

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

SİYATİK SİNİRİN VASKÜLER HASARI SONRASI
ERİTROPOİETİN'İN AKSONAL REJENERASYON
ÜZERİNE ETKİSİ

Derya ÖZDEMİR ERTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2019-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

SİYATİK SİNİRİN VASKÜLER HASARI SONRASI
ERİTOPOİETİN'İN AKSONAL REJENERASYON
ÜZERİNE ETKİSİ

Derya ÖZDEMİR ERTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Levent SARIKCIOĞLU

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2017-2996 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

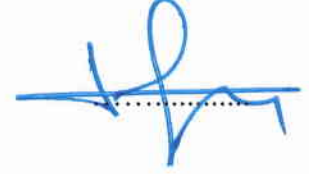
2019-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Anatomi Anabilim Dalı, Anatomi Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 27 /06 /2019

İmza

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Levent SARIKCIOĞLU
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Nigar KELEŞ ÇELİK
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Özkan OĞUZ
Çukurova Üniversitesi



Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun...../...../..... tarih ve/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Narin DERİN

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Öğrenci

Derya ÖZDEMİR ERTÜRK

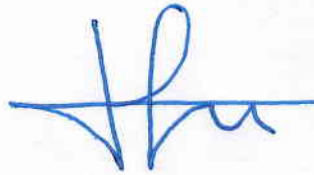
İmza



Tez Danışmanı

Prof. Dr. Levent SARIKCIOĞLU

İmza



TEŐEKKÜR

Uzmanlık Eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan; disiplinli bir şekilde çalışılmayı bana öğütleyen tez danışmanım Prof. Dr. Levent SARIKCIOğLU'na,

Yüksek Lisans eğitimimin başından sonuna kadar bana bilgi ve tecrübelerini aktaran Anatomi Anabilim Dalı'nın değerli hocalarına,

Sağlık Bilimleri Enstitümüz akademik ve idari personeline, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi çalışanlarına,

Bugünlere gelmemi sağlayan annem Elif ÖZDEMİR ve babam İsmail Hakkı ÖZDEMİR başta olmak üzere tüm aileme; desteğini esirgemeyen eşim Mehmet ERTÜRK'e ve sabırla benim ders çalışmama müsaade eden oğlum Toprak ERTÜRK'e,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Derya ÖZDEMİR ERTÜRK

ÖZET

Amaç: Periferik sinirin vasküler hasarı sonrası rejenerasyonu konusunda az sayıda çalışma mevcuttur. Bu nedenle çalışmamızda siyatik sinirin vasküler sinir hasarı sonrası Eritropoietin etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: 40 adet dişi sıçan çalışmamızda kullanılmış ve denekler randomize olarak dört gruba ayrılmıştır (Grup 1: Kontrol, Grup 2: Sham, Grup 3: Eritropoietin (-), Grup 4: Eritropoietin (+)).Sinirin aksonal rejenerasyonu, fonksiyonel (yürüme pattern analizi, pinch test, elektrofizyolojik ve biyokimyasal testler) ve yapısal (elektron mikroskopi analiz) testlerle analiz edilmiştir.

Bulgular: Siyatik fonksiyon indeksi (SFI) ve pinch test buguları değerlendirildiğinde Eritropoietin alan deney grubunda Eritropoietin almayan gruba kıyasla yürümenin ve duyuusal fonksiyonun daha olumlu yönde etkilendiği tespit edildi. Elektrofizyolojik analiz ve biyokimyasal analiz sonuçları da diğer analizleri doğrulayacak nitelikte Eritropoietin'in koruyucu etkisini desteklemiştir.

Sonuç: Sonuç olarak Eritropoietin'in vasküler sinir hasarında aksonal rejenerasyonu olumlu yönde etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgularımızın, sinir rejenerasyonunun anlaşılması yönünden literatüre katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

AnahtarKelimeler: Siyatik sinir, Eritropoietin, vasküler hasar

ABSTRACT

Objective: A limited number of studies on the peripheral nerve injury due to vascular damage has been documented in the literature. This is why, in the present study, effect of Erythropoietin on recovery of the sciatic nerve after vascular sciatic nerve injury.

Method: A total number of 40 Wistar rats were used for this purpose and randomly divided into four groups (Group 1: Control, Group 2: Sham-operated, Group 3: Erythropoietin (-), Group 4: Erythropoietin (+)). Sciatic nerve regeneration was evaluated by functional (walking track analysis, pinch test, electrophysiologic and biochemical tests) and structural (electron microscopy) tests.

Results: SFI values and pinch test values showed beneficial effects of Erythropoietin on axonal regeneration. Electrophysiologic and biochemical analyses were also revealed beneficial effect of Erythropoietin as shown by other analyses done.

Conclusion: We think that our study will add valuable knowledge to the literature on the understanding of the nerve regeneration.

Key words: sciatic nerve, Erythropoietin, vascular damage

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
SİMGELER ve KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Periferik sinir	3
2.1.1. Periferik sinirin bağ dokusu komponentleri	3
2.1.2. Damarsal yapı	3
2.2. Periferik sinir yaralanması	5
2.2.1. Periferik sinir yaralanması için deneysel modeller	6
2.3. Eritropoietin	6
3. GEREÇ ve YÖNTEM	9
3.1. Denekler	9
3.2. Deney Grupları	9
3.3. Cerrahi İşlemler	9
3.4. Eritropoietin uygulaması	10
3.5. Değerlendirme Testleri	10
3.5.1. Motor Fonksiyon Testi (Yürüme Patern Analizi)	10
3.5.2. Duyusal Fonksiyon Testi (Pinch Test)	11
3.5.3. Ultrastüktürel Değerlendirme	11
3.5.4. Biyokimyasal Değerlendirme	12
3.5.5. Elektrofizyolojik analiz	14
3.6. Veri Analizi	14

4. BULGULAR	15
4.1. SFI değerleri	15
4.2. Pinch test bulguları	16
4.3. Ultrastrüktürel değerlendirme	17
4.4. Lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelerinin analiz sonuçları	18
4.5. Elektrofizyolojik analiz sonuçları	19
5. TARTIŞMA	21
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	26
KAYNAKLAR	27
ÖZGEÇMİŞ	33

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	Sıçan ayak izleri ve elde edilen ölçümler	11
Şekil 4.1.	Operasyon öncesi ve sonrası elde edilen SFI değerleri	16
Şekil 4.2.	Tam geri çekme refleksi (Grade 3) gösteren denek sayıları	17
Şekil 4.3.	Epinöral devaskularizasyon uygulanan gruplardaki siyatik sinirlerin elektron mikroskopik görünümleri	18
Şekil 4.4.	Deney gruplarına ait MDA seviyesi, SOD, CAT, GPx enzim aktiviteleri	19
Şekil 4.5.	Deney gruplarına ait amplitüd ve latens değerleri	20

SİMGELER ve KISALTMALAR

BDNF	:	Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
CAT	:	Katalaz
Epo	:	Eritropoietin
EpoR	:	Eritropoietin reseptörü
GPx	:	Glutasyon peroksidaz
SOD	:	Superoksit dismutaz
VEGF	:	Vasküler endotelyal büyüme faktörüne

1. GİRİŞ

Periferik sinirler, canlılarda duyu ve motor fonksiyonların sürdürülmesinde görev yapan en önemli yapılardır. Periferik sinirlerde oluşabilecek hasarlar, bu işlevlerin kısmen ya da tam olarak ortadan kalkması ile sonuçlanır. Periferik sinir kesisi sonucu yapılan standart cerrahi onarımlara rağmen, çoğu zaman tam bir fonksiyonel iyileşme elde edilemez (Brushart ve ark., 1998). Bu sorunun önlenmesine yönelik birçok cerrahi teknik denenmesine rağmen, periferik sinirin rejenerasyonuna etki edebilecek ajanlar konusunda yapılmış deneysel çalışmalar azdır (Cuppini ve ark., 1993; Cecchini ve ark., 1994).

Periferik sinir rejenerasyonun klinik sonuçlarını etkileyen çeşitli nedenler vardır. Onarım hattında oluşan iskemi ve devamındaki inflamatuvar süreçte, yaralanma bölgesinde başta serbest oksijen radikalleri olmak üzere, toksik etkili birçok ajan birikir (Sewerynek ve ark., 1995). Sonuçta membran permeabilitesi bozulur ve hücre içine kalsiyum akışı başlar. Hücre içinde kalsiyum iyonunun artması proteolitik enzimleri aktive ederek, nörofilament ve mikrotübülleri de kapsayan hücre yapı taşlarının yıkımına neden olur (Stys ve ark., 1990; Kater ve Mills, 1991).

Periferik sinir iyileşmesini tam olarak anlamak için hasarın tam olarak anlaşılması yani, hasar sonrası dönemde sinir ve çevre dokularda oluşan değişikliklerin morfolojik ve moleküler düzeyde bilinmesi gereklidir. Bu amaca yönelik olarak sinir hasarını simüle etmek üzere çeşitli deney hayvanlarında farklı sinir hasarı modelleri oluşturulmuştur. Bu deney modellerinin birbirlerinden farklılığı hasarın oluşturulma yeri, şiddeti, biçimi ve süresidir. Periferik sinir hasarı oluşturmak için ezi (Seltzer ve ark., 1990; Decosterd ve ark., 2002), kesi (Wall, 1979), termal hasar (DeLeo ve ark., 1994), nörotoksik maddeler (DeLeo ve Yezierski, 2001; Shimoyama ve ark., 2002) ve iskemi (Sarıkcioglu ve ark., 2008) gibi modeller kullanılmaktadır. Bu modeller içerisinde en çok kullanılanları; siyatik sinirin tam kesisi ve ezisidir. Buna karşın sinirin vasküler hasarı az çalışmada kullanılmıştır.

