:  $-38,3 \times BUF + 109,5 \times PAF + 13,3 \times OAF - 8,8$

Ölçümler ile elde edilen değerler De Medinacelli tarafından geliştirilen ve daha sonra Bain ve ark (82) tarafından modifiye edilen formüle yerleştirilerek SFİ hesaplandı. Sıfır ile -100 arası elde edilen değerlerde, sıfır: normal fonksiyonu gösterirken, -100: tam fonksiyon kaybına işaret etmektedir. Elde edilen SFİ değerlerinde gruplar arası fark olup olmadığı istatistiksel olarak araştırıldı

#### 2. 4. 4. İstatistiksel analiz

Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü varyant analiz (ANOVA) ile yapıldı. Post Hoc Test, Tukey HSD ile ikili karşılaştırmalar yapıldı. Anlamlılık seviyesi: 0,05 olarak alındı.

### 3. BULGULAR

#### 3. 1. Genel Değerlendirme Bulguları

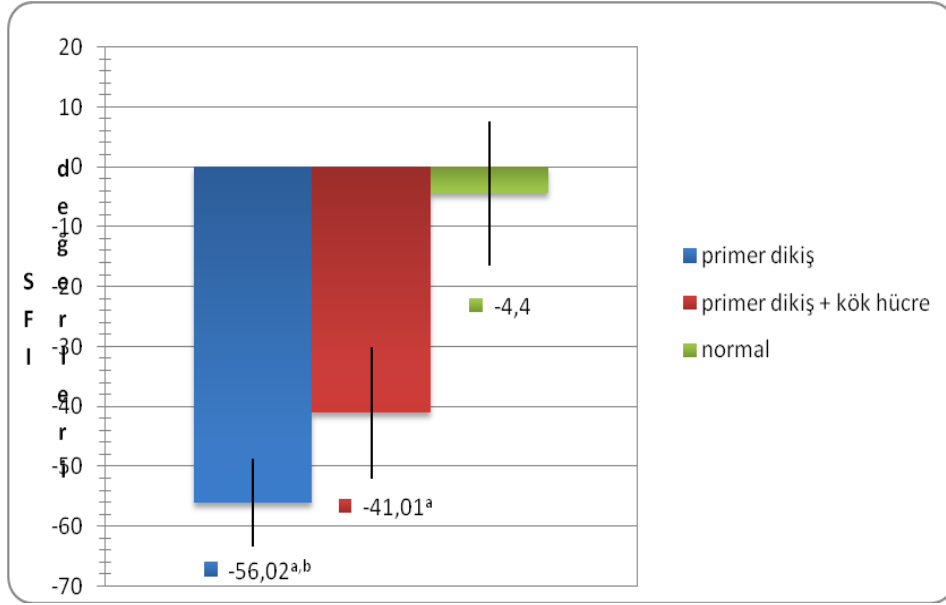
Altı haftalık takip süresi sonunda bir sıçan ölüm nedeniyle çalışma dışı kaldı ve değerlendirmeye 64 hayvan dâhil edildi. Cerrahi işlem sonrasında tüm ratların sağ alt ekstremitelerinde paralizi gözlemlendi ve bazı sıçanların ayak bilekleri ve dizlerinde kontraktür gelişimi gözlemlendi. Altı hafta sonunda tüm gruplarda paralizilerde kısmi düzelme olduğu ve kas atrofilerinin geliştiği gözlemlendi.

#### 3. 2. Yürüme Analizi ve Siyatik Fonksiyon İndeksi Bulguları

Postoperatif altıncı hafta sonunda, hazırlanan bir düzenek yardımı ile bütün gruplardaki sıçanların yürüme analizi yapıldı. İki sıçanda ayak parmaklarının olmaması sebebi ile yürüme testi analizi yapılamadı. Uygulanan yürüme testine göre grupların siyatik fonksiyon indeksleri gösterilmiştir (Tablo 3.1). Cerrahi işlemden altı hafta sonra ölçülen SFİ değerlerinde primer dikiş grubu ile (ortalama: -56.02) primer dikiş kök hücre (ortalama: -41.01) ve kontrol grupları arasında (ortalama: -4.44) anlamlı fark saptandı (Şekil 3.1). Ototogreft (ortalama: -60.97) ile otogreft kök hücre (ortalama: -47.61) ve kontrol grupları arasında (ortalama: -4.44) anlamlı fark olduğu ancak diseksiyon (ortalama: -20,56) ve diseksiyon kök hücre (ortalama: -19,56) arasında anlamlı fark gözlenmedi (Şekil 3.2, 3.3). Diseksiyon ve diseksiyon kök hücre grupları arasında anlamlı fark vardı (Tablo 3.2).

**Tablo 3. 1.** Sıçanların SFI sonuçları.

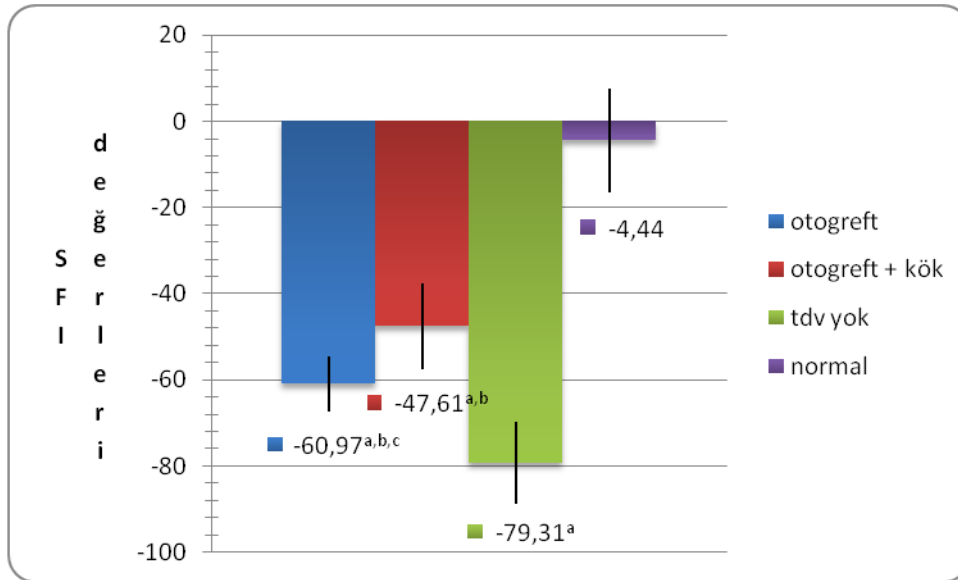
	Primer Dikiş	P. Dikiş+ Kök hücre.	Otogreft	Otogreft+ Kök hücre.	Diseksiyon	Diseksiyon+ Kök hücre.	1 cm boşluk	Normal
Sıçan 1	-64,86	-24,99	-69,79	-38,93	-19,21	-22,45	-82,43	4,36
Sıçan 2	-52,65	-37,59	-59,59	-37,72	-23,28	-21,13	-87,63	-3,57
Sıçan 3	-55,66	-40,05	-52,92	-66,32	-15,52	-18,88	-88,56	15,25
Sıçan 4	-48,32	-40,08	-66,41	-42,09	-13,04	-15,78	-77,41	-18,25
Sıçan 5	-56,61	-44,62	-68,42	-54,42	-27,15	-16,42	-60,06	-0,74
Sıçan 6	-58,73	-63,16	-54,76	-55,43	-19,65	-19,18	-83,34	-10,5
Sıçan 7	-48,59	-33,06	-53,66	-43,86	-26,08	-23,14	-75,71	-17,64
Sıçan 8	-49,61	-44,54	-59,61	-42,12				
Sıçan 9	-69,21		-63,64					
<b>Toplam</b>	<b>-56,02</b>	<b>-41,01</b>	<b>-60,97</b>	<b>-47,61</b>	<b>-20,56</b>	<b>-19,56</b>	<b>-79,30</b>	<b>-4,44</b>



<sup>a</sup> kontrol grubu ile kıyaslandığında  $p < 0,05$

<sup>b</sup> primer dikiş kök hücre grubu ile kıyaslandığında  $p < 0,05$

**Şekil 3. 1.** Primer dikiş, primer dikiş kök hücre ve kontrol gruplarının SFI değerlendirme grafiği.

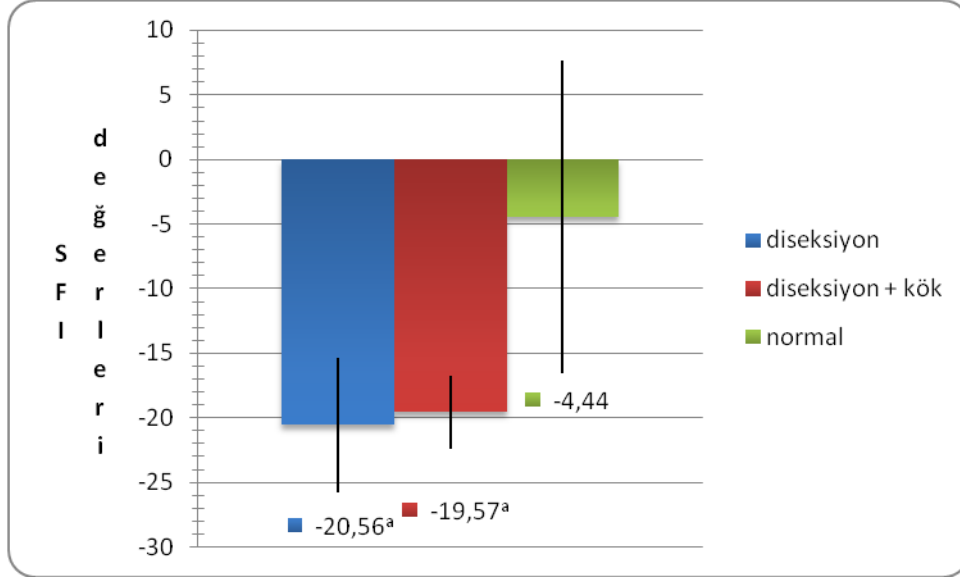


<sup>a</sup> kontrol grubu ile kıyaslandığında  $p < 0,05$

<sup>b</sup> tedavi uygulanmayan grup ile kıyaslandığında  $p < 0,05$

<sup>c</sup> otogreft kök hücre ile kıyaslandığında  $p < 0,05$

**Şekil 3. 2.** Otogreft, otogreft kök hücre, kontrol ve tedavi uygulanmayan gruplarının SFI değerlendirme grafiği.



<sup>a</sup> kontrol grubu ile kıyaslandığında  $p < 0,05$

**Şekil 3. 3.** Diseksiyon, diseksiyon kök hücre ve kontrol gruplarının SFI değerlendirme grafiği.

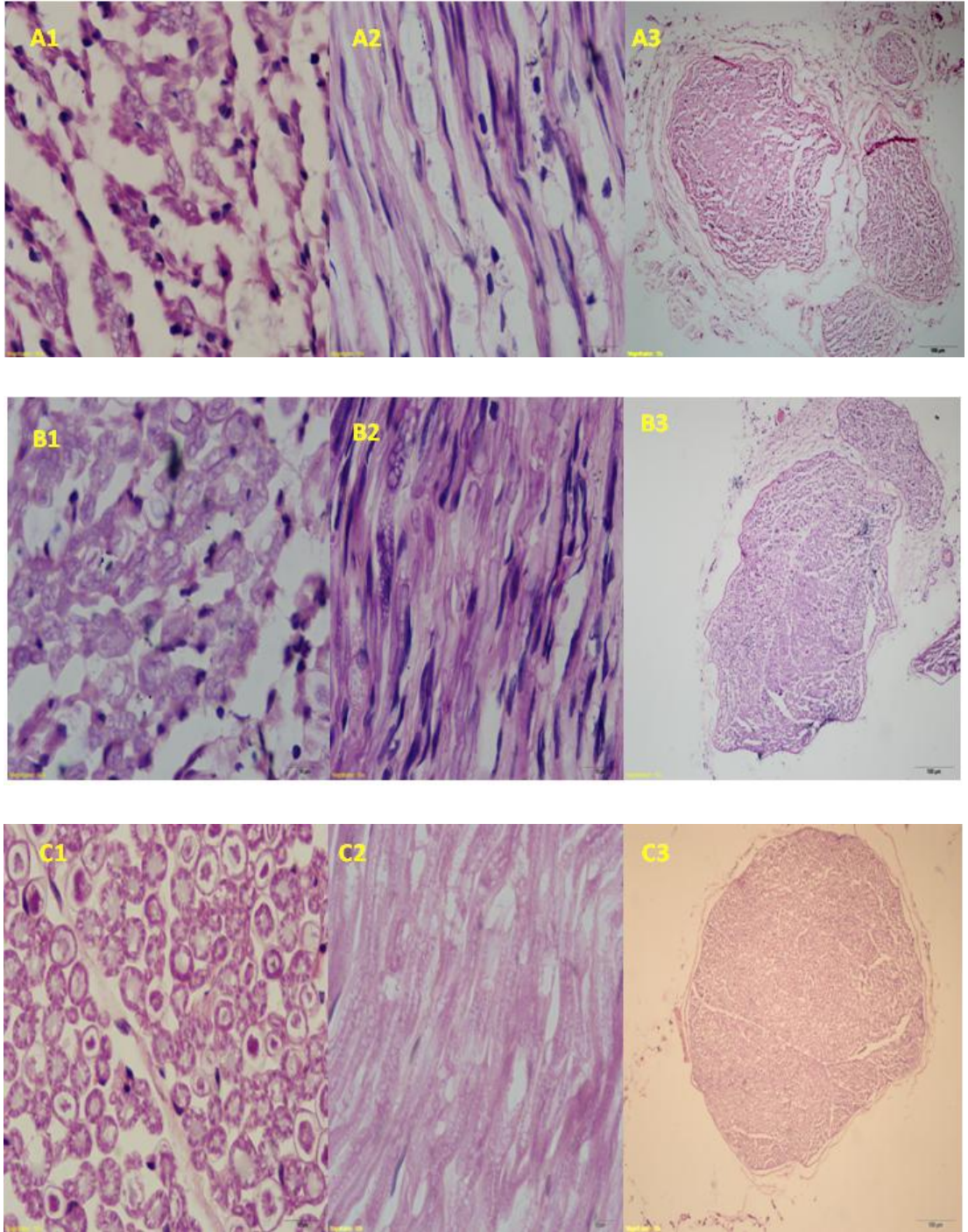
**Tablo 3. 2.** SFI sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması sonucu elde edilen p değerleri. Anlamlılık seviyesi: 0,05 olarak alındı.