Periferik sinir cerrahisinde pek çok tekniğin tanımlanmış olmasına rağmen rejenerasyon başarısı suboptimal düzeydedir. Bu nedenle pekçok ajanın kullanımı literatürde bildirilmiştir. Bu ajanlar arasında eritropoietin'in kullanımı çok az sayıda çalışmada bildirilmiştir. Bu çalışmada siyatik sinirin vasküler hasarı modelimizde eritropoietin'in etkilerinin araştırılması amacıyla çalışmamız planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periferik Sinir

Sinir sistemi sistematik olarak merkezi ve periferik sinir sistemi olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Merkezi sinir sistemi, beyin ve medulla spinalis'ten oluşur. Periferik sinir sistemi ise sağda ve solda olmak üzere 31 çift olmak üzere spinal sinirler ile sağda ve solda olmak üzere 12 çift kranial sinirden oluşmaktadır (Lockhart ve ark., 1965; Goss, 1973; Terzis ve Smith, 1990; Moore, 1992; Snell, 1992; Berry ve ark., 1995; Rydevik ve ark., 2001; Akkın, 2003; Stewart, 2003).

2.1.1. Periferik Sinirin Bağ Dokusu Komponentleri

Periferik siniri saran kılıflar bağ dokusu kaynaklıdır ve bu kılıflar epinörium, endonörium ve perinörium olarak isimlendirilirler. Sinir lifleri gerilmeye ve basınca oldukça hassas olduklarından dolayı bu bağ doku tabakaları sinirin dış etkenlere karşı korunması için önemlidir. Her bir sinir lifi endonörium ile sarılıdır. Endonörium, longitudinal yerleşimli kollajen lifler içerir. Birkaç sinir lifi bir araya gelerek perinörium ile sarılır ve böylece bir sinir demeti (fasikül) meydana gelir. Perinörium, fibroblast kaynaklı yassılaştırmış poligonal hücrelerden oluşan lameller bir yapıya sahiptir. Yüzeysel lameller geçirgen özelliğe sahipken; derin lameller kan-sinir bariyeri içeren damarsal yapılara sahiptirler. Perinörium aynı zamanda longitudinal gerim kuvvetlerinin etkisi altındadır. Sinirin gerilmeye karşı direncinin önemli bir bölümü bu bağ dokusu kılıfı ile gerçekleşmektedir. Epinörium ise birden fazla sinir demetini saran gevşek areolar bağ dokusudur. Epinörium, fibroblast, kollajen ve yağ hücreleri içerir. İçerdiği yağ hücreleri, travmalara karşı bir yastık görevi görür (Lockhart ve ark., 1965; Goss, 1973; Terzis ve Smith, 1990; Moore, 1992; Snell, 1992; Berry ve ark., 1995; Rydevik ve ark., 2001; Akkın, 2003; Stewart, 2003).

2.1.2. Damarsal Yapı

Bir sinir hücresinin fonksiyonunu devam ettirebilmesi için yeterli ve devamlı oksijen desteğine gereksinimi vardır. Periferik sinirin farklı segmentleri ve farklı tabakaları arasında iyi gelişmiş kollateral dallar tarafından oluşturulan geniş damar pleksusları

vardır (Adams, 1942; Blunt, 1957; Bell ve Weddell, 1984b, 1984a; Lundborg ve Dahlin, 1992). Bu damar pleksusları, ekstrinsik ve intrinsik sistem olarak isimlendirilen iki fonksiyonel bölümden oluşur (Lundborg ve Dahlin, 1992). Ekstrinsik sistem, değişen çapta ve genellikle komşu büyük arter ve venlerden köken alan segmental damarlardan oluşur. Ek olarak, önemli miktarda kan desteği, kas perforatorları ve periosteal damarlardan sağlanır. Bu besleyici damarlar, sinirin epinörium tabakasına ulaştığında dallara (inen ve çıkan) ayrılarak; sinirin bütün tabakalarında intranöral pleksusu oluştururlar (Terzis ve Smith, 1990). Damarlar, epinörium'un derin ve yüzeysel tabakalarında yerleşim gösterirler. Bu damarlar, perinöriumdaki damar ağları ile çok fazla anastomoz yaparlar. Perinöral pleksustaki anastomotik damarlar perinöriumdan endonöral tabakaya oblik olarak uzanırlar (Terzis ve Smith, 1990) (Şekil 2.1).

Ekstrinsik sistemden köken alan venler genel olarak arterlere yandaşlık ederler. Doku içinde yer alan bu arter ve venler kıvrıntılı bir seyir izlerler. Bu özellik, damarların sinirin gerimi sırasında hareket serbestliğine olanak sağlar (Lundborg, 1979). Epinöriumdaki intranöral damarlar sempatik sinir sistemi tarafından innerve edilir ve buradaki sinir lifleri besleyici damarlara yakın seyrederek (Lundborg, 1970; Bell ve Weddell, 1984a; Nordin ve Frankel, 2001).

Intrinsik intranöral damar sistemi, ekstrinsik besleyici damarların sinir içerisine girdiği noktadan başlar. Bu dallar, epinörium içinde longitudinal olarak uzanarak; geniş damar ağlarını oluştururlar. Bu damarlarda, kan akımı predominant paterne sahip değildir (ters yönde kan akımlarının aynı damarın farklı noktalarında aynı anda oluşabileceği bildirilmiştir) (Bell ve Weddell, 1984a). Anastomozlar, çoğunlukla arteriol-arteriol, venül-venül, ve arteriol- venül arasında bulunur. Epinöriumdaki damarsal ağın, kan ihtiyacına göre geniş hacimdeki kanı yeniden yönlendirebileceği ve böylece yüksek adaptasyon kapasitesine sahip bir sistem olduğu bildirilmiştir (Bell ve Weddell, 1984a). Benzer organizasyon, perinöral damarlarda da vardır. Endonöriumun primer kapiller pleksusu ve birbirleri ile çeşitli anastomozlar yapan pekçok longitudinal damar vardır (Şekil 2.1). Bu birleştirici damarlar, sinir içerisinde oblik seyir izlerler ve perinöral bağ dokusunun bir kısmını da üzerlerinde taşırlar (Burkel, 1967; Terzis ve Smith, 1990).

Her bir fasikülde endonöral damar ağı kılcal kan damarlarından oluşmaktadır (Lundborg, 1970, 1975; Bell ve Weddell, 1984a, 1984b). Bu endonöral damar yatağı sinirin uzunluğu boyunca devam eder. Endonöriumdaki damarların merkezi sinir sistemi damarlanması ile fonksiyonel ve yapısal olarak benzerlik gösterdikleri bildirilmiştir (Lundborg ve Dahlin, 1992). Endonöral damarlar birbirleri ile anastomoz yaparlar ve normal şartlar altında vasküler yatağın bazı bölümleri her zaman fonksiyoneldir. In vivo deneylerde, vasküler yatağın tam perfüzyonunun sadece hafif mekanik travma ve sinire ilik serum fizyolojik uygulandığı zaman gerçekleştiği bildirilmiştir (Terzis ve Smith, 1990).

Kan-sinir bariyeri, kan içerisinde bulunan bazı maddelerin geçişine izin verir. Epinöral kan damarlarında proteinler damar duvarından kolayca geçerler. Endonöral damarlarda ise endotel boyunca protein geçişi ya çok azdır ya da hiç yoktur (Terzis ve Smith, 1990; Rydevik ve ark., 2001).

2.2. Periferik Sinir Yaralanması

Periferik sinirler, pekçok nedenden dolayı hasara uğrayabilirler. Bu nedenler arasında mekanik, termal, iskemik, ışınsal (radyasyon), elektriksel ve kimyasal etkenler yer almaktadır (Terzis ve Smith, 1990; Lundborg ve Dahlin, 1992). Bu etkenler içerisinde en sık olanı travmatik yaralanmalardır. Periferik sinir yaralanmaları, kişinin fonksiyonlarını ileri derecede kısıtlayabilmesi, sosyoekonomik ve psikolojik durumunu etkileyebilme potansiyelinden dolayı pekçok araştırmacı tarafından çalışma konusu yapılmış bir alandır. Bu çalışmalarda temel amaç, periferik sinir yaralanması sonrası sinir iyileşmesinin (fonksiyonun geri dönüşü) en kısa sürede sağlanmasıdır. Bu iyileşmenin hızlı ve istenilen şekilde olması hasarın tipine ve uygulanan tedavi stratejisine bağlıdır (Oliveira ve ark., 2001).

Periferik sinir yaralanmaları, ilgili vücut segmentinde motor, duyu ve otonomik fonksiyonlarda kısmi veya tam kayıp ile sonuçlanır (Dellon ve Mackinnon, 1989). Reinnervasyon, hasarlanan aksonun kollateral dallarının ya da aksonun kendisinin rejenerasyonu ile gerçekleşmektedir. Periferik sinir yaralanmasından sonra akson ve myelin kılıf lezyonun distaline doğru degrade olur. Dejenere yapılar, makrofaj infiltrasyonu ve Schwann hücreleri ile elemine edilir. Bu sürece, Wallerian dejenerasyon

adı verilir. Aksonal rejenerasyon, dejenere sinirin ekstrasellüler matriksinden, makrofajlar ve Schwann hücresinden salınan trofik ve tropik faktörlere gereksinim duymaktadır (Lundborg ve Dahlin, 1992; Stewart, 2003).

Periferik sinir harabiyeti, uygulanan ezi süresine ve kuvvetine bağlı olarak farklı şiddette olabilir. Bu şiddetin düzeyine konnektif dokusununda bir etkisi vardır. Örneğin, fazla miktardaki bir bağ dokusu ile sarılı polifasiküler sinirler, az miktarda bağ dokusu ile sarılı tek fasikül içeren sinirlere göre daha az oranda eziden etkilenirler. Fasikül içerisindeki liflerin çapları da önemli bir faktördür. Büyük çapa sahip olan sinir lifleri küçük çaplı liflere göre ezi ve iskemiye daha fazla duyarlıdır. Ayrıca, kalın perinörium içerisine gömülü küçük lifler, ince perinörium içerisine gömülü kalın liflere oranla daha az oranda eziye duyarlıdır (Lundborg ve Dahlin, 1992; Lundborg ve Dahlin, 1996).

2.2.1. Periferik Sinir Yaralanması İçin Deneysel Modeller

Periferik sinir rejenerasyonu ile ilgili çalışmalarda, pek çok hayvan türü, sinir modeli ve yaralanma tipleri kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda kemirgenlerden; özellikle fare ve sıçanlardan yararlanılmıştır. Bu denekler üzerinde çok çeşitli sinir lezyonları çalışılmıştır. Bu sinirler arasında, siyatik, femoral, fasiyal, median ve ulnar sinirler sayılabilir. Periferik sinir yaralanmaları ile ilgili çalışmalarda siyatik sinir modeli en yaygın olarak tercih edilen modeldir (Mackinnon ve ark., 1985; Munro ve ark., 1998).

2.3. Eritropoietin

Eritropoietin, kemik iliğinden kaynak alan eritrositlerin üretilmesi işinde görev alan 165 aminoasitten oluşan globüler bir glikoprotein hormondur (Jelkmann, 2007). Glikoprotein grubu bir hormon olması nedeniyle %40 oranda karbonhidrat içerir. Eritropoietin, 4 α -heliks bağı içerir. 30.4 kDa moleküler ağırlığa sahiptir. Eritropoietin'i oluşturacak olan mRNA 193 aminoasitten oluşan bir proteinin oluşmasını sağlar. Ancak, posttranslasyonel modifikasyonla bu aminoasit sayısı 165'e düşürülerek hormonun son şekli verilir (Farrell ve Lee, 2004). Eritropoietin fetal dönemde genel olarak hepatositlerde üretilir. Bunun yanısıra karaciğer'deki ito hücrelerinde de salındığı bildirilmiştir (Lacombe ve Mayeux, 1999). Postnatal hayatta Eritropoietin'in yaklaşık %90'ı böbreklerde renal peritübüler hücrelerde üretilir. Geri kalan kısmı ise dalak,

akciğer, beyin, karaciğer, kemik iliği, üreme organları gibi farklı kaynaklar tarafından da üretilir (Jelkmann, 2004). Eritropoietin kemik iliğinde hematopoetik kök hücrelerden proeritroblastların üretimini uyararak kırmızı kan hücrelerinin üretimini (hematopoez) ve antiapoptotik aktivite ile eritrositlerin hayatta kalmasını sağlar. Eritrosit üretimi süregelen hipoksi giderilene kadar ya da yetersiz eritrosit sayısı yeterli hale getirilip dokulardaki oksijen saturasyonu yeterli miktarda oluncaya kadar devam eder. Eritropoietin düşük oksijen koşullarında eritrosit üretiminin temel etkenidir (Fisher, 2003). Ayrıca Eritropoietin doğrudan ya da dolaylı olarak hücreleri koruyan bir sitokin özelliğine sahiptir. Eritropoietin, sitoprotektif etkisini iskemik/hipoksik dokuda apoptozisi inhibe ederek gösterir. Herhangi bir nedenden dolayı gelişen hipoksik koşullarda eritropoezi indükler. Beyinde, Eritropoietin sentezi pek çok mekanizma ile düzenlenir. Hipoksinin oluşması merkezi sinir sisteminde ve böbreklerde gen transkripsiyonunu arttırarak Eritropoietin miktarında bir artış oluşturur (Noguchi ve ark., 2007). Nöronal aktivitedeki artış, hipoglisemi, fazla nöronal depolarizasyon, mitokondriyal reaktif oksijen moleküllerindeki artışa bağlı olarak HIF'in uyarılmasını ve serebral Eritropoietin üretimindeki artışı tetikler.

Embriyo beyni ve yetişkin hippocampus'unda yapılan biyopsilerde temporal korteks, amygdala'da nöron ve nöroglia hücrelerinde, kadın genital organlarında, meme bezinde, plental trofoblastlarda, kemik iliği makrofajları ve eritroid pregenitör hücrelerinde Eritropoietin varlığı gösterilmiştir. Astrositlerde Eritropoietin üretimi insülin ve insülin benzeri büyüme faktörü yardımıyla doza bağlı olarak düzenlenir. Ayrıca interlökin-6, interlökin-1 β , ve tümör nekroz faktör- α gibi proinflamatuvar sitokinler, nöron ve astrosit ve mikroglia gibi nöroglia hücrelerinde Eritropoietin salınımını etkiler (Nagai ve ark., 2001).

Eritropoietin reseptörü (EpoR) 66-78 kilodalton büyüklüğünde olup sitokin reseptör süper grubunda bir yapıdır. EpoR geni ilk kez farelerde eritrolösemi hücreleri kullanılarak klonlanmıştır (Yoshimura ve Misawa, 1998). Kalp, böbrek, beyin, retina, düz kas hücreleri, endotel, nöronal hücrelerde EpoR tespit edilmiştir (Arcasoy, 2008). Merkezi sinir sisteminde major Eritropoietin bağlanma yerleri orta beyin alanı, hippocampus, korteks, capsula interna olarak belirlenmiştir (Genc ve ark., 2004).

Eritropoietin'in etki mekanizmalarından bir diğeri nörogenezisin düzenlenmesini sağlayan nörojenik etkisidir. Eritropoietin'in nöronal kök hücrelerinin proliferasyon ve farklılaşmasında kontrol görevi olduğu düşünülmektedir. Eritropoietin reseptörü erişkin subventriküler zon ve nörogenez sırasında embriyonik germinal zonda görülmüştür (Genc ve ark., 2004). Yetişkinlerde lateral ventrikülünün içine Eritropoietin infüzyonu uygulanmış ve ventriküllerin hemen altında bulunan alanda nöronal kök hücre sayısında azalma, bulbus olfactorius internöronlarında artış tespit edilmiştir. Eritropoietin'in *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda kullanımında BDNF seviyelerinde bir artış, nörolojik fonksiyonlarda bir iyileşme saptanmıştır. EpoR yoksun olan farelerde nörogenezde gerileme nöronal pregenitor hücrelerinde azalma ve nöronal apoptozda artma görülmüştür. Travmaya bağlı beyin yaralanması olan sıçan modellerine, Eritropoietin verilmiş ve posttravmatik 14. günde yeni oluşan nöron sayısında artış ve boyutsal hafızada iyileşme tespit edilmiştir (Lu ve ark., 2005). Eritropoietin normal ve yaralı erişkin SSS'de miyelin onarımını sağlar, sıçan oligodendrositlerinde olgunlaşma ve farklılaşmaya sebep olur. Ayrıca yenidoğan ve erişkin hayvanlardaki nöronal kök hücrelerinde farklılaşmada faktördür. Eritropoietin yaralanma sonrası süreçte rejenere nöronların göçünü ayarlar (Sugawa ve ark., 2002).

Eritropoietin'in antipitotik etkisini apoptotik süreç içerisinde görev alan genlerin ekspresyonunun farklı şekilde düzenleyerek gösterdiği varsayılmaktadır. Eritropoietin,nöronal hasara sebep olan anoksi ve serbest radikaller nedeniyle hücre ölümü ilgili olarak pekçok hücreyel yolağın uyarılmasını sağlar (Ghezzi ve Brines, 2004).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1.Denekler

Çalışmamızda 250-300 gr ağırlığında genç 40 adet dişi cinsiyetteki *Rattus norvegicus* Wistar sıçan üzerinde uygulandı. Tüm denekler 12 saat gece, 12 saat gündüz siklusunda ve her kafeste 5 denek olacak şekilde sınırsız yem ve suya erişebilecekleri ortamda barındırıldı. Deney öncesinde bütün deneklerin normal yürümleri kontrol edilerek, normal olmayanlar deney grubundan çıkarıldı. Tüm prosedürler Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Bakım ve Kullanım Kuruluna sunuldu ve gerekli izinler alındı (Protokol no: 2014.11.06).

3.2.Deney Grupları

Çalışmamıza dahil edilen denekler aşağıdaki belirtildiği şekilde sınıflandırıldı ve denekler gruplara randomize bir şekilde dağıtıldı.

Grup 1: Kontrol (n: 10 denek)

Grup 2: Sham (n: 10 denek): Bu grupta cerrahi stres uygulanması amacıyla siyatik sinire ulaşıldı ve daha sonra cilt kesisi 4.0 dikiş materyali ile kapatıldı.