	Pd	Pd+kök	Oto	Oto+kök	Dis	Dis+kök	Tdv yok	Normal
Pd		0,016						,000
Pd+kök	0,016							,000
Oto				0,037			0,004	,000
Oto+kök			0,037				,000	,000
Dis						0,969		0,003
Dis+kök					0,969			0,005
Tdv yok			0,004	,000				,000
Normal	,000	,000	,000	,000	0,003	0,005	,000	

### **3. 3. Genel Histomorfolojik Değerlendirme Bulguları**

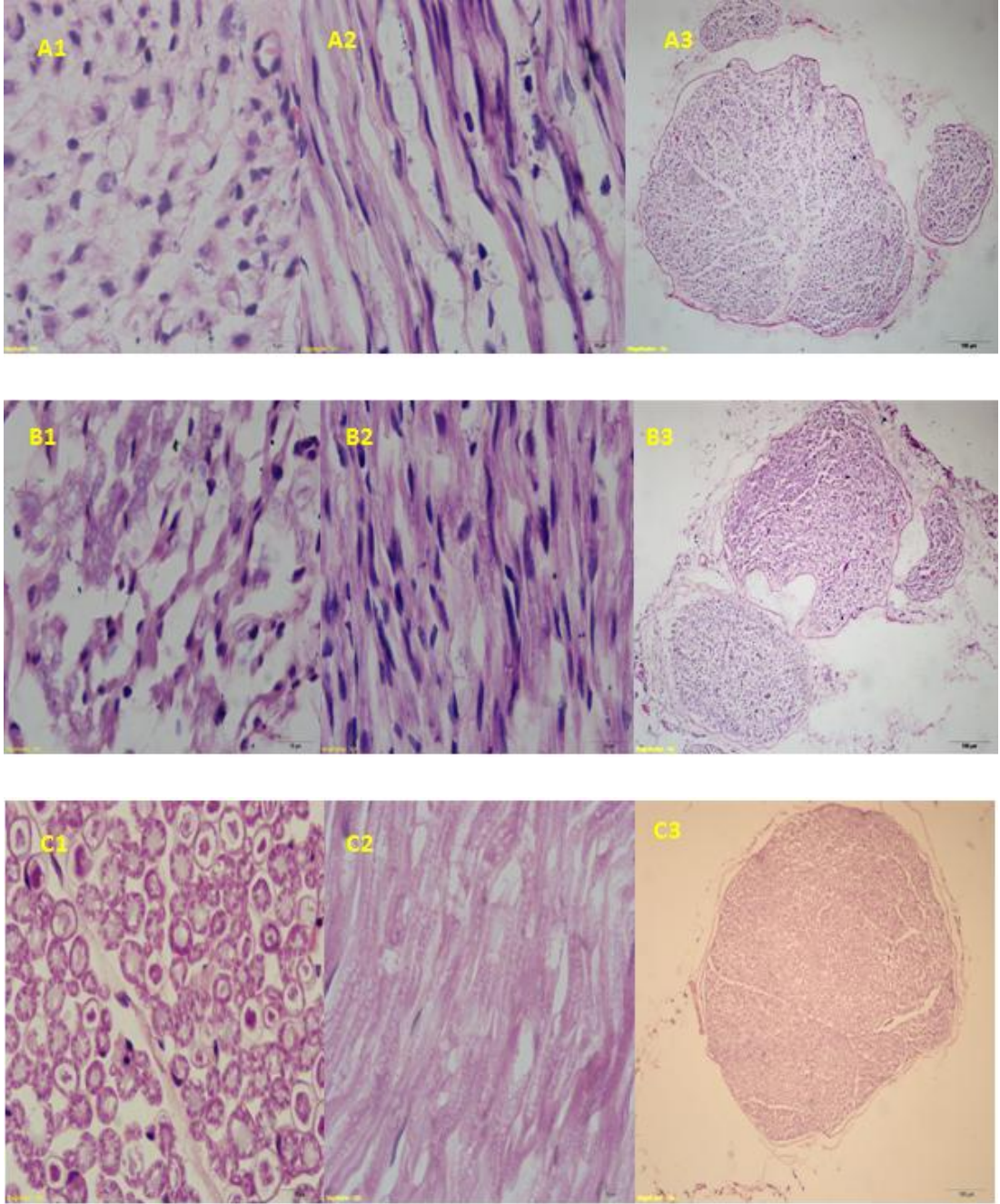
H&E boyama ile sinirin genel durumu, inflamasyon ve fibrozis varlığı ve derecesi, damarlanma durumu değerlendirildi.

H&E boyama ile yapılan genel değerlendirmede; sinirlerin fasikül ve perinörium organizasyonları genel olarak tüm sıçanlarda korunmuş olarak izlendi. Sinirlerde kanama alanları ve nekrotik alanlar izlenmedi. Aksonal organizasyon kontrol grubu haricinde primer dikiş kök hücre gurubunda en iyi gözlendi. İnflamatuar hücreler primer dikiş, primer dikiş kök hücre, otogreft, otogreft kök hücre gruplarında diğer guruplara göre daha fazla gözlendi. Damarlanma gene bahsedilen gruplarda daha fazla görüldü. Fakat bu dört grup arasında inflamasyon ve damarlanma düzeyi açısından farklılık gözlenmedi (Şekil 3.4, 3.5, 3.6).

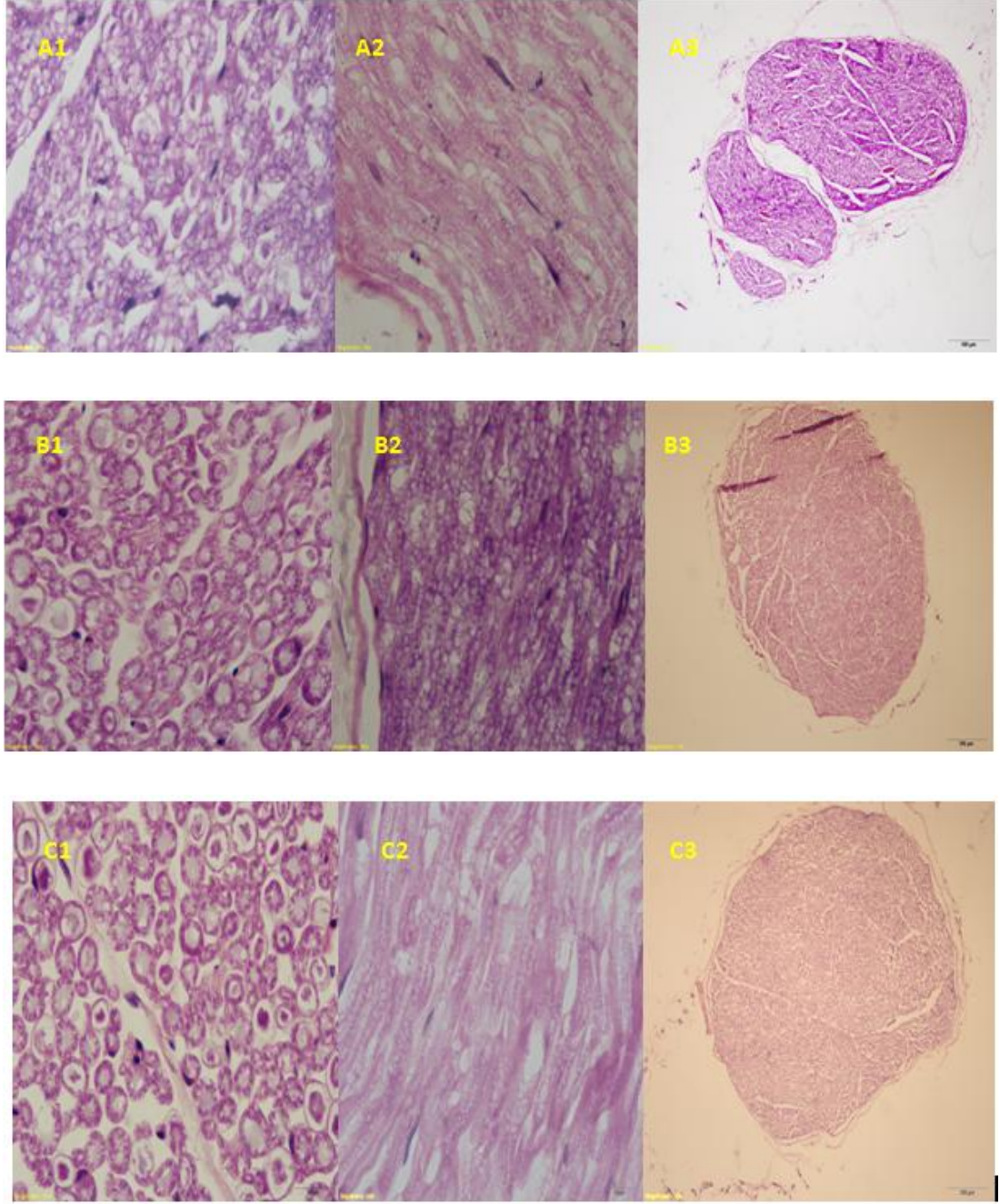


**Şekil 3.4.** Siyatik sinirlerin H&E boyama görüntüleri. A- primer dikiş grubu, B- primer dikiş kök hücre grubu, C- kontrol grubu (normal). 1. resimler enine kesit (x100), 2. resimler uzunlamasına kesit (x100), 3. resimler genel görünüm (x10).





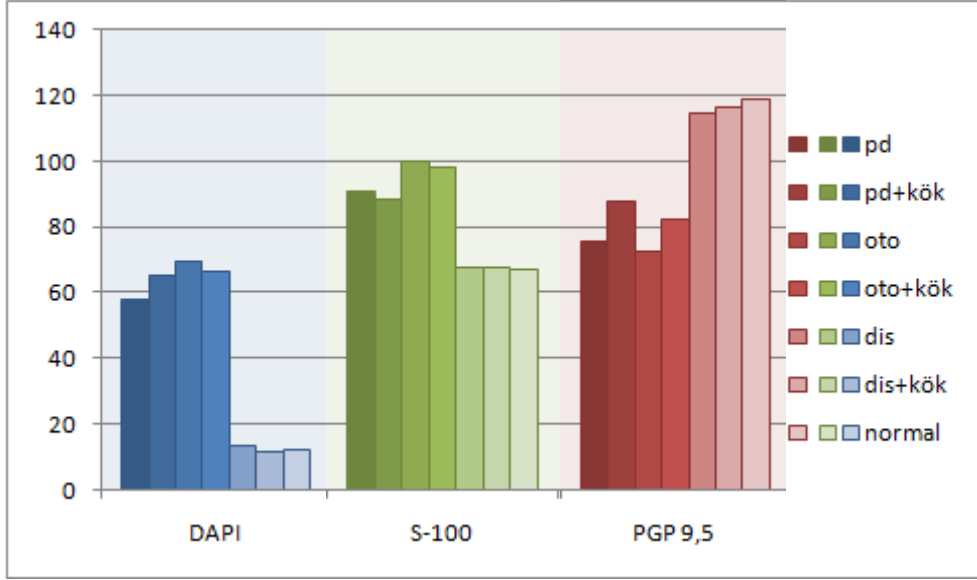
**Şekil 3.5.** Siyatik sinirlerin H&E boyama görüntüleri. A- otogreft grubu, B- otogreft kök hücre grubu, C- kontrol grubu (normal). 1. resimler enine kesit (x100), 2. resimler uzunlamasına kesit (x100), 3. resimler genel görünüm (x10).



**Şekil 3.6.** Siyatik sinirlerin H&E boyama görüntüleri. A- diseksiyon grubu, B- diseksiyon kök hücre grubu, C- kontrol grubu (normal). 1. resimler enine kesit (x100), 2. Resimler uzunlamasına kesit (x100), 3. Resimler genel görünüm (x10).

### 3. 4. İmmunohistokimyasal Değerlendirme Bulguları

Dokular, anti-S100, anti-PGP 9,5 antikorları ile indirekt immunohistokimyasal yöntem ile flüoresan olarak işaretlendi (Şekil 3. 7).



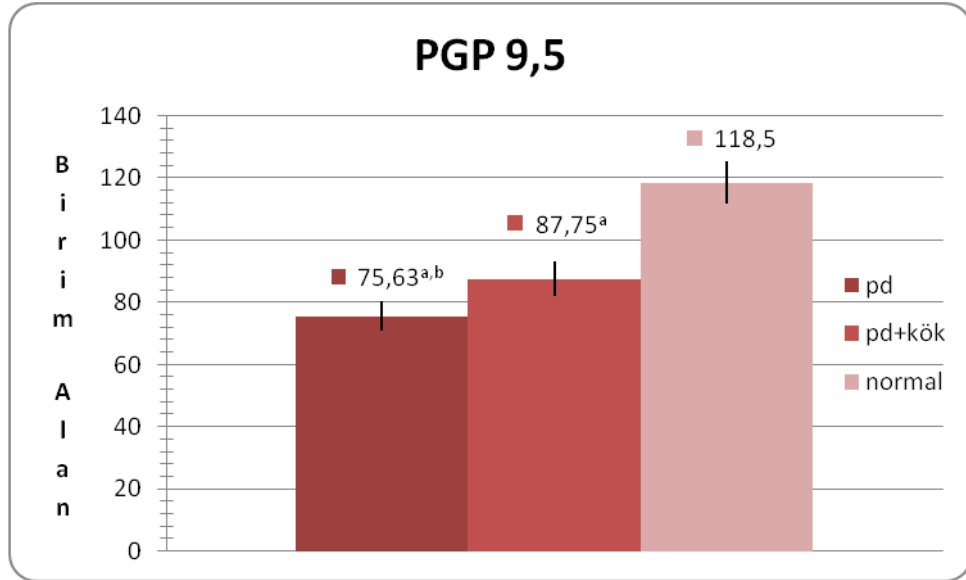
Şekil 3. 7. Grupların DAPI, S-100, PGP 9,5 ile boyanma düzeyleri

#### 3. 4. 1. PGP 9,5

Anti-PGP 9,5 immunflüoresan işaretleme ile yapılan aksonal değerlendirmede ile primer dikiş kök hücre grubunda (ortalama:  $87,75 \pm 5,62$  birim alan) primer dikiş grubuna göre (ortalama:  $75,63 \pm 4,89$  birim alan) istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $p < 0,005$ ) artmış olarak bulundu. Kontrol grubu (ortalama:  $118,50 \pm 6,75$ ) primer dikiş, primer dikiş kök hücre gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $p < 0,005$ ) artmış olarak bulundu (Şekil 3.8).

Otogreft ve kök grubu (ortalama:  $82,38 \pm 5,01$  birim alan) otogreft grubuna göre (ortalama:  $72,63 \pm 7,05$  birim alan) istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $p < 0,005$ ) artmış olarak bulundu. Kontrol grubu (ortalama:  $118,50 \pm 6,75$  birim alan) otogreft, otogreft ve kök hücre gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $p < 0,005$ ) artmış olarak bulundu (Şekil 3.9).

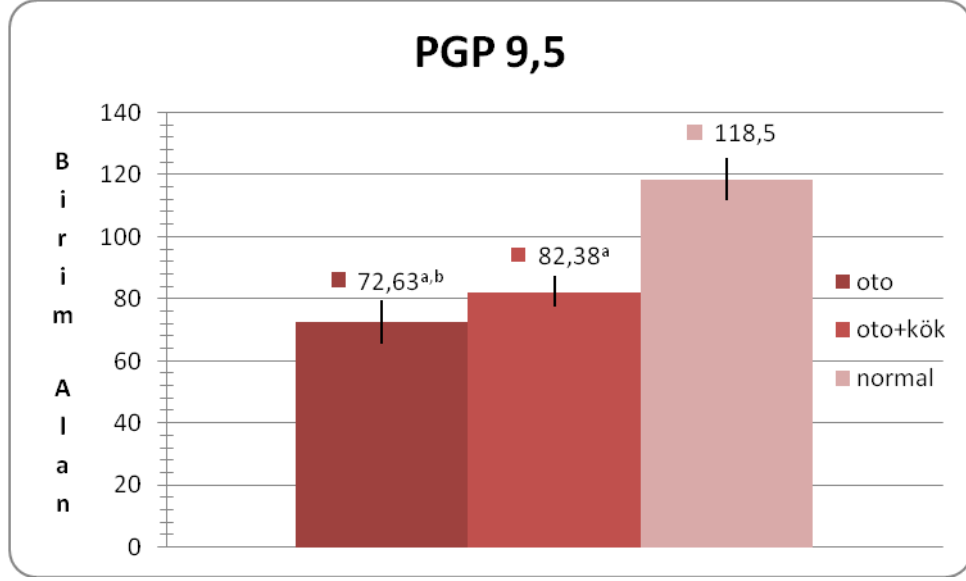
Diseksiyon grubu (ortalama:  $114,43 \pm 5,5$  birim alan), diseksiyon kök hücre grubu (ortalama:  $116,29 \pm 4,52$ ) ve kontrol grubu (ortalama:  $118,50 \pm 6,75$  birim alan) arasında akson değerlendirilmesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ( $p=0,404$ ) (Şekil 3.10).