Grup 3: siyatik sinir hasarı + Eritropoietin (-) (n: 10 denek): Bu grupta siyatik siniri besleyen epinöral damarlar 1 cm boyunca kaldırıldı ve siyatik sinirin vasküler hasarı bu şekilde oluşturuldu,

Grup 4: siyatik sinir hasarı + Eritropoietin (+) (n: 10 denek): Grup 3'teki gibi siyatik hasar oluşturulduktan sonra 5000U/kg dozunda Eritropoietin tedavisi uygulandı.

3.3.Cerrahi İşlemler

Cerrahi işlem öncesinde deneklerin anestezisi, Xylazin HCl (15 mg/kg) ve ketamin (100 mg/kg) karışımının intraperitoneal enjeksiyonu ile sağlandı. Sol uyluğun arka ve yan yüzü traşlanarak antiseptik solüsyon ile temizlendikten sonra uyluğun dış yanına bir deri insizyonu yapıldı. Fiberoptik aydınlatmalı operasyon mikroskobu (Olympus, SZ61) altında uyluk kasları arasından girilerek siyatik sinir ve dallarına ulaşıldı. Siyatik sinir

dikkatli bir diseksiyon ile etraftaki konnektif dokudan yeterince izole edildi. Bu aşamadan sonra, siyatik siniri besleyen epinöral damarlara (vasa nervorum) 1 cm uzunluğunda devaskularizasyon uygulandı. Bu işlem esnasında sinirin epinöriumuna zarar verilmemesine büyük özen gösterildi. Epinöral devaskularizasyon uygulanan alan çevresinde bulunan kasa iki dikiş (alt ve üst seviyeye) atılarak işaretlendi. Cerrahi işlem sonrasında, kesi 4.0 dikiş materyali ile dikilerek kapatıldı ve denekler postoperatif bakım odasında standart koşullarda barındırıldı. Denekler üzerinde yapılan cerrahi işlemler sonrasında denekler standart kafeslerine alındıktan sonra deneklerin uyanmalarına yakın bir zamanda deneklere Tramadol HCl (3 gün boyunca 20 mg/kg) verilerek postoperatif analjezileri sağlandı.

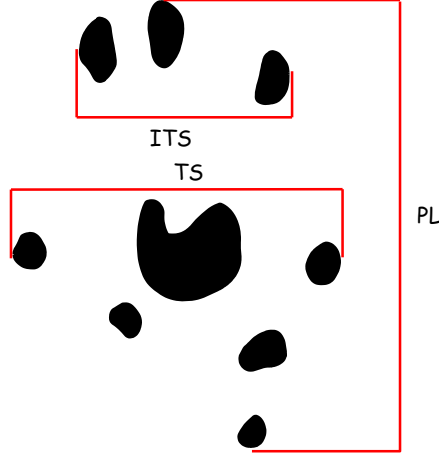
3.4.Eritropoietin Uygulaması

Siyatik hasar oluşturulduktan sonra 5000U/kg dozunda Eritropoietin tedavisi uygulandı. Bu amaçla Eritropoietin Grup 4 deneklerine intraperitoneal olarak enjekte edildi.

3.5.Değerlendirme Testleri

3.5.1.Motor Fonksiyon Testi (Yürüme Patern Analizi)

Çalışmamızda motor fonksiyon, yürüme patern analizi ile değerlendirildi. Bu analiz sonucu siyatik fonksiyon indeksi (SFI) hesaplandı. SFI değerinin hesaplanmasında üç farklı parametre kullanılarak değerlendirmeler yapıldı (Print length-PL: topuk ile üçüncü parmağın uç kısmı arasındaki mesafe, Toe spreading-TS: birinci ve beşinci ayak parmakları arasındaki mesafe, Intermediate toe spreading-ITS: ikinci ve dördüncü parmaklar arasındaki mesafe). Siyatik fonksiyon indeksinin hesaplanması için deneklerin arka ayakları mürekkepli stampa üzerine bastırıldıktan sonra 80 cm uzunluğunda, 7 cm genişliğinde, 10 derecelik eğime sahip bir yürüme bandı üzerinde yürütüldü. Zemine bir fotokopi kâğıdı yerleştirilerek ayak izlerinin kâğıda çıkması sağlandı (**Şekil 3.1**). Elde edilen ayak izleri değerleri Bain ve arkadaşlarının (Bain ve ark., 1989) tarif ettikleri matematik formülasyonuna konularak siyatik fonksiyon indeksi hesaplandı. Yürüme patern analizi için preop, postop 1. gün, postop 1. hafta, postop 2. hafta, postop 3. hafta, postop 4. haftada alınan ayak izleri kullanılarak siyatik fonksiyon indeksi hesaplanmıştır.



Şekil 3.1. Sıçan ayak izleri ve elde edilen ölçümler

3.5.2. Duyusal Fonksiyon Testi (Pinch Test)

Duyusal fonksiyonun iyileşmesi, Pinch test ile analiz edildi. Bu test için denek fazla bir strese maruz bırakılmadan tutularak ayak taban derisi bir penset yardımı ile kısıtırıldı. Bu kısıtırmaya (çimdiğe) karşı oluşturulan cevaba geri çekme refleksi (foot withdrawal) adı verilmektedir. Ayak taban derisinde, deneklerin geri çekme refleksini gösterdiği alanlar tespit edilerek; bu teste verilen cevap not edildi. Fonksiyonel iyileşmeyi değerlendirmek için, geri çekme refleksine cevap vermeyen denekler için Grade 0, hafif derecede cevap veren denekler için Grade 1, orta derecede geri çekme refleksi gösteren denekler için Grade 2 ve tam bir yanıt gösteren denekler için de Grade 3 olmak üzere derecelendirme yapıldı. Geri çekme refleksi ile cevap veren rat sayıları her grup için preop, postop 1. gün, postop 1. hafta, postop 2. hafta, postop 3. hafta, postop 4. haftada kaydedildi.

3.5.3. Ultrastüktürel Değerlendirme

Elektron Mikroskopik İnceleme

Tüm fonksiyonel analizlerin tamamlanmasından sonra denekler sakrifiye edildi. Deneklerin 15 mg/kg Xylazin HCl (Rompun®) ve 100 mg/kg Ketamin'in (Ketalar®) intraperitoneal injeksiyonu ile yeterli anestezisi sağlandıktan sonra, göğüs bölgesi açılarak kalbe ulaşıldı. Transkardiyal perfüzyon işlemi için, kalbin sol ventrikülüne bir kanül yardımıyla girilip sağ atrium'a bir delik açıldı. Transkardiyal perfüzyon için, 250 mililitre hacminde ve 0.1 molar fosfat tamponu (pH: 7.4) ile vasküler yatak yıkanarak temizlendikten sonra aynı yolla tespit solüsyonu verildi. Fiksasyon basamağında her bir

hayvan için 250 mililitre hacminde ve 0.1 M fosfat tamponunda hazırlanmış %4 konsantrasyonundaki paraformaldehit karışımı kullanıldı.

Sakrifiye edilen deneklerden alınan siyatik sinir örnekleri, 0.1 M Sorenson fosfat tamponunda (pH 7.2) hazırlanmış %4'lük glutraldehit solusyonunda +4 °C'de iki saat süreyle fikse edildi. Fiksasyondan sonra, aynı tampon içinde yıkanan örnekler, %2'lik Osmium tetraoksit (OsO₄) solusyonunda 1 saat bekletilerek postfiksasyon yapıldı. Örnekler, Etil alkol serisinden geçirilip dehidratasyonları sağlandıktan sonra Araldit CY212 içine gömülerek bloklandı. Bloklardan alınan 1 mikrometre kalınlığındaki yarı ince kesitler, %1'lik toluidin mavisi ile boyanarak ışık mikroskopta; 40-60 nanometre kalınlığındaki ince kesitler ise elektron mikroskopik analiz için kontrastlanarak Tıp Fakültesi Elektron Mikroskopik Görüntü Analiz Ünitesinde (TEMGA) bulunan TEM (Transmission Elektron Mikroskop, Zeiss LEO906E) mikroskobunda incelendi.

3.5.4. Biyokimyasal Değerlendirme

Lipid Peroksidasyon Seviyelerinin Ölçümü

Bütün deney gruplarından tedavi bitiminde alınmış tam kan örneklerinden, plazma ayrılarak ve sıvı nitrojende hemen dondurularak -80 °C'de analiz edilene kadar saklandı.

Araştırmamızda lipid peroksidasyonunu değerlendirmek için, tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri (TBARS) oluşumuna bakıldı. Tiyobarbitürik asit lipid peroksidasyon son ürünü olan malondialdehit (MDA) ile etkileşime girmektedir. TBARS yöntemi, ölçülen ürünlerin çoğunluğunu MDA teşkil etmesi, çok basit ve hızlı olması nedeniyle tercih edilen bir yöntemdir. TBARS ölçümleri, Wasowicz ve arkadaşlarının yöntemine göre yapıldı (27).

Reaktifler:

1. 29 mM tiobarbitürik asit (Sigma-T5500): 0.418 g TBA, 50 ml distile su ve 50 ml glasial asetik asit (Acetic acid glasial extra pure, Merck-56) içinde çözüldü.
2. 5 M HCl (Hydrochloric acid, Merck-314).
3. n-Bütanol (n-Butanol, Merck-329).

4. Standart solüsyonu: Tetraetoksipropan (1,1,3,3-tetraethoxy-propane, Sigma-T9889). Stok solüsyonundan distile su ile sulandırılarak hazırlandı.