<sup>a</sup> kontrol grubu ile kıyaslandığında  $p < 0,05$

<sup>b</sup> primer dikiş kök hücre grubu ile kıyaslandığında  $p < 0,05$

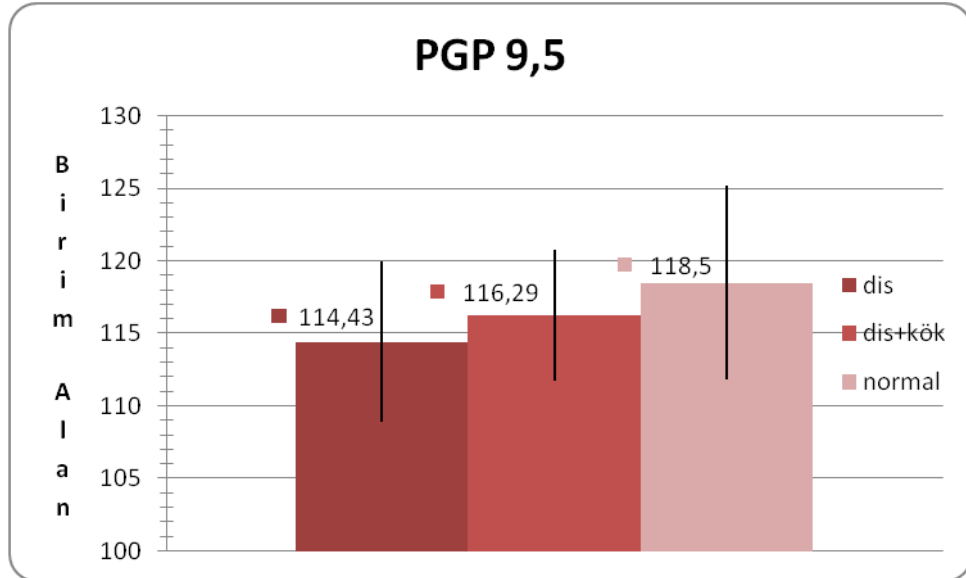
**Şekil 3. 8.** Primer dikiş, primer dikiş kök hücre ve kontrol gruplarının anti-PGP 9,5 ile işaretlenme grafiği.



<sup>a</sup> kontrol grubu ile kıyaslandığında  $p < 0,05$

<sup>b</sup> otogreft kök hücre ile kıyaslandığında  $p < 0,05$

**Şekil 3. 9.** Otogreft, otogreft kök hücre ve kontrol gruplarının anti-PGP 9,5 ile işaretlenme grafiği.



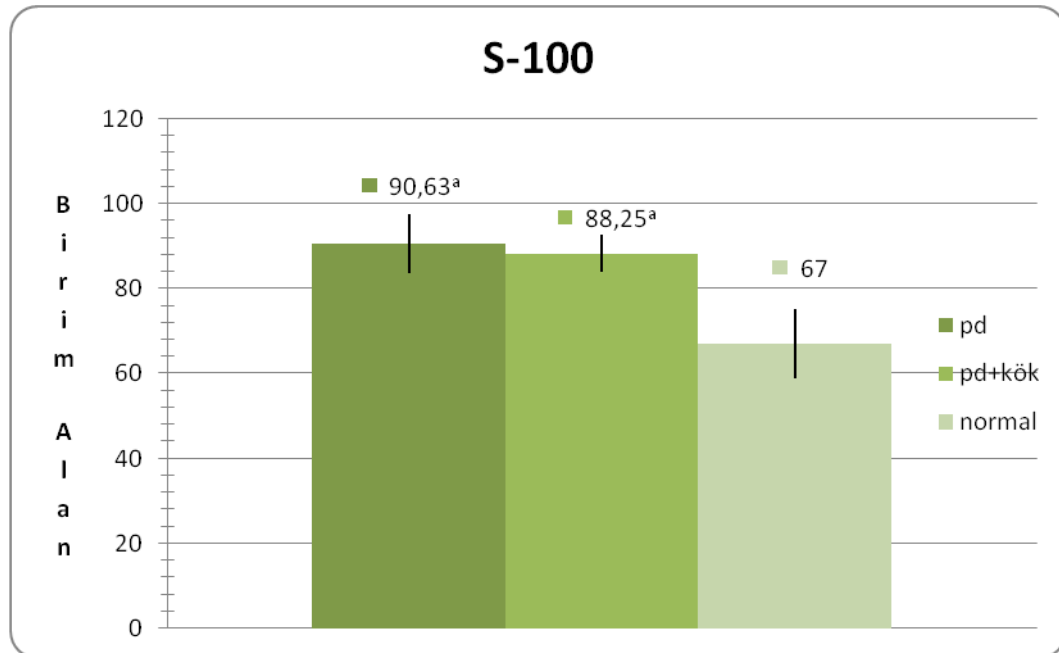
**Şekil 3. 10.** Diseksiyon, diseksiyon kök hücre ve kontrol gruplarının anti-PGP 9,5 ile işaretlenme grafiği.

### 3. 4. 2. S-100

Anti-S-100 immunoflüoresan işaretleme ile yapılan Schwann hücre değerlendirmesinde primer dikiş kök hücre grubu (ortalama:  $88,25 \pm 4,43$  birim alan) ile primer dikiş grubu (ortalama:  $90,63 \pm 6,94$  birim alan) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p=0,764$ ) bulunmamıştır. Kontrol grubu (ortalama:  $67 \pm 8,29$  birim alan) primer dikiş, primer dikiş kök hücre gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $p<0,005$ ) azalmış olarak bulundu (Şekil 3.11).

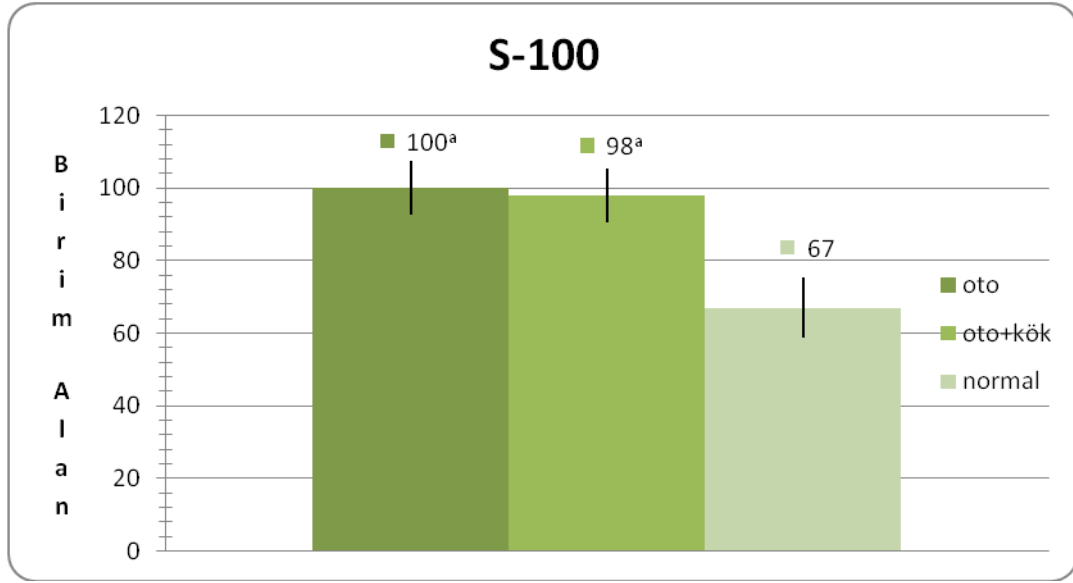
Otogreft kök hücre grubu (ortalama:  $98 \pm 7,34$  birim alan) ile otogreft grubu (ortalama:  $100 \pm 7,42$  birim alan) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p=0,863$ ) bulunmamıştır. Kontrol grubu (ortalama:  $67 \pm 8,29$  birim alan) otogreft, otogreft kök hücre gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $p<0,005$ ) azalmış olarak bulundu (Şekil 3.12).

Diseksiyon grubu (ortalama:  $67,71 \pm 10,12$  birim alan), diseksiyon kök hücre grubu (ortalama:  $67,29 \pm 7,11$  birim alan) ve kontrol grubu (ortalama:  $67 \pm 8,29$  birim alan) arasında Schwann değerlendirmesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ( $p=0,987$ ) (Şekil 3.13).



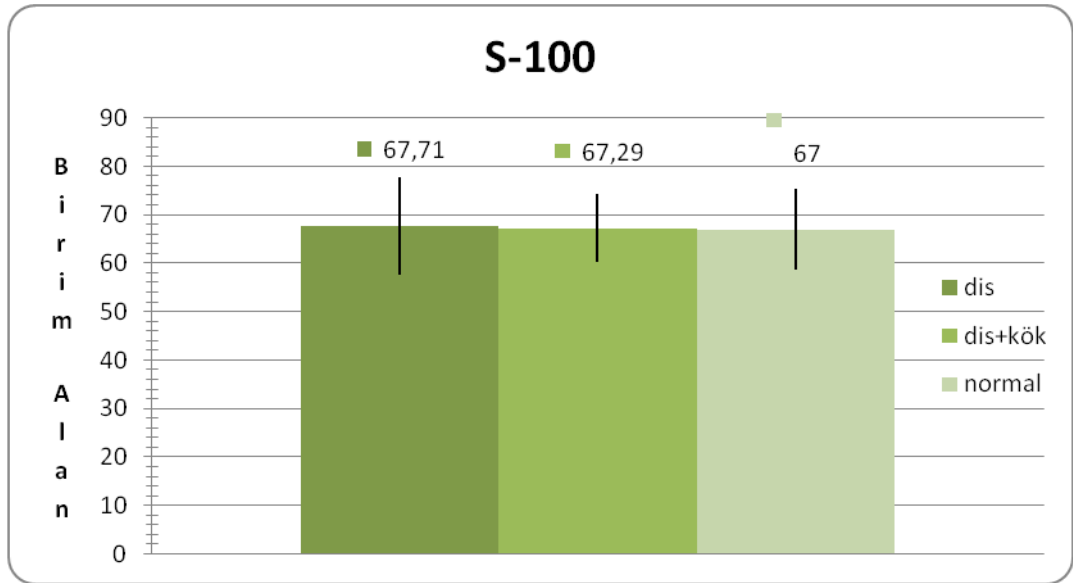
<sup>a</sup> kontrol grubu ile kıyaslandığında  $p<0,05$

**Şekil 3. 11.** Primer dikiş, primer dikiş kök hücre ve kontrol gruplarının anti-S-100 ile işaretleneme grafiği.



<sup>a</sup> kontrol grubu ile kıyaslandığında  $p < 0,05$

**Şekil 3. 12.** Otogreft, otogreft kök hücre ve kontrol gruplarının anti-S-100 ile işaretlenme grafiği.



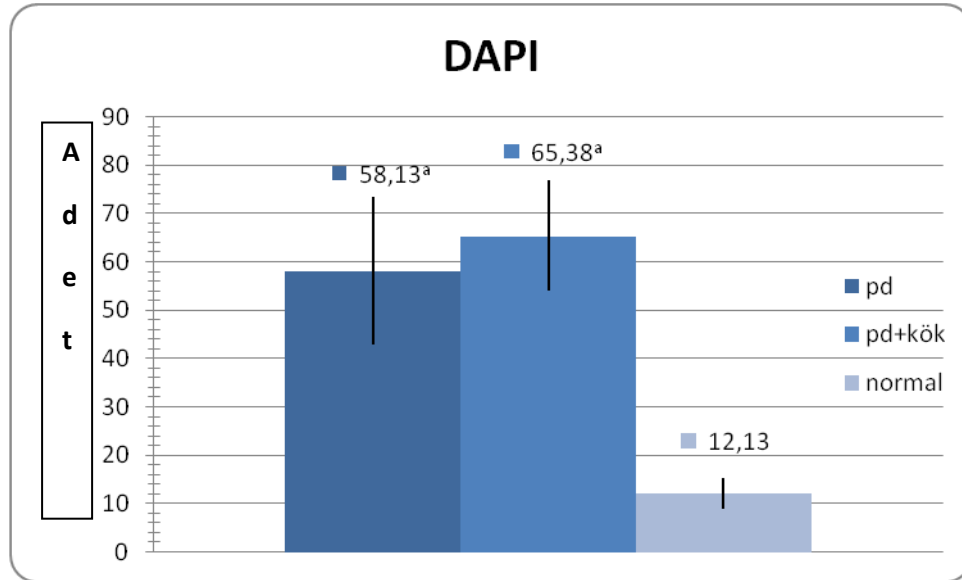
**Şekil 3. 13.** Diseksiyon, diseksiyon kök hücre ve kontrol gruplarının anti-S-100 ile işaretlenme grafiği.

### 3. 4. 3. DAPI

DAPI flüoresan işaretleme ile yapılan hücre çekirdeği sayımında primer dikiş kök hücre grubu (ortalama: 58,13±15,21 adet) ile primer dikiş grubu (ortalama: 65,38±11,42 adet) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p=0,410$ ) bulunmamıştır. Kontrol grubu (ortalama: 12,13±3,18 adet), primer dikiş ve primer dikiş kök hücre gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $p<0,005$ ) azalmış olarak bulundu (Şekil 3.14)

Otogreft kök hücre grubu (ortalama: 66,63±9,59 adet) ile otogreft grubu (ortalama: 69,38±10,92 adet) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p=0,800$ ) bulunmamıştır. Kontrol grubu (ortalama: 12,13±3,18 adet) otogreft, otogreft kök hücre gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $p<0,005$ ) azalmış olarak bulundu (Şekil 3.15).

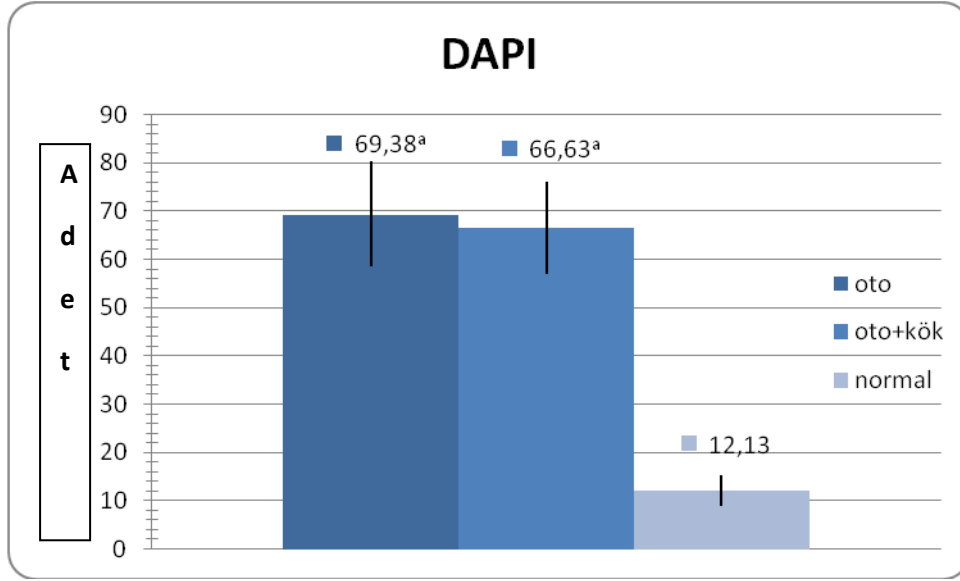
Diseksiyon grubu (ortalama: 13,14±2,61 adet), diseksiyon kök hücre grubu (ortalama: 11,86±2,41) ve kontrol grubu (ortalama: 12,13±3,18 adet) arasında Schwann değerlendirmesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ( $p=0,662$ ) (Şekil 3.16).