İşlemler: 1 ml distile su içeren 200 µl plazma konulduktan sonra, 1 ml thiobarbitürik asit (TBA, 29 mmol/L) eklendi. Tüp iyice karıştırıldıktan sonra, 1 saat süreyle 95-100 derece arasında kaynatıldı. Numuneler soğutulduktan sonra 25 µl hidroklorik asit (5 mol/L) ve 3.5 mililitre n-butanol eklenerek vortekslendi ve bu işlemi takiben 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek, butanol fazı ayrıldı. Butanol ekstraktının floresansı dalga boyuna göre (eksitasyon: 525 nm, emisyon: 547 nm) spektrofourometrede (Perkin Elmer Luminescence spectrometer, LS45'de) okundu.

TBARS Miktarının Hesaplanması: 1,1,3,3,-tetra-metoksi-propan standardı numune gibi çalışıldı ve standard grafiği oluşturuldu. Doku ve plazma TBARS miktarı bu grafik yardımıyla hesaplandıktan sonra nmol/g protein olarak rapor edildi.

Antioksidanların Tayini

Bütün deney gruplardan tedavi bitiminde alınan tam kan örneklerinden plazma ayrıldı ve sıvı nitrojende hemen dondurularak -80°C'da analiz edilene kadar saklandı. Bu örneklerde aşağıda belirtilen şekilde antioksidan enzimlerin ölçümü yapıldı.

Katalaz enzim aktivite tayini

Katalaz enziminin hem katalitik, hem de peroksidatik aktivitesi mevcuttur. Katalitik aktivite H_2O_2 'i moleküler oksijene ve suya çevirir. Peroksidatik aktivite ise düşük moleküler ağırlıklı alkolleri okside ederek su oluşturur. Hidrojen peroksiti parçalayan enzim yalnızca katalaz değildir, ancak alifatik alkolleri substrat olarak kullanan tek enzim katalazdır. Bu sebeple, katalaz enzim düzeyleri tayin edilirken enzimin peroksidatik aktivitesine bakıldı. Ortama alkol olarak metanol konuldu ve oluşan formaldehid Purpald denilen bir kromojen ile reaksiyona sokularak renk oluşumu tayin edildi. Katalaz enzim aktivitesinin hesaplanması oluşturulan formaldehid standard eğrisiyle yapılır. Bir ünite katalaz aktivitesi, 1 dakikada oluşan µmol formaldehid olarak hesap edilir.

Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivite Tayini

Glutasyon peroksidaz enzimi, H₂O₂ dahil tüm hidroperoksitlerin redüksiyonunu sağlar. Bu işlevi sırasında da redükte glutasyonu kullanır. Oluşan okside glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi ile tekrar indirgenir. Bu indirgenme sırasında NADPH kullanılır ve NADP⁺ oluşur. NADPH'nın reaksiyon ortamından kaybı 340 nm'de absorbans azalmasına neden olur ve bu azalmanın miktarından GPx enzim aktivitesi tayin edilir. Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesinin hesaplanması, NADPH'nın 340 nm'deki extinction coefficienti (0.00622 µM⁻¹) değerinden yapılır. Bir ünite GPx aktivitesi, 1 dakikada kullanılan µmol NADPH olarak hesap edilir.

Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini

Süperoksit Dismutaz enzim aktivite tayini kompetatif inhibisyon yöntemine dayanmaktadır. Bu yöntemde, reaksiyon ortamında sürekli olarak süperoksit anyonu oluşturan ksantin oksidaz-hipoksantin sistemi mevcuttur. Bu sistemin açığa çıkardığı süperoksit anyonları reaksiyon ortamına ilave edilen kromojeni indirger ve 450 nm'de ölçülebilen renk oluşumuna neden olur. Hasta örneklerinde ne kadar SOD enzimi varsa, renk oluşumu o kadar az oldu. Örneklerdeki SOD enzim aktivitesinin hesaplanması, oluşturulan SOD standard eğrisiyle yapılır. Bir ünite SOD aktivitesi, maksimum renk oluşumunu %50 inhibe eden SOD miktarı olarak kabul edilir.

3.5.5. Elektrofizyolojik analiz

Elektrofizyolojik analiz postoperatif 4. haftanın sonunda deneklerin siyatik sinirleri iğne elektrot kullanılarak uyarılarak ve gastrocnemius ve soleus kaslarından kayıt alındı. Elektrofizyolojik analizde siyatik sinirde ileti latansı ve peak-to-peak amplitüd ölçümleri yapıldı.

3.6. Veri Analizi

Yürüme paterninden, biyokimyasal ve elektrofizyolojik kayıtlardan elde edilen veriler her bir grup için ortalama ± standart sapma olarak hesaplandıktan tek yönlü varyans analizi (ANOVA testi) ile değerlendirildi. Pinch test verileri ise Ki kare ile analiz edildi. Tüm istatistiksel analizler SPSS programı kullanılarak ve anlamlılık düzeyi tüm testler için 0.05 olarak belirlendi.

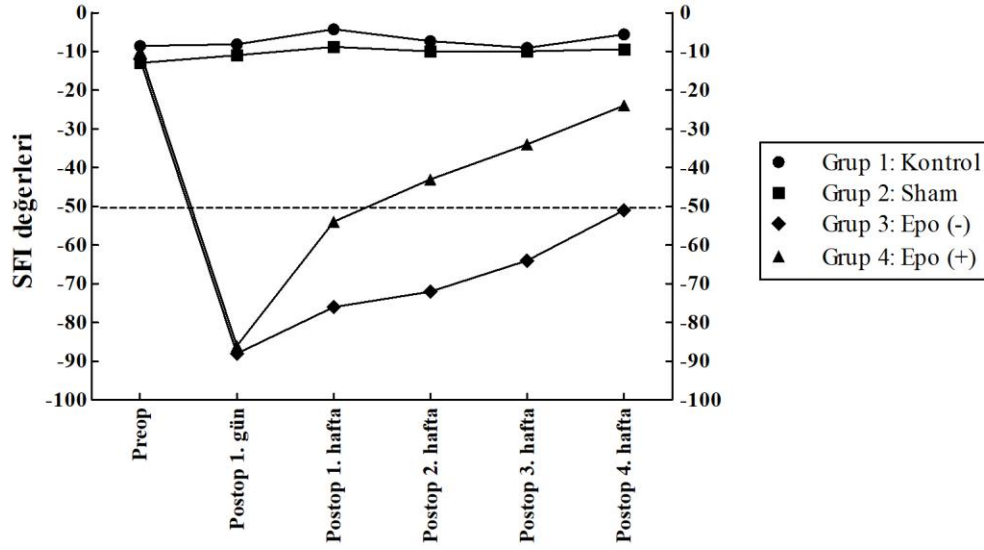
4. BULGULAR

Grup 4: Epo (+) ve Grup 3: Epo (-) gruplarından birer denek 1. postoperatif haftada ölüm sebebiyle çalışmadan çıkarılmıştır. Grup 3: Epo (-) grubuna ait bir denek ise kontraktür oluşumu nedeniyle çalışmadan çıkarılmıştır. Geriye kalan Grup 4: Epo (+) ve Grup 3: Epo (-) deneklerde ise uygulanan cerrahi işlemler sonrasında postoperatif süreçte herhangi bir ototomi (otofaji) belirtisi, kilo kaybı, deri ve kıllarda değişiklik, kesi bölgesinin enfeksiyonu veya davranışsal değişiklikler gibi durumlar gözlenmemiştir. Deney süresince Grup 3: Epo (-) deneklerin 302 ± 13 gr, Grup 4: Epo (+) deneklerin ise 288 ± 9 gr ağırlığa sahip oldukları tespit edildi.

4.1. SFI Değerleri

Cerrahi uygulanan deney gruplarında [Sham, Grup 4: Epo (+) ve Grup 3: Epo (-) gruplarından topuk ile üçüncü parmağın uç kısmı arasındaki mesafede (PL, print length] artma, birinci ve beşinci ayak parmakları arasındaki mesafede (TS, toe spreading) ve ikinci ve dördüncü parmaklar arasındaki mesafede (ITS, intermediate toe spreading) ise azalma tespit edildi. Bu durum uygulanan cerrahinin siyatik sinir üzerinde hipoksik bir etki göstererek vasküler hasarın oluştuğu olarak yorumlandı.

Cerrahi operasyon öncesi deney gruplarında SFI (siyatik fonksiyon indeksi) değerleri kontrol gruplarına kıyasla istatistiksel düzeyde bir farklılık göstermediği tespit edildi ($p>0.05$). Postoperatif 1. gün SFI değerleri, kontrol, sham, Grup 3: Epo (-) ve Grup 4: Epo (+) gruplarında sırasıyla -7.2 ± 1.9 , -11.1 ± 1.5 , -86.4 ± 7.2 , -88.3 ± 3.7 olarak tespit edildi (Şekil 4.1). SFI degerindeki $-50'$ lik düzeye sadece Grup 4: Epo (+) grubuna ait deneklerde 2. postoperatif haftada ulaşıldığı gözlemlendi. 3. ve 4. postoperatif haftalarda Grup 4: Epo (+) grup ile Sham grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edildi ($p>0.05$). Bununla birlikte aynı postoperatif günlerde kontrol grubu ile Grup 3: Epo (-) grup arasında istatistiksel düzeyde anlamlı kabul edilen bir fark tespit edildi ($p<0.05$) (Şekil 4.1).