<sup>a</sup> kontrol grubu ile kıyaslandığında  $p<0,05$

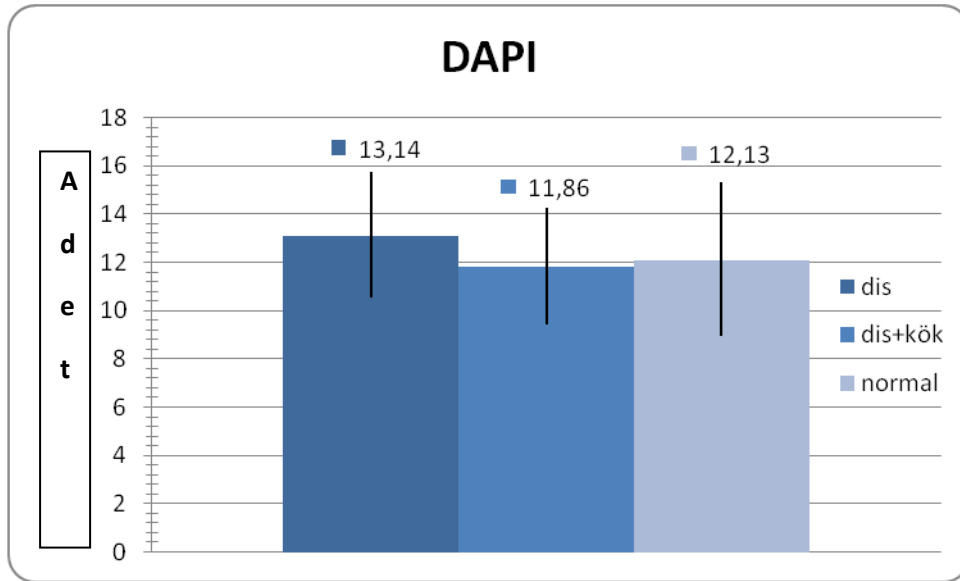
**Şekil 3. 14.** Primer dikiş, primer dikiş kök hücre ve kontrol gruplarının DAPI ile işaretleneme grafiği.





<sup>a</sup> kontrol grubu ile kıyaslandığında  $p < 0,05$

**Şekil 3. 15.** Otogreft, otogreft kök hücre ve kontrol gruplarının DAPI ile işaretlenme grafiği.

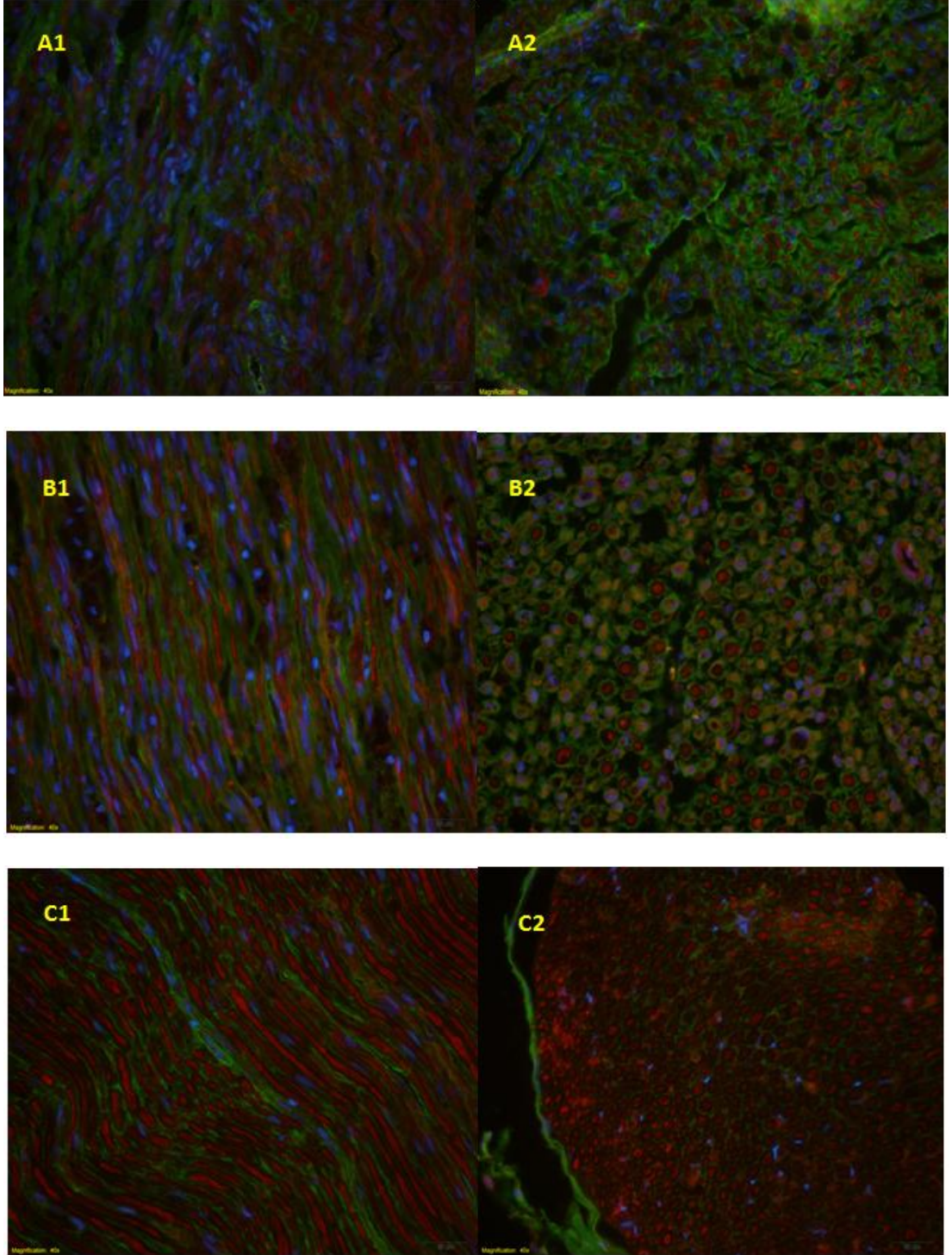


**Şekil 3. 16.** Diseksiyon, diseksiyon kök hücre ve kontrol gruplarının DAPI ile işaretlenme grafiği.

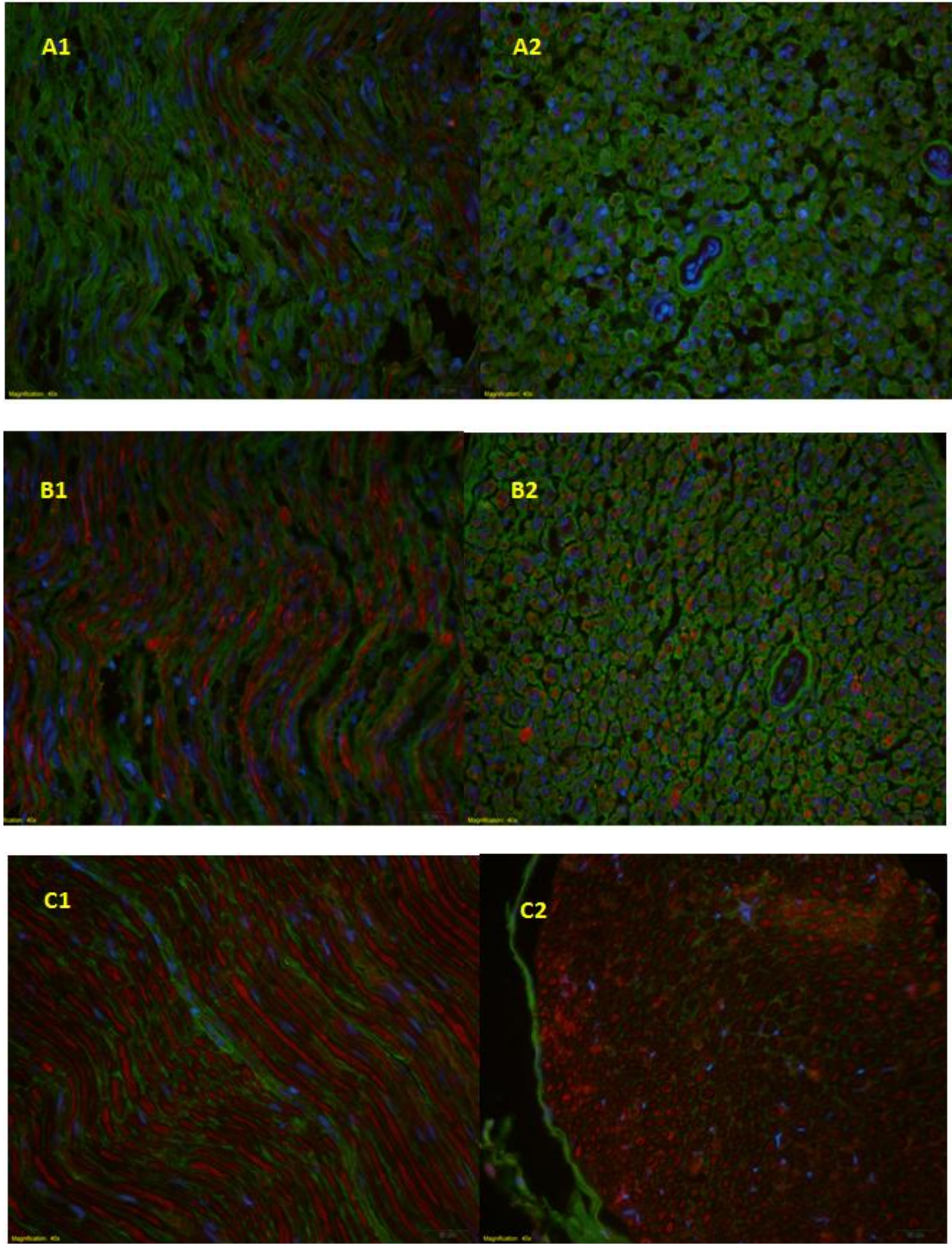
Flüoresan mikroskop ile elde edilen görüntüler şekil 3. 17, 3. 18, 3. 19'da gösterilmiştir.

Konfokal mikroskop ile elde edilen görüntüler şekil 3. 20, 3. 21'de gösterilmiştir.

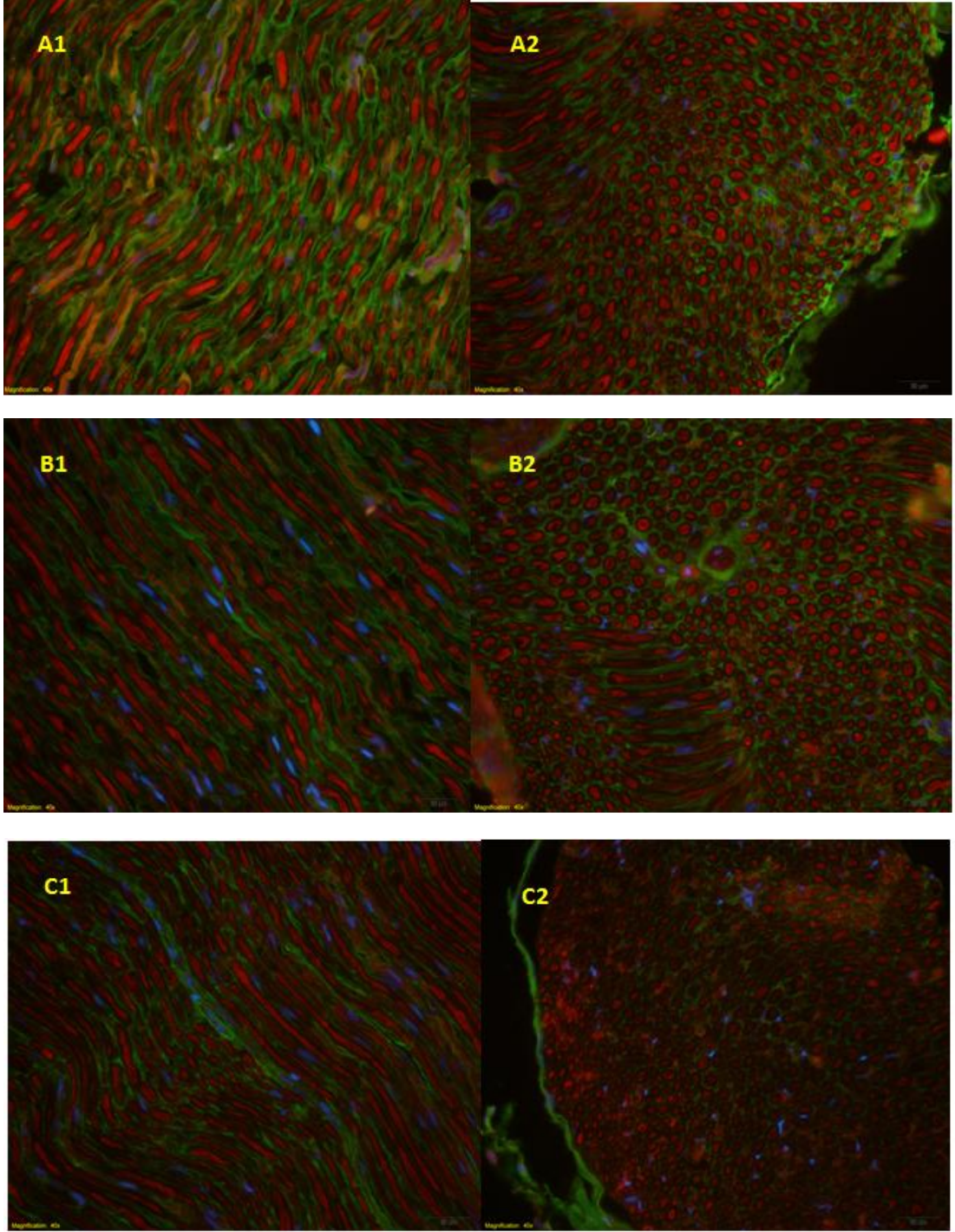
Gruplar arası karşılaştırma sonucu elde edilen p değerleri tablo 3. 3'de gösterilmiştir.



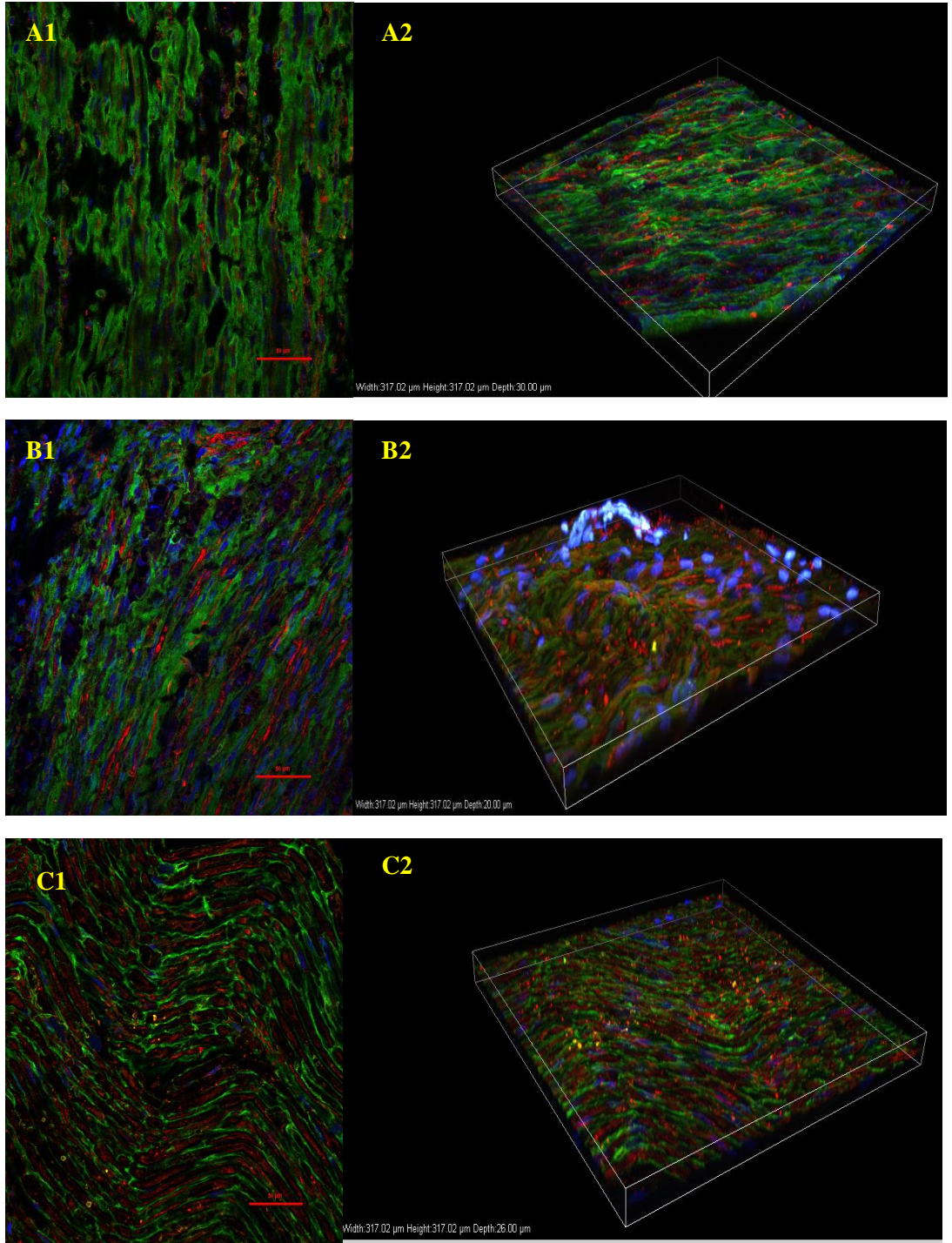
**Şekil 3.17.** Flüoresan mikroskop ile görüntülenen, anti-S-100, anti-PGP 9,5 ve DAPI işaretlenmesine ait mikrofotografılar: A- primer dikiş B- primer dikiş kök hücre C- kontrol grubu (normal) 1. fotoğraflar uzunlamasına 2. fotoğraflar enine kesit görüntüleri (X40).