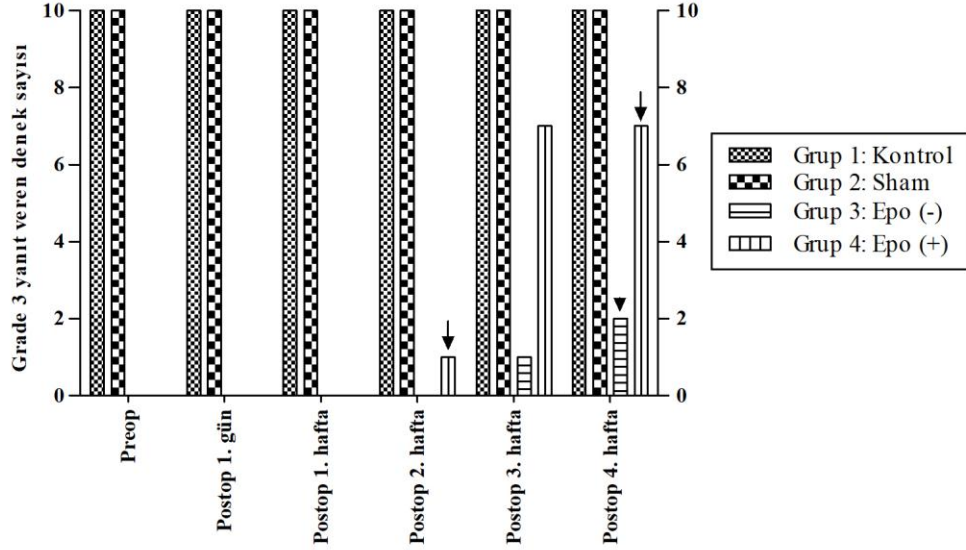
Şekil 4.1 Operasyon öncesi ve sonrası elde edilen SFI değerleri.

4.2. Pinch Test Bulguları

Kontrol ve sham grubunda pinch test cevabı preoperatif ve postoperatif haftalarda tam geri çekme refleksi (Grade 3) olarak tespit edildi. Grup 4: Epo (+) gruptaki tam geri çekme refleksinin (Grade 3) görülmeye başlanması 2. postoperatif haftada gözlenmiştir (Şekil 4.2). Bu haftada tam geri çekme refleksi (Grade 3) görülmesi sadece bir denekte tespit edilmiştir. Bu grubun geri kalan deneklerinde ise orta derecede geri çekme refleksi (Grade 2) gözlenmiştir. Buna karşın, aynı postoperatif haftada Grup 3: Epo (-) gruptaki deneklerden 6 denekte hafif derecede geri çekme refleksi (Grade 1), 4 denekte ise orta derecede geri çekme refleksi (Grade 2) gözlenmiştir. 2. postoperatif haftada Grup 4: Epo (+) ve Grup 3: Epo (-) deney grupları arasında istatistiksel düzeyde anlamlı kabul edilen bir farklılık tespit edildi ($p < 0.05$).

4. postoperatif haftada ise Grup 4: Epo (+) grubundaki deneklerden 7 denekte tam bir geri çekme yanıtı (Grade 3) alınmıştır. Buna karşın, aynı postoperatif haftada Grup 3: Epo (-) grupta bulunan deneklerden sadece 2 denekten tam bir geri çekme yanıtı (Grade 3) alınmıştır. Grup 4: Epo (+) gruptaki tam geri çekme refleksinin (Grade 3) görülmeye başlanması 2. postoperatif haftada sadece bir denekte; Grup 3: Epo (-) gruptaki tam geri çekme refleksinin (Grade 3) görülmeye başlanmasının ise 3. postoperatif haftada sadece bir denekte olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2). 4. postoperatif haftada Grup 4: Epo (+)

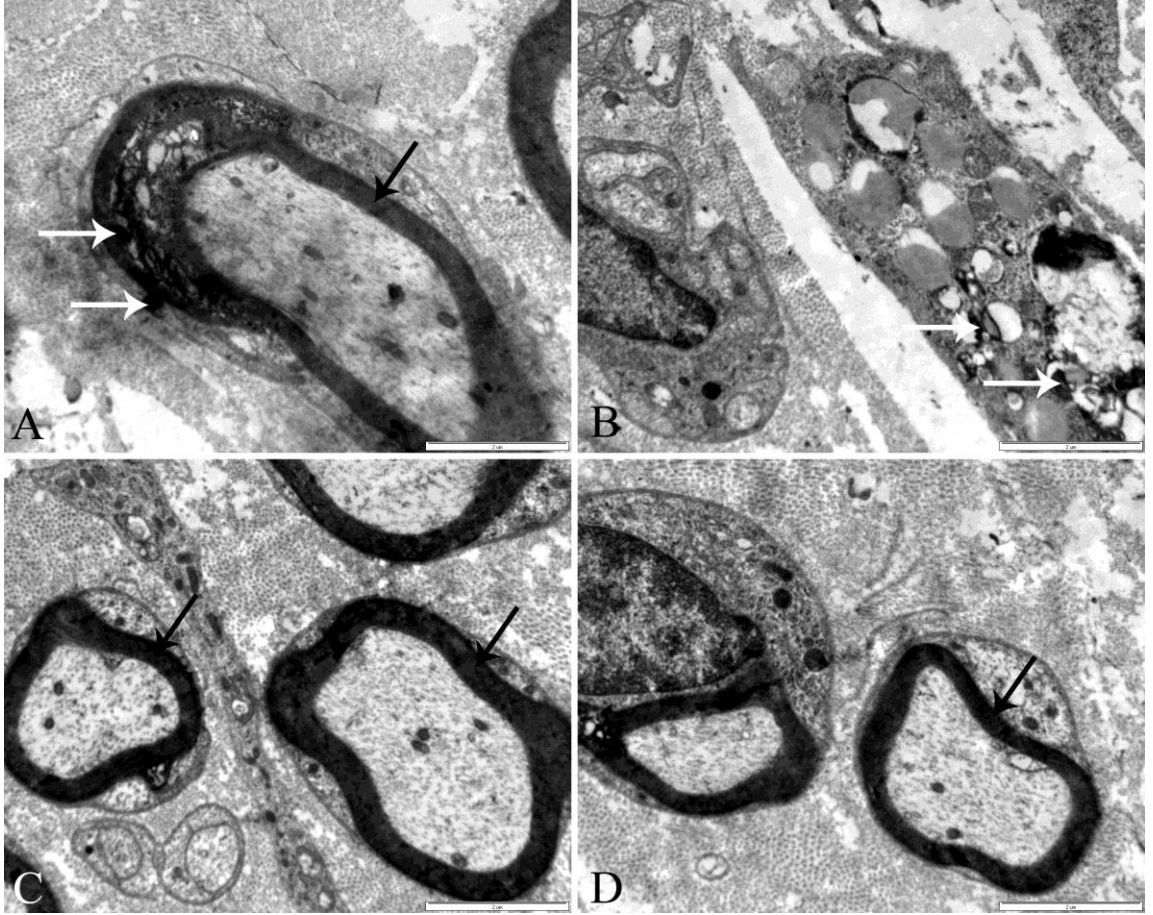
ve Grup 3: Epo (-) deney gruplarının tam geri çekme refleksine (Grade 3) sahip denek sayıları karşılaştırıldığında istatistiksel düzeyde anlamlı kabul edilen farklılık tespit edildi ($p<0.05$).



Şekil 4.2. Tam geri çekme refleksi (Grade 3) gösteren denek sayıları.

4.3. Ultrastrüktürel Değerlendirme

Kontrol ve sham gruplarının ışık mikroskopik değerlendirmesinde myelinli ve myelinsiz sinir lifleri içeren normal bir siyatik sinir yapısına işaret eden myelin deformasyonunun görülmemiş ve hasarlanmış bir sinir lifi yapısına rastlanılmamıştır. Myelinli ve myelinsiz sinir liflerinin düzgün bir şekilde görüldüğü tespit edilmiştir. Buna karşın, Grup 3: Epo (-) remyelinize sinir liflerinin oldukça ince olduğu, Grup 4 : Epo (+) deneklerine ait siyatik sinir örneklerinde ise remyelize sinir liflerinin kalın myelin kılıflara sahip olduğu gözlemlendi. Grup 3: Epo (-) grupta myelin rezidüsü içeren pekçok fagositik aktiviteye sahip hücreler (makrofaj ve schwann hücreleri) gözlenmiştir. Bu grubun, Grup 4: Epo (+) gruba kıyasla daha fazla oranda fagositik hücre infiltrasyonu gösterdiği tespit edilmiştir. Grup 4: Epo (+) grubunda remyelizasyona başlamış ince kalınlıkta myelin kılıflara sahip çok sayıda myelinli sinir lifi gözlenmiştir. Bu myelin kılıflarının Grup 3: Epo (-) gruba kıyasla daha kalın oldukları gözlemlendi (Şekil 4.3).