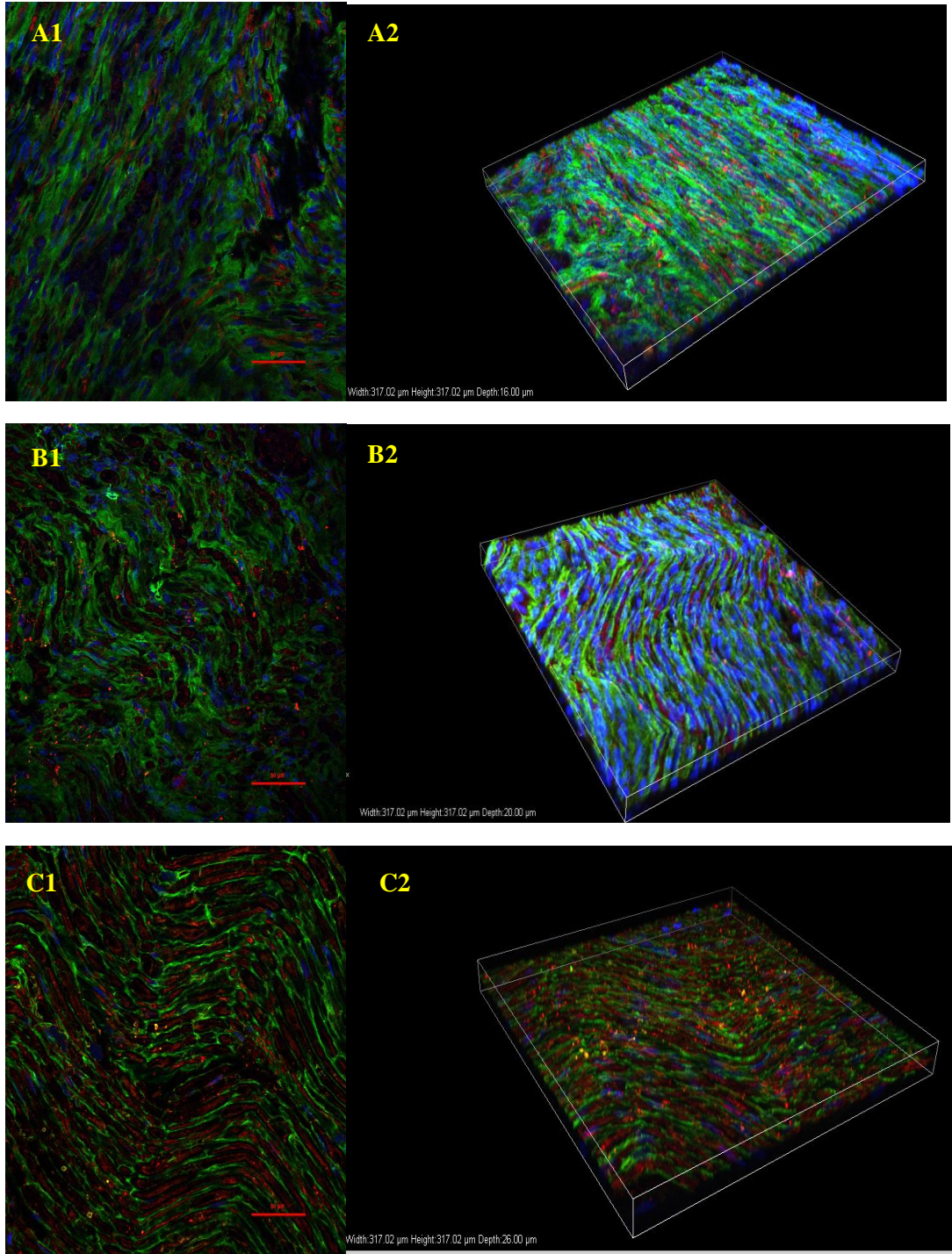
**Şekil 3.18.** Flüoresan mikroskop ile görüntülenen, anti-S-100, anti-PGP 9,5 ve DAPI işaretlenmesine ait mikrofotograflar: A- otograft B- otograft kök hücre C- kontrol grubu (normal) 1. fotoğraflar uzunlamasına 2. fotoğraflar enine kesit görüntüleri (X40).



**Şekil 3.19.** Flüoresan mikroskop ile görüntülenen, anti-S-100, anti-PGP 9,5 ve DAPI işaretlenmesine ait mikrofotograflar: A- diseksiyon B- diseksiyon kök hücre C- kontrol grubu (normal) 1. fotoğraflar uzunlamasına 2. fotoğraflar enine kesit görüntüleri (X40).



**Şekil 3.20.** Siyatik sinirlerde anti-S-100, anti-PGP 9,5 ve DAPI işaretlenmeleri ile elde edilen konfokal mikroskop görüntüleri: A- primer dikiş grubu, B- primer dikiş kök hücre grubu, C- kontrol grubu (normal) 1. fotoğraflar uzunlamasına kesitler (x40), 2. fotoğraflar 3D görüntüleri.



**Şekil 3.21.** Siyatik sinirlerde anti-S-100, anti-PGP 9,5 ve DAPI işaretlenmeleri ile elde edilen konfokal mikroskop görüntüleri: A- otogreft, B- otogreft kök hücre grubu, C- kontrol grubu (normal) 1. fotoğraflar uzunlamasına kesitler (x40), 2. fotoğraflar 3D görüntüleri.

	pd	Pd+kök	otogreft	Otogreft+kök	normal
	PGP 9,5	DAPI	DAPI	DAPI	DAPI
	S-100	S-100	S-100	S-100	S-100
	0,001	0,764	0,410		,000 ,000 ,000
pd					
	PGP 9,5	DAPI	DAPI	DAPI	DAPI
	S-100	S-100	S-100	S-100	S-100
	0,001	0,764	0,410		,000 ,000 ,000
Pd+kök					
	PGP 9,5	DAPI	DAPI	DAPI	DAPI
	S-100	S-100	S-100	S-100	S-100
	0,015	0,863	0,800	0,015	0,800 ,000 ,000
otogreft					
	PGP 9,5	DAPI	DAPI	DAPI	DAPI
	S-100	S-100	S-100	S-100	S-100
	0,015	0,863	0,800		,000 ,000 ,000
Otogreft+kök					
Normal					

**Tablo 3.3.** S-100, PGP9,5, DAPI boyama oranlarının karşılaştırılması sonucu elde edilen p değerleri.

#### 4. TARTIŞMA

Periferik sinir yaralanmaları, günlük hayatı önemli derecede etkileyen, önemli sosyal problemlere yol açan ve tedavi maliyeti oldukça yüksek bir sorundur. Günümüzdeki tedavi yöntemleri ile istenilen düzeyde sinir iyileşmesi maalesef sağlanamamaktadır.

Proksimal ve distal sinir güdüğü arasındaki boşluklu lezyonlarda otogreft tedavi tercih edilmekle birlikte; bu tedavinin de bazı dezavantajları bulunmaktadır. Donör sinir bölgesindeki motor ve his kaybı, nöroma oluşumu en önemli dezavantajları olarak sayılabilir.

Allogreft tedavide ise; antijenik problemler öne çıkmaktadır. İmmünsüpresif tedavi eklenme gereksinimi, allogreft tedavinin tercih edilmeme sebeplerinden en önemlisi olarak sayılabilir.

Araştırmacılar bu sebeplerle farklı tedavi yöntemlerine yönelmişlerdir. Bu kapsamda; biyoteknolojik sinir greftleri denenmekte, greft olarak da: sentetik ve doğal maddeler [kollojen, silikon, fibrin, polikaprolakton (PCL), polilaktik asit (PLA), poliglikolik asit (PGA)] kullanılmaktadır. Arter ve ven greftleri de bir tedavi yöntemi olarak düşünülmele birlikte; (Ahmed ve ark, 2003; Battiston ve ark, 2007; Bender ve ark, 2004; Ciardelli ve Chiono, 2006) otogreft tedavi ile karşılaştırıldığında bu tedavilerin başarı oranları düşük seyretmektedir (Keilhoff ve Fansa, 2011).

Araştırmacılar, bu tedavilerin başarı oranını artırmak için üç yol izlediler;

- 1- Biyoteknolojik greftlere büyüme faktörleri eklenmesi,
- 2- Schwann hücresi veya Schwann benzeri hücrelerin (mezenkimal kök hücreden farklılaştırılmış) eklenmesi,
- 3- Farklılaştırılmamış mezenkimal kök hücrelerin eklenmesi.

Carrel ve ark.'nın 2013 yılında yaptığı bir çalışmada: sıçanlarda 10 mm boşluklu siyatik sinir hasarı oluşturulmuş ve yapılan boşluklu hasar, bir grupta kollajen kondüit, diğer grupta ise kollajen kondüite eklenen ADSC ile tedavi edilmiştir. Gruplar, klinik olarak; self amputasyon, nörotropik ülserler, ayak uzunluğu, parmak arası mesafe uzunluğu, ağrı testi ile elektrofizyolojik olarak biceps



femoris, gastroknemius, tibialis anterior, ekstansor digitorum brevis kaslarının EMG sonuçlarına ilaveten histomorfolojik olarak da; MCOL, S-100 ve nörofilament immunhistokimyası ile değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucunda: klinik olarak kök hücre uygulanan grup ile, uygulanmayan grup arasında -grupların negatif ve pozitif kontrol grupları ile anlamlı fark var olmasına rağmen- anlamlı bir fark saptanamamıştır. EMG değerlendirmesinde; biceps femoris kasına ait sonuçlarda kök hücre uygulanan grup lehine fark saptanırken; diğer kaslar için iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Histomorfolojik olarak; gruplar arası Schwann ve aksonal organizasyon kollajen ve miyelin miktarı değerlendirilmiş olup; kök hücre uygulanan grupta daha olumlu bir periferik sinir rejenerasyonu saptanmıştır (Carriel ve ark, 2013).

Liu ve ark. 2011 yılında yaptığı bir çalışmada: sıçanlarda 15 mm boşluklu siyatik sinir hasarı oluşturulmuş; bir grup hücreleştirilmiş sinir allogrefti, bir grup ise greft ve farklılaştırılmamış kök hücre ile tedavi edilmiştir. Fonksiyonel analizler yürüme testi ile; elektrofizyolojik olarak da sinirden impuls aktarım hızı, latent dönem ve zirve amplitüd değerleri ölçülerek; histomorfolojik olarak ise toluidin blue ile miyelinleşme değerlendirilerek yapılmıştır. 12 hafta sonrasında alınan sonuçlarda farklılaştırılmamış kök hücre uygulanan grupta sinir iyileşmesinin diğer grup ile karşılaştırıldığında daha iyi olduğu sonucuna varılmış olup; fonksiyonel, elektrofizyolojik ve histomorfolojik olarak da anlamlı düzelme verileri saptanmıştır (Liu ve ark, 2011).

Santiago ve ark. 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada: sıçanlarda 6 mm boşluklu hasar oluşturarak; sıçanlar; PCL kondüit ile tedavi uygulanan, PCL kondüit ve kök hücre ile tedavi uygulanan, otogreft tedavi uygulanan, tedavi uygulanamayan olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Değerlendirme, 12 hafta sonra, fonksiyonel olarak; SFI ve gastroknemius kas kitlesi, histomorfolojik olarak da; H&E boyası ile gelişmekte olan sinir kalınlıkları ölçülerek yapılmıştır. Gelişmekte olan sinir kalınlığı ve gastroknemius kas kitlesi değerlerine göre: sinir gelişiminin otogreft grubunda en iyi, kök hücre eklenen grupta ise eklenmeyen gruba göre daha iyi olduğu saptanmıştır. 12. hafta sonunda yapılan SFI değerlerinde ise anlamlı bir fark saptanamamıştır (Santiago ve ark, 2009).

Araştırmacılar, genel olarak, ADSC'nin sinir gelişimi üzerine olumlu etkilerini rapor etmişlerdir. Fakat günümüzdeki biyoteknolojik sinir greftleri ve kök hücre kombinasyonları, yapılan tüm araştırmalara rağmen, henüz otogreft tedavinin

yerini alamamışlardır. Ototogreft tedavide karşımıza çıkan sorunların (donör taraftaki his, motor kayıp, nöroma formasyonu...) da tolere edilebilir olduğu düşünülmektedir. Biyoteknolojik greftlerle yapılan araştırmalar devam etmektedir.

Çalışmamızda; genel uygulamalardan farklı bir yöntemle, kök hücrenin etkilerini araştırma hedeflenmiş olup; geleneksel sinir tedavi yöntemlerini kök hücre ile desteklediğimizdeki sonuçların, orta dönemde sinir iyileşmesine etkileri araştırıldı.

Carrel ile ark. ve Lizzie ile ark. yaptığı çalışmalarda fonksiyonel olarak sıçanların iyileşme sonuçları olumlu olsa da istatistiksel olarak önemli farklar ortaya koymamaktadır. Histomorfolojik değerlendirme sonuçlarında ise kök hücre eklenen gruplarda anlamlı farklılıklar ortaya çıkmıştır. Bizim çalışmamızda ise; fonksiyonel ve histomorfolojik olarak sonuçlarımız anlamlı düzeyde olsa da, fonksiyonel iyileşme daha bariz olmuştur. Bunu sebebinin kök hücrenin verilme şekli ve kondüit kullanmamasına bağlı olabilir.

Çalışmamızda kök hücreleri onarılan dokunun etrafına DMEM içerisinde uygulandı. Uyguladığımız kök hücrelerin salgıladığı büyüme faktörleri ve farklılaşabilmesi sayesinde periferik sinir onarımı ile birlikte etraf dokuların onarımına da olumlu etkileri olabilir. SFI fonksiyonel iyileşmenin bir göstergesi olan bir test olup, bu test sonuçlarına sinir iyileşmesinin yanı sıra etraf dokulardaki iyileşme de katkıda bulunabilir. SFI ve morfolojik değerlendirme arasındaki farkın etraf dokularda kaynaklanan bu olası etkilerden olduğu düşünülebilir. Uygulanan kök hücrelerin etraf dokulardaki muhtemel etkileri, elektrofizyolojik çalışmalar ve etraf kas dokusunun histopatolojik incelemelerinin de bu tür çalışmalara eklenmesi ile daha net bir şekilde değerlendirilebilir.