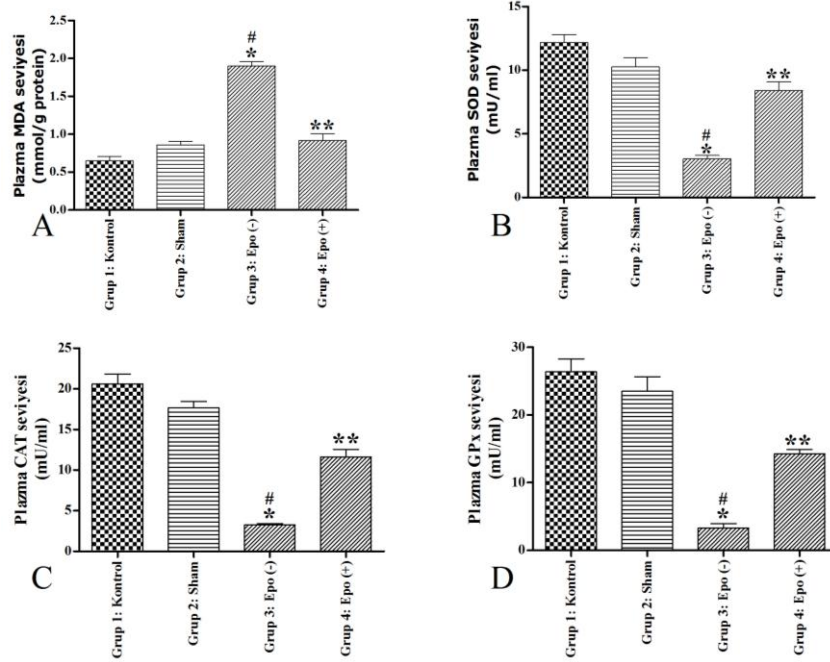


Şekil 4.3. Epinöral devaskularizasyon uygulanan gruplardaki siyatik sinirlerin elektron mikroskopik görüntüleri. **A:** Grup 3: Epo (-) grupta subperinöral alandaki myelin debris. **B:** A panelinde gösterilen alanın büyütülmüş görünümü. **C:** Grup 3: Epo (-) grupta siyatik sinirin subperinöral alanındaki myelin debris. **D:** C panelinde gösterilen alanın büyütülmüş görünümü. Beyaz ok başı myelin rezidüellerini, siyah ok başı ise remyelinize olan sinir liflerini göstermektedir.

4.4. Lipid Peroksidasyon Ve Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Analiz Sonuçları

MDA seviyeleri analiz edildiğinde Grup 1: Kontrol grubu, Grup 2: Sham grubu, Grup 3: Epo (-) ve Grup 4: Epo (+) gruplarında sırasıyla 0.64 ± 0.13 , 0.86 ± 0.11 , 1.9 ± 0.12 , 0.91 ± 0.17 mmol/gr protein MDA seviyesine sahip oldukları tespit edildi. Gruplar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde ise Grup 4: Epo (+) grubunun Grup 2: Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmeyen seviyede ($p > 0.05$) bir artışa sahip olmadığı tespit edildi. Eritropoietin tedavisi uygulanan grup (Grup 4) ile Eritropoietin tedavisi uygulanmayan grup (Grup 3) karşılaştırıldığında ise Eritropoietin tedavisinin MDA seviyelerinde istatistiksel düzeyde anlamlı kabul edilen ($p < 0.05$) bir azalmaya neden olduğu belirlendi.

SOD, Katalaz ve GPx verileri deney grupları bazında değerlendirildiğinde bu antioksidan enzim seviyelerinin Grup 2: Sham grubu ile karşılaştırıldığında Eritropoietin tedavisi uygulanmayan grupta (Grup 3) istatistiksel düzeyde anlamlı kabul edilen ($p<0.05$) bir azalmaya sahip oldukları tespit edildi. Eritropoietin tedavisi uygulanan grup (Grup 4) ile Eritropoietin tedavisi uygulanmayan grup (Grup 3) karşılaştırıldığında ise tüm antioksidan enzim seviyelerinde düzeyde anlamlı kabul edilen ($p<0.05$) bir artışa sahip oldukları tespit edildi (Şekil 4.4).

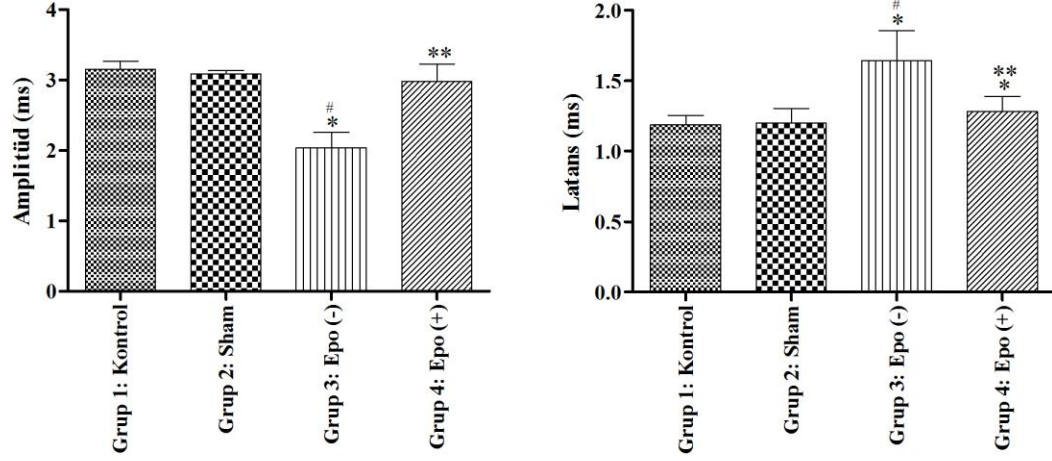


Şekil 4.4: Deney gruplarına ait MDA seviyesi, SOD, CAT, GPx enzim aktiviteleri.
 *: Grup 1: kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel anlamlılığı göstermektedir;
 #: Grup 2: sham grubu ile kıyaslandığında istatistiksel anlamlılığı göstermektedir;
 **: Grup 3: Epo (-) grubu ile kıyaslandığında istatistiksel anlamlılığı göstermektedir

4.5. Elektrofizyolojik Analiz Sonuçları

Şekil 4.5’de görüldüğü üzere Grup 1: Kontrol ve Grup 2: Sham gruplarını yakın latens ve amplitüd değerlerine sahip olduğu ve bu iki grup arasında istatistiksel düzeyde anlamlı kabul edilen bir anlamlılık olmadığı ($p>0.05$) tespit edildi. Eritropoietin tedavisi uygulanan grup (Grup 4) ile Grup 2: Sham grubu karşılaştırıldığında amplitüde ve latens açısından istatistiksel bir anlamlılık tespit edilmemiştir ($p<0.05$). Eritropoietin tedavisi uygulanmayan grup (Grup 3) ile Eritropoietin tedavisi uygulanan grup (Grup 4) arasında

amplitüde istatistiksel düzeyde anlamlı kabul edilen ($p<0.05$) bir azalma, latenste ise istatistiksel düzeyde anlamlı kabul edilen ($p<0.05$) bir artış tespit edildi (Şekil 4.5).



Şekil 4.5: Deney gruplarına ait amplitüd ve latens değerleri. #: Eritropoietin tedavisi uygulanmayan grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Periferik sinir iyileşmesini tam olarak anlamak için hasarın tam olarak anlaşılması; yani hasar sonrası dönemde sinir ve çevre dokularda oluşan değişikliklerin morfolojik ve moleküler düzeyde bilinmesi gereklidir. Bu kapsamda periferik sinir hasarını deneysel olarak simüle etmek amacıyla çeşitli deney hayvanlarında farklı sinir hasarı modelleri oluşturulmuştur. Bu deney modellerinin birbirlerinden farklılığı hasarın oluşturulma yeri, şiddeti, biçimi ve süresidir. Periferik sinir hasarı oluşturmak için ezi (Seltzer ve ark., 1990; Decosterd ve ark., 2002), kesi (Wall, 1979), termal hasar (DeLeo ve ark., 1994), nörotoksik maddeler (DeLeo ve Yeziarski, 2001; Shimoyama ve ark., 2002) ve iskemi (Sarikcioglu ve ark., 2008) gibi modeller kullanılmaktadır. Bu modeller içerisinde en çok kullanılanları periferik sinirin mekanik hasarı anlamına gelen sinirin tam kesisi ve ezisidir. Buna karşın sinirin vasküler hasarı az çalışmaya konu olmuştur. Bu nedenle sinir hasar modeli olarak çalışmamızda vasküler kaynaklı sinir hasar modeli kullanılmıştır.

Periferik sinir yaralanmaları sık görülen yaralanmalar olmaları yanısıra ekonomik ve sosyal aktivite kaybının sebeplerinden biri olmaları yönünden önemli yaralanmalardandır (Dagum, 1998). Cerrahi onarım metotlarındaki ilerlemelere rağmen duysal ve motor fonksiyonların geri dönüşü zayıf kalmaktadır (Glickman ve Mackinnon, 1990; Dagum, 1998). Periferik sinir hasarlarının neden olduğu bu yetersizlik yaralanmanın tipi, süresi, hasar yeri, onarım metodu (Glickman ve Mackinnon, 1990; Gul ve ark., 2005), yaralanmanın medulla spinalis'ten uzaklığı (Crews ve Wigston, 1990) vb. faktörlerle yakından ilişkilidir. Zayıf fonksiyonel iyileşme, probleminin rejenere sinir ve onun hedef kasında görülen anatomik ve fizyolojik değişikliklerle direkt olarak bağlı olabileceği vurgulanmıştır.

Siniri besleyen damarların kesilerek mobilize edilmesi ve epinörium'un kaldırılması ile birlikte epinöral devaskularizasyon uygulanmasının sinir lifi hasarına yol açmadığı buna karşın devaskularizasyonun değişik düzeyde dejenerasyona yol açtığını rapor etmiştir (Durward, 1948). Bölgesel damarların kesilmesinin subperinöral değişikliklere neden olduğu da bildirilmiştir (Roberts, 1948). Myers ve arkadaşları (Myers ve ark., 1991),

çalışmalarında epinöral damarlara devaskularizasyon uygulaması sonrasında oluşan subperinöral dejenerasyonun nedeninin araştırılması amacıyla epinörium'un üzerine lokal anestezi veya epinefrin enjeksiyonunun da subperinöral sinir kan akımında bir azalmaya neden olduğu fakat bu etkinin bu solüsyonların direkt sinir üzerine toksik etkilerinden kaynaklanabileceği ve fassiküller arasında uzanan transperinöral damarların etkilenmesi sonucu bunun oluşabileceği bildirilmiştir (Myers ve ark., 1991).