Çalışmamızda yağ dokusu kaynaklı kök hücrelerinin sinir iyileşmesine olan etkilerini bu hücreleri farklılaştırılmadan uygulanarak araştırıldı. Yağ dokusu kaynaklı kök hücreleri, in-vitro olarak Schwann hücre benzeri hücreye farklılaştırılarak da kullanılabilir.

Orbay ve ark.'nın 2011 yılında bir çalışmada; sıçan siyatik sinirinde 10 mm boşluklu hasar oluşturulmuştur. Boşluk; silikon kondüit, silikon kondüit ve dADSC, silikon kondüit ve uADSC ile tedavi edilerek sıçanlar gruplanmıştır. SFI ile yapılan fonksiyonel değerlendirme farklılaştırılmış kök hücre ve farklılaştırılmamış kök hücre uygulanan gruplar arasında 3. ve 6. ay sonunda fark saptanamamıştır. 3. aydaki

SFI değerlendirmesinde: bu iki grup ile kök hücre uygulanmayan grup arasında fark yokken; 6. ayda kök hücre uygulanan gruptaki sıçanlarda fonksiyonel iyileşme daha iyi bulunmuştur. Elektrofizyolojik olarak yapılan değerlendirmelerde sinir aktarım hızı kök hücre uygulanan grupta daha yüksek iken; dADSC ve uADSC uygulanan gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Histomorfolojik incelemede miyelin organizasyonu ve miyelinleşme değerlendirilmiş, elektrofizyolojik değerlendirme ile benzer sonuçlar elde edilmiştir (Orbay ve ark, 2012).

Tomita ve ark.'nın 2013 yılında yaptığı bir çalışmada: in vivo ve in vitro olarak; insan dADSC ve uADSC'nin etkileri araştırılmıştır. Hücre kültürlerinde BDNF, NGF ile GDNF düzeyleri değerlendirilmiş ve dADSC kültürlerinde anlamlı olarak artış saptanmıştır. Grupların NG108-15 hücreleri ile ko-kültürü yapılmış; farklılaştırılmış kök hücre grubunda nörit miktarı, nörit uzunluğu, nöron başına düşen nörit miktarında anlamlı olarak artış gözlenmiştir. Son olarak, sıçan tibial sinirinde ezilme yaralanması oluşturulup; dADSC ve uADSC hücreleri distal bölgeye verilmiştir. 8 hafta sonra sinirin histomorfolojik analizleri, PGP 9,5 ile aksonlar ve miyelin basic protein (MBP) ile miyelin işaretlenerek yapılmış; dADSC grubunda uADSC grubuna göre miyelin ve aksonal gelişim daha iyi olarak saptanmıştır (Tomita ve ark, 2013).

Bizim çalışmamızın sonuçları da bu çalışmalar ile de uyumludur. İleri çalışmalarda dADSC ve uADSC ile geleneksel onarım yöntemleri birlikte uygulanarak periferik sinir onarımına etkileri araştırılabilir. Farklılaştırılmadan uygulanan kök hücrelerin, etkilerini daha çok salgıladıkları büyüme faktörleri ve sitokinler üzerinden etki ettiği düşünülmektedir.

Santiago ve ark.'nın 2009 yılında yaptığı bir çalışmada: tranplante edilen kök hücrelerin gösterilmesi amacıyla lamin A/C ile boyanmış, aynı bölgede yapılan GFAP ile boyamada lamin A/C ve GFAP işaretli bölgelerin minimal uyumu saptanmıştır. Ayrıca, bölgede yağ vokuolleri içeren hücreler görülmüştür. Bu durumda: yaşayan hücrelerin Schwann hücre dönüşümünün az olduğu dşnlmş olup; daha ileri araştırmalarla bu etkiler daha net olarak ortaya konulabilir (Santiago ve ark, 2009).

Çalışmamızda yağ dokusu kökenli kök hücreler (ADSC) kullanıldı. Yağ dokusu, elde edilmesinin kolay olması ve dokudan hücrelerin kolaylıkla izole edilebilmesi nedeni ile tercih edildi. Ayrıca son yıllarda yağ dokusu önemli bir kök

hücre deposu olarak tanımlanmaya başlamış ve bu kapsamda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Yağ dokusu kaynaklı kök hücreler ve kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin karşılaştırıldığı çalışmalarda sinir onarımına etkilerinin benzer oldukları sonucuna varılmıştır.

Di Summa ve arkadaşlarının 2009 yılında sıçanlarda yaptığı bir çalışmada; 10 mm boşluklu siyatik hasarı oluşturulmuş ve hasara fibrin kondüit ile birlikte kemik iliği veya yağ dokusu kökenli kök hücreler ile tedavi uygulanmış. Anti-S-100 ve anti-PGP 9,5 ile değerlendirilen aksonal ve Schwann hücre organizasyonunda yağ dokusu ve kemik dokusu kaynaklı kök hücrelerin benzer olumlu etkileri izlenmiştir (Di Summa ve ark, 2010).

Çalışmamızda, operasyon sonrası altı haftalık bir süre sonunda değerlendirmeler yapıldı. Literatürdeki çalışmalardan örnek alınarak altı haftalık sürenin sinir iyileşmesi açısından yeterli olacağı düşünüldü.

Orbay ve arkadaşları 2011 yılında kök hücrenin uzun dönemdeki etkilerinin de ortaya koymak amacı ile silikon ve silikon ile birlikte kök hücre verilmiş olan grupların 3. ve 6. ay sonunda SFI değerleri incelenmiş olup; 3. ay sonunda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaz iken; 6. ay sonrasında kök hücre uygulanan gruplar ile diğerleri arasında anlamlı fark rapor edilmiştir (Orbay ve ark, 2012).

Di Summa ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptığı bir çalışmada oluşturulan 10 mm boşluk kollajen kondüit veya kondüit ile mezenkimal kök hücre kombinasyonu ile onarılmış. 2. hafta sonunda anti-S-100 ve anti-PGP 9,5 ile yapılan histomorfolojik değerlendirmede: gruplar arasında anlamlı fark bulunmadığı sonucuna varılmıştır (Di Summa ve ark, 2014).

Lizzie Y. Santiago ve arkadaşlar, 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada: 6 mm boşluklu hasar oluşturulan sıçanlara PCL kondüit ve PCL köndüit ile birlikte kök hücre ile tedavisi uygulanmış ve 3 haftada bir SFI ölçümleriyle fonksiyonel iyileşme değerlendirilmiştir. 3. haftada gruplar arasında kök hücre ile tedavi edilen grup lehinde anlamlı düzeyde fark bulunuyorken; 12. hafta sonunda gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır (Santiago ve ark, 2009).

Di Summa ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı bir çalışmada ise; oluşturulan 10 mm boşluk, fibrin kondüit veya fibrin kondüit ile mezenkimal kök hücre kombinasyonu ile onarılmıştır, 16. hafta sonunda yapılan histomorfolojik

değerlendirmelerde gruplar arasında anlamlı farklılıklar saptanmıştır (Di Summa ve ark, 2011).

Süre ile ilgili çalışmalarda farklı sonuçlar rapor edilmiştir. Çalışmamızda orta dönemdeki sonuçlar incelenmiştir. Sıçanların iyileşme sırasında periyodik fonksiyonel testlerin yapılması iyileşmenin seyrinin ve kök hücrenin kısa dönemdeki fonksiyonel etkilerinin değerlendirilmesi açısından önemli sonuçlar verebilirdi. Bu açıdan periyodik testler yapılarak veya farklı sürelerde gruplar planlanarak ileri çalışmalar yapılabilir.

Çalışmamızda yağ dokusu kaynaklı kök hücreler flow-sitometrik (akım hücre ölçer) analiz ile CD45(-), CD90(+), CD44(+), CD29(+), CD73(+) ile karakterize edildi. Kök hücre araştırmalarda genellikle CD işaretleyicileri ile tanımlanmaktadır. Yağ dokusu kaynaklı kök hücrelerin ayırımında en sık kullanılan pozitif belirteçler; CD9, CD13, CD29, CD44, CD54, CD73, CD90, CD105, CD106, CD117, CD140b, CD146, CD166, HLAI, en sık kullanılan negatif belirteçler ise; CD11b, CD14, CD19, CD31, CD34, CD45, CD79 $\alpha$ , CD133, CD144'dür (Can, 2014).

Barbarisi ve ark.'nın 2014 yılında yaptığı bir çalışmada: yağ dokusu kaynaklı kök hücreleri tanımlamak amacı ile flow-sitometrik olarak CD3, CD33, CD34 negatif, CD13, CD105 işaretleyicilerinin de pozitif olduğunu göstererek hücreleri tanımlamıştır (Barbarisi ve ark, 2014)

Wei ve ark.'nın 2011 yılında yaptığı bir çalışmada CD 11b, CD31, CD45 negatif, CD44, CD90 pozitif olarak saptanarak yağ dokusu kaynaklı kök hücrelerin karakterizasyonu yapılmıştır (Wei ve ark, 2011)

Reid ve ark.'nın 2011 yılında yaptığı bir çalışmada: RT-PCR ve immunohistokimyasal boyama yöntemleri ile hücrelerin CD29, CD44, CD90 ve CD105 bulundukları tespit edilmiş ve bu hücreler kök hücre olarak tanımlanmıştır (Reid ve ark, 2011).

Yapılan çalışmalarda; genel olarak kök hücre tanımlanması için, pozitif yüzey belirteçlerinden iki ya da üç tanesinin pozitif ve özellikle hematopoetik seriye ait hücre belirteçlerinden ise en az bir tanesinin negatif olduğu gösterilmiştir. Ya da farklı hücre serilerine dönüşebilirliğinin gösterilmesi gerekmektedir.

Lui ve ark.'nın 2011 yılında yaptığı bir çalışmada 3-5 pasaj sonrasında elde edilen büyük ve yaygın hücrelerin yağ ve kemik dokusuna (uygun farklılaştırma

medyumu içerisinde) dönüştüğü gözlenmiş ve bu hücreler kök hücre olarak tanımlanmıştır (Liu ve ark, 2011).

Çalışmamızda: değerlendirmeler, aksonlar S-100 ile Schwann ve PGP 9,5 ile immünflüoresan olarak işaretlenerek yapılmıştır. Aksonal organizasyon, akson miktarı, Schwann hücre organizasyonu ve miktarının gruplar arası farklılıkları incelenmiştir.

Wei ve ark.'nın 2011 yılında yaptığı bir çalışmada: 10 mm boşluklu hasar, bir grupta kök hücre ve chitosan/ipek kondüit ile bir grupta ise sadece chitosan/ipek kondüitle tedavi edilmiştir. S-100 ile Schwann hücreleri, NF-200 ile aksonlar işaretlenerek ve SEM ile değerlendirmeler yapılmış, sinir liflerinin yoğunluğu, sinir liflerinin uzunluğu, akson uzunluğu ve çapı, miyelin durumu değerlendirilmiştir. Akson miktarı ve uzunluğunun ve Schwann hücre miktarının daha fazla bulunduğu kök hücre tedavisi eklenen grupta sinir onarımının daha iyi olduğu yorumu yapılmış ve bu durum SFI ile değerlendirmeleri ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir (Wei ve ark, 2011).

Carrel ve ark.'nın 2013 yılında yaptığı bir çalışmada: 10 mm boşluklu hasar bir grupta kök hücre ve kollajen kondüit ile bir grupta sadece kollajen kondüitle tedavi edilmiş ve MCOLL histokimyasal yöntem ve S-100, nörofilament ile immunhistokimyasal boyama ile gruplar arası farklar değerlendirilmiştir. S-100 ile işaretleneme sonucu işaretli bölgelerin yoğunluğu ve işaretlenen bölge değerlendirildiğinde: hücre eklenen gruptaki S-100 yoğunluğu ve alanı anlamlı olarak fazla bulunmuş; aynı parametreler ile nörofilament boyaması incelendiğinde aynı şekilde kök hücre eklenen grupta anlamlı olarak fazla bulunmuş. MCOLL histokimyasal yöntemle kollajen ve miyelin değerlendirilmiş, her iki parametre kök hücre eklenen grupta anlamlı olarak fazla bulunmuştur (Carriel ve ark, 2013).

Di Summa ve ark.'nın 2011 yılında yaptığı çalışmada: fibrin kondüit, fibrin kondüit kök hücre ile otogreft grupları belirlenmiş ve 10 mm siyatik sinir hasar tedavi edilmiş; SEM ile yapılan değerlendirmede aksonal alan, sinir lifi alanı, miyelin durumu, sinir lifi yoğunluğu ve sayımı ve sinirin genel çapı değerlendirilmiştir. Aksonal alan ve fibrin yoğunluğu kök hücre ve fibrin kondüit grubunda, diğer parametrelerde otogreft grubunda en yüksek değerler elde edilmiştir (di Summa ve ark, 2011).

Di Summa ve ark.'nın 2010 yılında yaptığı çalışmada ise 10 mm boşluklu hasar fibrin kondüit, fibrin kondüit ve farklılaştırılmamış kök hücre ve Schwann hücre fibrin kombinasyonu ile tedavi edilmiş; PGP 9,5 ve S-100 ile immunflüoresan boyama sonucunda gruplar arası değerlendirilmeler yapılmıştır. Schwann hücre ve kondüit grubunda fonksiyonel iyileşme en iyi olarak değerlendirilmiş ve bu grupta S-100 ve PGP 9,5 işaretlenme oranı en fazla, sadece kondüit ile tedavi edilen grupta ise boyanma oranı en az olarak değerlendirilmiştir (Di Summa ve ark, 2010).

Çalışmamızda da, PGP 9,5 ile işaretlenerek değerlendirilen akson miktarına ilişkin bulgularımız bahsedilen çalışmalar ile uyumludur. Diseksiyon ve diseksiyon kök hücre grubunda aksonal oran arasında anlamlı fark yoktu. Çalışmamızda normal sinirlerde diseksiyon yapılmıştır, klinik gereksinimler sebebi ile diseksiyon yapılması planlanan durumlar ileri çalışmalarda değerlendirilebilir. Fonksiyonel değerlendirme (SFI) sonuçlarının yüksek olduğu gruplarda akson ölçümlerimiz daha fazla bulunmuştur. Fonksiyonel iyileşme aksonal gelişim ile açıklanabilir. Fakat kök hücre uygulanan gruplarda fonksiyonel iyileşme morfolojik iyileşmeden daha barizdi. Bu da kök hücrenin etraf dokulardaki onarım etkileri ile açıklanabilir.

S-100 ile yaptığımız değerlendirmeler yukarıda bahsedilen çalışmalarla uyumlu değildir. Çalışmamızda kök hücre uygulanan gruplar ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunamadı. Bahsedilen çalışmalardaki yöntem ile bizim çalışmamız arasındaki yöntem farklılıkları bu durumun sebebi olabilir. Bahsedilen çalışmalarda boşluklu bir hasar bölgesi bulunmaktadır ve S-100 işaretlenmesi sadece o bölgedeki yeni gelişen Schwann hücrelerini göstermektedir. Çalışmamızda tamir edilen bölgedeki Schwann hücreleri değerlendirildi. Tamir edilen bölgede bulunan ve yeni gelişen Schwann hücrelerinin hepsi çalışmamızda değerlendirmeye girmiştir. Normal grupta S-100 işaretlenme oranı diğer gruplardan daha azdı. Morfolojik olarak daha iyi olarak değerlendirdiğimiz sinirlerde akson oranının daha yüksek olması S-100 işaretlenme oranının daha az olmasına sebep olabilir. Normal morfolojideki sinirlerde S-100 işaretlenme akson etrafında daha ince bir hat olarak izlendi. Gelişimin daha az olduğu gruplarda ise bu organizasyon bozuktü ve S-100 işaretlenme daha dağınık ve her bölgede izlendi. Bu durum S-100 işaretlenme oranının morfolojisi kötü sinirlerde daha fazla ölçmemize katkıda bulunmuş olabilir. Kök hücrelerin endojen Schwann hücrelerin proliferasyonunu arttırma ve Schwann hücrelerine farklılaşma özellikleri bulunmaktadır. Erken dönemde yapılacak değerlendirmeler ile henüz aksonal ve sinirin morfolojik iyileşme

düzeyleri daha düşük olduğu durumda kök hücrelerin bahsedilen etkileri ile S-100 işaretlenme düzeyleri kök hücre eklenen gruplarda daha anlamlı olarak yüksek bulunabilirdi. İleri araştırmalarla bu durum değerlendirilebilir.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yağ dokusu kaynaklı kök hücre uygulaması periferik sinir onarımına (yapılan motor fonksiyon ve histolojik değerlendirmeye göre) olumlu etki etmektedir.

Periferik sinir onarımında kök hücre (özellikle sinir hücre serilerine dönüştürülmüş) kullanımı ile ilgili daha ileri çalışmalar yapılmalıdır.

Yağ dokusu kökenli kök hücre kolay elde edilmesi ve izole edilmesi sayesinde oldukça umut vadeden bir tedavidir.

Farklı dokularda meydana gelen hasarlarda yağ dokusu kaynaklı kök hücrenin onarıma etkileri araştırılmalıdır.

## 6. KAYNAKLAR

- Abraham L. K. 2006. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş. Ramazan D, editor. Ankara: Palme Yayıncılık.
- Ahmed Z, Underwood S, Brown RA. 2003. Nerve guide material made from fibronectin: assessment of in vitro properties. *Tissue Eng.* 9(2):219-231.
- Aiba-Kojima E, Tsuno NH, Inoue K, Matsumoto D, Shigeura T, Sato T, Suga H, Kato H, Nagase T, Gonda K ve ark. 2007. Characterization of wound drainage fluids as a source of soluble factors associated with wound healing: comparison with platelet-rich plasma and potential use in cell culture. *Wound Repair and Regeneration* 15(4):511-520.
- Amos PJ, Shang H, Bailey AM, Taylor A, Katz AJ, Peirce SM. 2008. IFATS collection: The role of human adipose-derived stromal cells in inflammatory microvascular remodeling and evidence of a perivascular phenotype. *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 26(10):2682-2690.
- Asato F, Butler M, Blomberg H, Gordh T. Variation in sciatic nerve anatomy: implications for a rat model of neuropathic pain. *J Peripher Nerv Syst.* 2000;5:19-21
- Astori G, Vignati F, Bardelli S, Tubio M, Gola M, Albertini V, Bambi F, Scali G, Castelli D, Rasini V ve ark. 2007. "In vitro" and multicolor phenotypic characterization of cell subpopulations identified in fresh human adipose tissue stromal vascular fraction and in the derived mesenchymal stem cells. *J. Transl. Med.* 5:55.
- Bain JR, Mackinnon SE, Hudson AR, Wade J, Evans P, Makino A, Hunter D. 1992. The peripheral nerve allograft in the primate immunosuppressed with Cyclosporin A: I. Histologic and electrophysiologic assessment. *Plast. Reconstr. Surg.* 90(6):1036-1046.
- Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. 1989. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast. Reconstr. Surg* 83(1):129-138.
- Barbarisi M, Marino G, Armenia E, Vincenzo Q, Rosso F, Porcelli M, Barbarisi A. 2014. Use of polycaprolactone (PCL) as scaffolds for the regeneration of nerve tissue. *Journal of Biomed. Mater. Res. A.*103(5):1755-1760
- Battiston B, Tos P, Conforti LG, Geuna S. 2007. Alternative techniques for peripheral nerve repair: conduits and end-to-side neurorrhaphy. *Act. Neur. S.* 100:43-50.
- Bender MD, Bennett JM, Waddell RL, Doctor JS, Marra KG. 2004. Multi-channeled biodegradable polymer/CultiSpher composite nerve guides. *Biomaterials* 25(7-8):1269-1278.
- Bennett NT, Schultz GS. 1993. Growth factors and wound healing: biochemical properties of growth factors and their receptors. *A. J. Surg.* 165(6):728-737.
- Brandt KE ve Mackinnon SE: Microsurgical repair of peripheral nerves and nerve grafts. *Grabb and Smith's Plastic Surgery.* Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM (eds) Lippincott-Raven, Philadelphia, s:82, 1997 and Mackinnon SE. *New directions in peripheral nerve surgery.* *Ann Plast Surg.* 22: 257-64
- Brushart TM. 1999. *Nerve Repair and Grafting.* Operative Hand Surgery NY. Churchill Livingstone
- Burnstock G MP. 1995. *Peripheral Nervous System.* NY. Churchill Livingstone.
- Can A. 2014. *Kök Hücre.* Ankara: Akademisyen Tıp Kitabevi.
- Caplan AI. 1991. Mesenchymal stem cells. *J. Orthop. Res.* 9(5):641-650.
- Caplan AI. 1994. The mesengenic process. *Clin. Plast. Surg.* 21(3):429-435.

- Caplan AI. 2007. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J. Cell. Physiol.* 213(2):341-347.
- Carriel V, Garrido-Gomez J, Hernandez-Cortes P, Garzon I, Garcia-Garcia S, Saez-Moreno JA, Del Carmen Sanchez-Quevedo M, Campos A, Alaminos M. 2013. Combination of fibrin-agarose hydrogels and adipose-derived mesenchymal stem cells for peripheral nerve regeneration. *J. Neural Eng.* 10(2):026022.
- Chamberlain G, Fox J, Ashton B, Middleton J. 2007. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 25(11):2739-2749.
- Ciardelli G, Chiono V. 2006. Materials for peripheral nerve regeneration. *Macromol. Biosci.* 6(1):13-26.
- Crisan M, Yap S, Casteilla L, Chen CW, Corselli M, Park TS, Veriolo G, Sun B, Zheng B, Zhang L, et al. 2008. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell Stem Cell* 3(3):301-313.
- Cui L, Yin S, Liu W, Li N, Zhang W, Cao Y. 2007. Expanded adipose-derived stem cells suppress mixed lymphocyte reaction by secretion of prostaglandin E2. *Tissue Eng.* 13(6):1185-1195.
- Dazzi F, Horwood NJ. 2007. Potential of mesenchymal stem cell therapy. *Curr. Opin. in Oncol.* 19(6):650-655.
- Di Summa PG, Kalbermatten DF, Pralong E, Raffoul W, Kingham PJ, Terenghi G. 2011. Long-term in vivo regeneration of peripheral nerves through bioengineered nerve grafts. *Neuroscience* 181:278-291.
- Di Summa PG, Kingham PJ, Campisi CC, Raffoul W, Kalbermatten DF. 2014. Collagen (NeuraGen(R)) nerve conduits and stem cells for peripheral nerve gap repair. *Neurosci. Lett.* 572:26-31.
- Di Summa PG, Kingham PJ, Raffoul W, Wiberg M, Terenghi G, Kalbermatten DF. 2010. Adipose-derived stem cells enhance peripheral nerve regeneration. *J. Plast. Reconstr. Aes. Surg. : JPRAS* 63(9):1544-1552.
- Doi K, Tanaka S, Iida H, Eto H, Kato H, Aoi N, Kuno S, Hirohi T, Yoshimura K. 2013. Stromal vascular fraction isolated from lipo-aspirates using an automated processing system: bench and bed analysis. *J. Tissue Eng. Regen. M.* 7(11):864-870.
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop D, Horwitz E. 2006. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 8(4):315-317.
- Eto H, Suga H, Matsumoto D, Inoue K, Aoi N, Kato H, Araki J, Yoshimura K. 2009. Characterization of structure and cellular components of aspirated and excised adipose tissue. *Plast. Reconstr. Surg.* 124(4):1087-1097.
- Eroshenko PV. di Fiore's Atlas of Histology with Functional Correlations. Tercüme: Demir R. diFiore Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle. Ankara. Palme Yayımcılık, 2001.
- Fan Y, Bergmann A. 2008. Apoptosis-induced compensatory proliferation. The Cell is dead. Long live the Cell! *Trends Cell Biol.* 18(10):467-473.
- Fox JM, Chamberlain G, Ashton BA, Middleton J. 2007. Recent advances into the understanding of mesenchymal stem cell trafficking. *Brit. J. Haematol.* 137(6):491-502.

- Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. 1970. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet.* 3(4):393-403.
- Friedenstein AJ, Piatetzky S, II, Petrakova KV. 1966. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J. Embryol. Exp. Morph.* 16(3):381-390.
- Friedman R, Betancur M, Boissel L, Tuncer H, Cetrulo C, Klingemann H. 2007. Umbilical cord mesenchymal stem cells: adjuvants for human cell transplantation. *Biology of blood and marrow transplantation : j. Am. Soc. for Blood and Mar. Transpl.* 13(12):1477-1486.
- Glickstein M. 2006. Golgi and Cajal: The neuron doctrine and the 100th anniversary of the 1906 Nobel Prize. *Curr. Biol.* 16(5):R147-R151.
- Günderlioğlu, Bilsev İnce, Mehmet Dadacı, Murad Aktan, Duman S. 2013. Yağ Doku kökenli Kök Hücreler ve Plastik Cerrahide Uygulama Alanları. *Turk Plast. Surg.* 21(3).
- Howard CV. 1998. *Unbiased Stereology: BIOS Scientific Publishers* 1p.
- Hu J, Zhu Q-T, Liu X-L, Xu Y-b, Zhu J-K. 2007. Repair of extended peripheral nerve lesions in rhesus monkeys using acellular allogenic nerve grafts implanted with autologous mesenchymal stem cells. *Exp. Neurol.* 204(2):658-666.
- Huang JI, Kazmi N, Durbhakula MM, Hering TM, Yoo JU, Johnstone B. 2005. Chondrogenic potential of progenitor cells derived from human bone marrow and adipose tissue: a patient-matched comparison. *J. Orthop. Res.* 23(6):1383-1389.
- Hunt CG. 2002. *Peripheral Nerve Biomechanics: Application to neuromobilization approaches. Phys Ther* 7:1:10.
- Janquerira Luiz Carlos CJ. 2009. *Temel Histoloji. Solakoğlu Seyhun AY, editor: Nobel Tıp Kitapevi.* 162 p.
- Kanaya F, Firrell JC, Breidenbach WC. 1996. Sciatic function index, nerve conduction tests, muscle contraction, and axon morphometry as indicators of regeneration. *Plast. Reconstr. Surg.* 98(7):1264-1271, discussion 1272-1264.
- Kaplan S, Odaci E, Unal B, Sahin B, Fornaro M. 2009. Chapter 2: Development of the peripheral nerve. *Int. Rev. of Neurobiol.* 87:9-26.
- Keilhoff G, Fansa H. 2011. Mesenchymal stem cells for peripheral nerve regeneration--a real hope or just an empty promise? *Exp. Neurol.* 232(2):110-113.
- Kingham PJ, Kalbermatten DF, Mahay D, Armstrong SJ, Wiberg M, Terenghi G. 2007. Adipose-derived stem cells differentiate into a Schwann cell phenotype and promote neurite outgrowth in vitro. *Exp. Neurol.* 207(2):267-274.
- Kline DG, Hudson AR. 1995. Vertebral artery compression. *J. Neurosurg.* 83(4):759.
- Kondo K, Shintani S, Shibata R, Murakami H, Murakami R, Imaizumi M, Kitagawa Y, Murohara T. 2009. Implantation of adipose-derived regenerative cells enhances ischemia-induced angiogenesis. *Arterioscl. Throm. Vas.* 29(1):61-66.
- Kuroda Y, Kitada M, Wakao S, Nishikawa K, Tanimura Y, Makinoshima H, Goda M, Akashi H, Inutsuka A, Niwa A ve ark. 2010. Unique multipotent cells in adult human mesenchymal cell populations. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 107(19):8639-8643.
- Landers M. AP. 2003. *Peripheral Nerve Injury: Advances in Physiotherapy.* 67 p.
- Lawrence H. 1995. *Cells and Tissue, Gray's Anatomy.* Edinburgh: Williams PL Churchill Livingstone. 17-90 p.

- Liu GB, Cheng YX, Feng YK, Pang CJ, Li Q, Wang Y, Jia H, Tong XJ. 2011. Adipose-derived stem cells promote peripheral nerve repair. *Arc. Med. Sci. : AMS* 7(4):592-596.
- Luna J, Masamunt MC, Lawrance IC, Sans M. 2011. Mesenchymal cell proliferation and programmed cell death: key players in fibrogenesis and new targets for therapeutic intervention. *Am. J. Physiol-Gastr. L.* 300(5):G703-708.
- Lundborg G. 1987. Nerve regeneration and repair. A review. *Acta Orthop. Scan.* 58(2):145-169.
- Luse SA. 1956. Formation of myelin in the central nervous system of mice and rats, as studied with the electron microscope. *J. Biophys. Biochem. Cy.* 2(6):777-784.
- Myers RR. Morphology of the peripheral nervous system and its relationship to neuropathic pain. *Anesthesia: Biologic Foundations*, Yaksh TL, Lynch III C, Zapol WM, Maze M, Biebuyck JF, Saidman LJ (eds), Lippincott-Raven, Philadelphia, s: 487, 1998
- Meng H, Li M, You F, Du J, Luo Z. 2011. Assessment of processed human amniotic membrane as a protective barrier in rat model of sciatic nerve injury. *Neurosci. Lett.* 496(1):48-53.
- Mills SE. 2007. *Histology for pathologists: Lippincott & Wilkins.*
- Mohammadi R, Azad-Tirgan M, Amini K. 2013. Dexamethasone topically accelerates peripheral nerve repair and target organ reinnervation: A transected sciatic nerve model in rat. *Injury* 44(4):565-569.
- Moon MH, Kim SY, Kim YJ, Kim SJ, Lee JB, Bae YC, Sung SM, Jung JS. 2006. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve postnatal neovascularization in a mouse model of hindlimb ischemia. *Cell. Physiol. Biochem.* 17(5-6):279-290.
- Muthukrishnan L, Warder E, McNeil PL. 1991. Basic fibroblast growth factor is efficiently released from a cytosolic storage site through plasma membrane disruptions of endothelial cells. *J. Cell. Physiol.* 148(1):1-16.
- Myckatyn TM, Mackinnom S. 2007. *Microsurgical repair of peripheral nerves and nerve grafts.* Thorne CH, Beasley RW, Aston SJ, Bartlett SP, Gurtner GC, SL S, editors. Philadelphia: Lippincott- Williams- Wilkins. 73-78 p.
- Nebiloğlu S. 2012. Periferik Sinir Yaralanmalarında Kalsiyum Kanal Blokerleri ile Birlikte Sigara Dumani Maruziyetinin Sinir İyileşmesi Üzerine Etkisinin Araştırılması. Konya. Uzmanlık tezi 16 p.
- Ngeow WC, Atkins S, Morgan CR, Metcalfe AD, Boissonade FM, Loescher AR, Robinson PP. 2011. A comparison between the effects of three potential scar-reducing agents applied at a site of sciatic nerve repair. *Neuroscience* 181:271-277.
- Niemeyer P, Vohrer J, Schmal H, Kasten P, Fellenberg J, Suedkamp NP, Mehlhorn AT. 2008. Survival of human mesenchymal stromal cells from bone marrow and adipose tissue after xenogenic transplantation in immunocompetent mice. *Cytotherapy* 10(8):784-795.
- Noorafshan A, Omidi A, Karbalay-Doust S. 2011a. Curcumin protects the dorsal root ganglion and sciatic nerve after crush in rat. *Pathol. Res. Pract.* 207(9):577-582.
- Noorafshan A, Omidi A, Karbalay-Doust S, Aliabadi E, Dehghani F. 2011b. Effects of curcumin on the dorsal root ganglion structure and functional recovery after sciatic nerve crush in rat. *Micron* 42(5):449-455.
- Orbay H, Uysal AC, Hyakusoku H, Mizuno H. 2012. Differentiated and undifferentiated adipose-derived stem cells improve function in rats with peripheral nerve gaps. *J. Plast. Reconstr. Aes.* 65(5):657-664.

- Ozmen S, Ayhan S, Latifoglu O, Siemionow M. 2002. Stamp and paper method: a superior technique for the walking track analysis. *Plast. Reconstr.Surg.*109(5):1760-1761.
- Phinney DG, Prockop DJ. 2007. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair--current views. *Stem cells (Dayton, Ohio)* 25(11):2896-2902.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science (New York, NY)* 284(5411):143-147.
- Prockop DJ. 1997. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science (New York, NY)* 276(5309):71-74.
- Reid AJ, Sun M, Wiberg M, Downes S, Terenghi G, Kingham PJ. 2011. Nerve repair with adipose-derived stem cells protects dorsal root ganglia neurons from apoptosis. *Neuroscience* 199:515-522.
- Ross Michael H. PW. 2011. *Histology a Text and Atlas: Wolter Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins.* 368 p.
- Rustemeyer J, Dicke U. 2010. Prefabricated nerve conduits advance histomorphological and functional outcomes in nerve regeneration of the sciatic nerve of the rat. *Int. J. Oral Max. Surg.* 39(9):889-896.
- Santiago LY, Clavijo-Alvarez J, Brayfield C, Rubin JP, Marra KG. 2009. Delivery of Adipose-Derived Precursor Cells for Peripheral Nerve Repair. *Cell Transplantation* 18(2):145-158.
- Schmalbruch H. Fiber composition of the rat sciatic nerve. *Anat Rec.* 1986, 215:71-81.
- Seckel BR. 1990. Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle & Nerve* 13(9):785-800.
- Smith AG. 2001. Embryo-derived stem cells: of mice and men. *Ann. Rev. Cell Dev. Bi.* 17:435-462.
- Snykers S, De Kock J, Tamara V, Rogiers V. 2011. Hepatic differentiation of mesenchymal stem cells: in vitro strategies. *Method Mol. Biol.(Clifton, NJ)* 698:305-314.
- Song A, Tracey DJ, Ashwell KW. 1999. Development of the rat phrenic nerve and the terminal distribution of phrenic afferents in the cervical cord. *Anat. Embryol.* 200(6):625-643.
- Soulez M, Sirois I, Brassard N, Raymond MA, Nicodeme F, Noiseux N, Durocher Y, Pshezhetsky AV, Hebert MJ. 2010. Epidermal growth factor and perlecan fragments produced by apoptotic endothelial cells co-ordinately activate ERK1/2-dependent antiapoptotic pathways in mesenchymal stem cells. *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 28(4):810-820.
- Suga H, Eto H, Shigeura T, Inoue K, Aoi N, Kato H, Nishimura S, Manabe I, Gonda K, Yoshimura K. 2009. IFATS collection: Fibroblast growth factor-2-induced hepatocyte growth factor secretion by adipose-derived stromal cells inhibits postinjury fibrogenesis through a c-Jun N-terminal kinase-dependent mechanism. *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 27(1):238-249.
- Swett JE, Torigoe Y, Elie VR, Bourassa CM, Miller PG. Sensory neurons of the rat sciatic nerve. *Exp Neurol.* 1991;114:82-103
- Terzis JK SK. 1990. Repair and grafting of the peripheral nerve: Plastic Surgery. McCarthy JG (ed), WB Saunders, Philadelphia 630-97.
- Thanos PK, Okajima S, Terzis JK. 1998. Ultrastructure and cellular biology of nerve regeneration. *J. Reconstr. Microsurg.* 14(6):423-436.

- Thomas PK, Berthold CH, Ochoa J. 1993. Microscopic anatomy of the peripheral nervous system, *Peripheral Neuropathy*. Philadelphia. 28-80 p.
- Tomita K, Madura T, Sakai Y, Yano K, Terenghi G, Hosokawa K. 2013. Glial differentiation of human adipose-derived stem cells: implications for cell-based transplantation therapy. *Neuroscience* 236:55-65.
- Traktuev DO, Merfeld-Clauss S, Li J, Kolonin M, Arap W, Pasqualini R, Johnstone BH, March KL. 2008. A population of multipotent CD34-positive adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, reside in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks. *Circ. Res.* 102(1):77-85.
- Trzaska KA, Kuzhikandathil EV, Rameshwar P. 2007. Specification of a dopaminergic phenotype from adult human mesenchymal stem cells. *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 25(11):2797-2808.
- Türkiye Bilimler Akademisi. 2009. Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar. Can A, editor. Ankara: Türkiye Bilimler Akademisi. 15-16 p.
- Uccelli A, Pistoia V, Moretta L. 2007. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression? *Trends Immunol.* 28(5):219-226.
- Varejao AS, Cabrita AM, Meek MF, Bulas-Cruz J, Melo-Pinto P, Raimondo S, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG. 2004. Functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. *J. Neurotraum* 21(11):1652-1670.
- Varejao AS, Meek MF, Ferreira AJ, Patricio JA, Cabrita AM. 2001. Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis. *J. Neurosci. Method* 108(1):1-9.
- Wagner W, Wein F, Seckinger A, Frankhauser M, Wirkner U, Krause U, Blake J, Schwager C, Eckstein V, Ansorge W ve ark. 2005. Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood. *Exp. Hematol.* 33(11):1402-1416.
- Wakao S, Kitada M, Kuroda Y, Shigemoto T, Matsuse D, Akashi H, Tanimura Y, Tsuchiyama K, Kikuchi T, Goda M ve ark. 2011. Multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells are a primary source of induced pluripotent stem cells in human fibroblasts. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 108(24):9875-9880.
- Watt FM, Celso CL, Silva-Vargas V. 2006. Epidermal stem cells: an update. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 16(5):518-524.
- Wei Y, Gong K, Zheng Z, Wang A, Ao Q, Gong Y, Zhang X. 2011. Chitosan/silk fibroin-based tissue-engineered graft seeded with adipose-derived stem cells enhances nerve regeneration in a rat model. *J. Mater. Sci- Mater. M.* 22(8):1947-1964.
- Zavan B, Michelotto L, Lancerotto L, Della Puppa A, D'Avella D, Abatangelo G, Vindigni V, Cortivo R. 2010. Neural potential of a stem cell population in the adipose and cutaneous tissues. *Neurol. Res.* 32(1):47-54.

## 7. ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

### **Sıçanlarda, Yağ Dokusu Kökenli Kök Hücre Uygulamasının Periferik Sinir Onarımına Etkisi**

**Dr. Metin KOCACAN**

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ/KONYA-2014**

Periferik sinir yaralanmaları ciddi morbiditeye neden olan önemli bir problemdir. Periferik sinir hasarlarında çeşitli tamir yöntemleri bulunmaktadır. Sinirde doku kaybı olmadığı ya da az olduğu yaralanmalarda uç-uca ekleme yöntemi, doku kaybının daha çok olduğu durumlarda ise greft tamiri kullanılmaktadır. Graft olarak sentetik ve doğal maddeler (kollojen, silikon, fibrin, polycaprolactone, polylactic acid, polyglycolic acid) kullanılmakla birlikte, otogreft tedavi bazı dezavantajlarına rağmen (nöroma formasyonu, donör taraftaki motor ve his kaybı) halen ilk tedavi seçeneği olarak düşünülmektedir.

Yağ dokusu; adipositler, pre-adipositler, mikrovasküler endotelial hücreler, düz kas hücreleri, monositler, lenfositler ile kök hücreleri içeren mezodermal kaynaklı karmaşık bir dokudur. Postnatal kök hücreler için önemli bir kaynaktır. Yağ dokusu kaynaklı kök hücreler elde edilmesi kolay, uygun koşullarda çeşitli hücre serilerine dönüşüm gösterebilen multipotent hücrelerdir

Yapılan çalışmalarda greftin yağ dokusu kaynaklı kök hücre ile birlikte kullanmasının periferik sinir onarımına olumlu etkileri bildirilmiştir. Çalışmamızda geleneksel periferik sinir onarım yöntemleri ile yağ dokusu kaynaklı kök hücrenin tedavide beraber kullanılmasının periferik sinir onarımına etkileri araştırılmıştır.

Çalışmamızda 64 sıçan; primer dikiş, primer dikiş kök hücre, otogreft, otogreft kök hücre, diseksiyon, diseksiyon kök hücre, tedavi edilmemiş 1 cm boşluklu hasar ve kontrol grubu olarak 8 gruba ayrıldı. Genel anestezi altında sağ siyatik sinire planlanan hasar ve tamir modelleri uygulandı. 6 hafta sonra fonksiyonel iyileşmenin değerlendirilmesi amacıyla ayak izi testi (SFI) yapıldı. Alınan sağ siyatik sinirler dokuları, H&E ile boyanarak ışık mikroskopunda ve S-100, PGP 9,5 ve DAPI ile işaretlenip flüoresan ve konfokal mikroskopta genel yapı, aksonal organizasyon ve akson oranı, Schwann hücre morfolojisi ve oranı, damarlanma, fibrozis, inflamasyon durumları değerlendirilerek iyileşme düzeyleri belirlendi.

Primer dikiş ve otogreft tedavisine eklenen kök hücrenin dokudaki akson oranlarını arttırdığı ve bu gruplarda fonksiyonel iyileşmenin daha iyi olduğu gözlemlendi. Diseksiyon tedavisine eklenen kök hücrenin böyle bir etkisi saptanmadı. Schwann hücre oranı ile kök hücre arasında bir ilişki saptanmadı fakat kök hücre eklenen primer dikiş ve otogreft gruplarında hücre morfolojileri daha düzgündü. Damarlanma, fibrozis ve inflamasyona kök hücrenin etkisi gözlenmedi.

Sonuç olarak yağ dokusu kaynaklı kök hücrenin fonksiyonel ve morfolojik iyileşmeye olumlu etkileri saptandı. Kök hücrenin sinir onarımına bu olumlu etkilerinin salgıladıkları sitokinler, büyüme faktörleri ve çeşitli hücre serilerine dönüşebilme özelliğinin bulunması ile olduğu düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Periferik sinir hasarı, periferik sinir onarımı, yağ dokusu kaynaklı kök hücre.



## 8. SUMMARY

### **The effects of adipose derived stem cell application on peripheral nerve regeneration, in rats.**

Peripheral nerve injury is an important problem that causes serious morbidity. There are various ways of restoration in peripheral nerve damage. When there is no or little tissue loss at the nerve, end to end anastomosis is used. When tissue loss is at a higher level graft usage must be required. Synthetic or natural materials are used. In spite of having some disadvantages (neurama formation, functional or sensory loss at the donor side) autograft treatment is still considered as the first treatment method.

Adipose tissue is a mesodermal based complex tissue containing adipocytes, pre-adipocytes, microvascular endothelial cells, smooth muscle cells, monocytes, lenfocytes and stem cells. It is an important source for postnatal stem cells. Adipose tissue derivated stem cells are easy to obtain and can transform into various cell series under appropriate conditions.

In the literature, it has been shown that using graft combined with adipose tissue derivated stem cells has positive effects on the peripheral nerve regeneration. In our work, we investigated the effects of using adipose derived stem cell to traditional methods on nerve restoration.

In our work, 64 rats are divided into 8 groups: primary sture, primary sture and stem cell, autograft, autograft and stem cell, dissection, dissection and stem cell, untreated 1 cm gap damage and control. Damage and restoration procedures were applied to right siatic nerve under genel anesthesia. After 6 weeks, in order to evaluate functional recovery, foot print test was made, SFI was calculated and right siatic nerve was taken. Samples were stained with H&E for light microscopy and S-100, PGP 9,5 and DAPI for fluorescence and confocal microscope to evaluate general structure, axon organization and axon ratio, Schwann cell morphology and ratio, vascularition, fibrosis and inflammation condition.

Primary sture and stem cell, autograft and stem cell groups have increased axon ratio and functional recovery was better. Also there was no smiler effects of ADSC in dissection treatment group. No relation was determined between Schwann cell ratio and stem cell. However, cell morphologies in stem cell added primary sture and autograft groups were better. There was no effect of stemm cells on vascularition, fibrosis and inflammation.

As a result, positive effects of adipose tissue derived stem cells on functional and morphological recovery were determined. It is thought that these positive effects of stem cells on nerve regeneration is related to secreted sitokins, growth factors and capability of transforming into various cell series.

**Keywords:** Peripheral nerve injury, peripheral nerve repair, adipose tissue derived stem cell.

## 9. EKLER



T.C.  
**NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ**  
**Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi**  
**(KONÜDAM)**



**Karar Sayısı: 2013 – 200**

**Karar Tarihi: 25.12.2013**


Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D.'den Prof.Dr.Ender ERDOĞAN, Plastik Cerrahi A.D.'den Yrd.Doç.Dr.Osman AKDAĞ, Uzm.Dr.M.Nebil SELİMOĞLU ve Histoloji ve Embriyoloji A.D.'den Arş.Gör.Dr.Metin KOCACAN tarafından sunulan **"Sıçanlarda Yağ Dokusu Kökenli Kök Hücre Uygulamasının Periferik Sinir Onarımına Etkisi"** başlıklı Tez Projesi 6 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

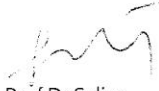
Projede 10 grupta toplam 92 adet sıçan (Wistar Albino) kullanılacağı ve sıçanların anestezi altında servikal dislokasyon ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.

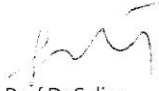
Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin Necmettin Erbakan Üniversitesi Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesinin 6ncı maddesinde belirtilen "Etik Kurallara Uygunluk Esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.


Necmettin Erbakan Üniversitesi Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesinde "Başvuru Sahibinin Sorumlulukları" başlığı altında yer alan kurallar ve madde 6'da belirtilen "Hayvan Deneyleri ile İlgili Etik İlkeler" saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında "Etik Kurul Yönergesi İlkelerine Uyulduğuna", çalışmanın deneysel kısmını yapacak çalışmacının "Deney Hayvanları Kullanım Sertifikasına" sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından **"Uygun"** olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.


  
Prof.Dr.K.Esra  
NURULLAHOĞLU ATALIK  
Başkan

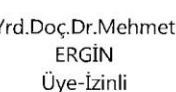
  
Prof.Dr.Lema TAVLI  
Üye


  
Prof.Dr.A.Saide ŞAHİN  
Üye-Katılmadı

  
Prof.Dr.Selim  
KUTLU  
Üye


  
Doç.Dr.Mehmet GÜL  
Üye

  
Doç.Dr.Tevfik  
KÜÇÜKARTALLAR  
Üye

  
Yrd.Doç.Dr.Mehmet  
ERGİN  
Üye-İzinli

  
Dr.M.Metin  
ŞENER  
Üye

  
Yeti Hek.Alpaslan  
ÖZKÜRKÇÜLER  
Üye

  
Mustafa ŞİRİN  
Üye

Adres:N.E.Ü.Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi, 42080-Meram/KONYA  
Tel: (0332) 223 71 11, Faks: (0332) 223 71 24 e-posta: konudam@konya.edu.tr  
Web Adresi: <http://www.konya.edu.tr/merkezler/konudam> Bilgi: 223 71 11

## 10. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Kütahya Domaniç'te doğdu. İlkokulu Domaniç, Durabey Köyü İlkokulunda, ortaokulu Simav Nurullah Koyuncuoğlu Anadolu Lisesinde ve liseyi de Tavşanlı Anadolu Öğretmen Lisesinde tamamladı. 2002 yılında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesine girdi. 2008 yılında mezun olduktan sonra Ağrı Eleşkirt Merkez Sağlık Ocağı ve Meram 24 No'lu Sağlık Ocağında yaklaşık 1 yıl süre ile pratisyen hekimlik yaptı. 2010 yılında Konya Eğitim Araştırma Hastanesi'nde 6 ay süre ile Aile Hekimliği asistanlığı yaptıktan sonra 2011'de Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimine başladı. Evli ve iki çocuk babasıdır.