Periferik sinir cerrahisinde pek çok tekniğin tanımlanmış olmasına ve cerrahi ekipmanlardaki gelişmelere rağmen rejenerasyon başarısı suboptimal düzeydedir. Suboptimal düzeydeki rejenerasyonun arttırılması amacıyla çeşitli ajanların (Tacrolimus, Sirolimus, Deksametazon, Glatiramer asetat, Nimodipin, Lityum, Gabapentin, Valproik asit, lipoik asit, Riluzol, Eritropoietin vb.) kullanımı literatürde bildirilmiştir (Fernandez ve ark., 2018). Bu ajanlar arasında Eritropoietin'in kullanımı çok az sayıda çalışmada bildirilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda siyatik sinirin vasküler hasarı modelinde Eritropoietin'in etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Eritropoietin kullanımının a. cerebri media oklüzyonu sonrası oluşan infarkt alanı üzerinde etkisinin araştırıldığı bir çalışmada Eritropoietin'in hippocampus'un CA1 alanında ve thalamus'un nucleus ventralis posterior'unda iskemiye bağlı nöron ölümünü önlediği rapor edilmiştir (Sadamoto ve ark., 1998). Eksojen verilen insan rekombinant Eritropoietin'in nöroprotektif etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada ise çözünmüş (solubl) EpoR verilmiş ve endojen Eritropoietin'in nötralizasyonu sağlanmıştır. Sonuç olarak Eritropoietin'in nötralizasyonu ile beraber sinir hasarının çok daha kötüye gittiği görülmüştür (Sakanaka ve ark., 1998). Hasarlı dokuda Eritropoietin kök hücreleri o bölgeye hareket eder ve orada nörit oluşumu ve sinaptogenezi arttırarak hasar onarımına yardımcı olur (Wang ve ark., 2004). Bazı nörotropik etkilerin de BDNF (beyin kökenli nörotrofik faktör) gibi diğer nörotropik moleküllerin Eritropoietin tarafından stimülasyonu sayesinde sekonder şekilde olduğu gözükmektedir (Viviani ve ark., 2005).

Eritropoietin'in nöronlar üzerine koruyucu etkisinin vazospazmı geri döndürerek, glutamat ve reaktif oksijen molekülleri dokuya hasar verebilen moleküllerin üretimini ve apoptozu azaltarak, anjiyogenezi stimüle ederek, inflamasyonu düzenleyip ve kök hücre iyileşmesini sağlayarak gösterdiği varsayılmaktadır (Genc ve ark., 2004). Asıl

fonksiyonu eritrojenesisin stimölasyonu olarak bilinen Eritropoietin'in antiapoptotik, antiinflamatuvar, antioksidan, immünomodölütör, nörotropik, nöroprotektif endotelyal hücre proliferasyon ve diferansiyasyonunu modifiye edici etkileri vardır (Berkingali ve ark., 2008; Brines ve Cerami, 2008).

Eritropoietin ile neovaskülarizasyonun (yeni damar oluşumunun) uyarılması sonucu anjiogenik bir koruma mekanizması oluşturduğu ve eritropoietin mitoz bölünmeyi uyararak endotelyal ve mezengial hücrelerin aktive olmasını ve farklılaşmasını sağladığı rapor edilmiştir (Genc ve ark., 2004). Eritropoietin'in bu oluşan yeni damarlar ile hedef hücrenin oksijen ihtiyacının karşılanmasına katkı sağladığı da bildirilmiştir (Ribatti ve ark., 2003). Böylece iskemik alanda kan akımı ve doku oksijenizasyonunu arttıran Eritropoietin endotel üzerindeki reseptörlerine (EpoR) bağlanarak serebral damarlar üzerine etmekte olduğu ve böylece serebrovasküler kan akımı kontrolüne katkıda bulunduğu bildirilmiştir. (Kertesz ve ark., 2004). Eritropoietin kas dokusundaki endotel hücreleri üzerine VEGF'e denk bir anjiogenik potansiyele sahip olduğu ve fare beyin endotel hücrelerinde kapiller damar miktarında artış gösterdiği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2004). Eritropoietin'in uzun zaman diliminde anjiogenezisi indüklediği de rapor edilmiştir (Brines ve Cerami, 2008) Ayrıca Eritropoietin'in antioksidan enzim üretimini arttırmak gibi hücreler üzerine etkisi vardır. Üstelik serbest radikalleri metabolize eder, glutamatin sitotoksik etkisini antagonize eder, serebral kan akımını düzenler, nörotransmitter salınımında da görev almaktadır. Eritropoietin, doğrudan antioksidan etki gösterdiği, nöronal kök hücrelerin migrasyonunu nöronal progenitörlere fenotipik farklılaşmasını regüle ettiği, neoanjiogenezisi, nöronal anti-apoptotik faktörleri stimüle ettiği ve inflamasyon ile nitrik oksit tarafından oluşturulan hasarı azalttığı rapor edilmiştir (Caye-Thomassen ve ark., 2005). Endojen Eritropoietin'e ek olarak Eritropoietin verilmesinin beyinde deneysel olarak oluşturulan iskemik alanları, endotelyal bir koruma sağlamak ve nöronal hücrelerin apoptotik ölümünü engellemek kaydıyla azalttığı bildirilmiştir (Genc ve ark., 2004). Eritropoietin'in nöroprotektif etkilerinin temelini antioksidatif etki nitrik oksit aracılı salınan serbest radikallerin supresyonu veya bunların toksik etkilerinin suprese edilmesinin oluşturduğu bildirilmiştir (Genc ve ark., 2004). Eritropoietin'in nöronlarda süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin faaliyetlerini arttırdığı

düşünülmektedir (Genc ve ark., 2004). Çalışmamızda da santral sinir sistemi üzerinde çalışmamıza rağmen periferik sinir sistemi içerisinde değerlendirilen siyatik sinirde de literatür bilgisine paralel olarak bu Eritropoietin'in antioksidan enzimlerin aktivitelerinde artışa; malondialdehit seviyesinde ise bir azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4). Schwann hücrelerinde bulunan Eritropoietin reseptörlerinin sayısının periferik sinir hasarı sonrasında artması sinir koruyucu aktivitenin artış gösterdiği ve sinyal mekanizmasının BDNF ve VEGF gibi büyüme faktörlerinin sitoprotektif etkileri yakın ilişkide olduğu tespit edilmiştir (Genc ve ark., 2004). Eritropoietin, membran depolarizasyonu, Ca⁺⁺ akışı, ve nörotransmitter sentezi gibi sinir hücrelerinin işlevlerini düzenlediği bildirilmiştir. Hippocampus kesitlerinde iskemi anında ve sonrasında Eritropoietin'in sinaptik transmisyonu arttırdığı belirlenmiştir. Eritropoietin'in nörotransmitterlerin stimülasyon veya inhibisyonunau sağlayan sinaptik plastisitede rol aldığı düşünülmüştür (Genc ve ark., 2004; Kumral ve ark., 2005).

Sinirin mekanik hasarı sonrası deneklere Eritropoietin verilmesinin sinir aksonlarının yenilenmesinde belirgin olarak etkili olduğu bildirilmiştir (Campana ve Myers, 2003). Yapılan *in vitro* kültürlerde Eritropoietin'in nöronal büyüme ve kesik sinir uçları üzerine nörotrofik etkisi olduğu tespit edilmiştir (Brines ve Cerami, 2005). Benzer şekilde çalışmamızda da bu nörotrofik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

Rekombinant üretilmiş insan Eritropoietin'i yüklenmiş (doldurulmuş) ve kontrollü salınım yapan tüp ile onarım yapılmış sinir kesi modelinde otograf ile tamir edilen sinir örneklerine benzerlik gösterdiği ve bu kapsamda altın standart olarak kullanılabilceği rapor edilmiştir (Salehi ve ark., 2018). Eritropoietinin ve sinir büyüme faktörünün sinerjik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise yavaş salınım amacıyla Eritropoietin ve sinir büyüme faktörü, poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) ile enkapsüle edilmiştir. Bu iki ajanın birlikte kullanımının sinir rejenerasyonu üzerinde aditif etki göstererek sinir rejenerasyonunu olumlu yönde etkilediği rapor edilmiştir.

Modrak ve ark. (Modrak ve ark., 2019) 4-aminopiridin ve eritropoietin uyguladıkları farelerde siyatik sinir örneklerinde 5 mikrondan büyük çaplı sinir liflerinde artış ve sinir ileti hızında düşüş tespit etmişlerdir. Huang ve ark. (Huang ve ark., 2018) ise median sinirin kronik sıkıştırılması ile oluşturulan nöropati modelinde Eritropoietin'in

nöroprotektif etkisini araştırmışlardır. Huang ve ark. sıçanlarda median sinirin kronik sıkıştırılmasından 15 dakika önce 1000, 3000 ve 5000 ünite/kg dozunda Eritropoietinin doku içerisine enjekte etmişlerdir. Sonuç olarak siyatik sinirin demyelinizasyonu, nöropatik ağrı davranışında iyileşme ve Schwann hücrelerinin microglial MAPKs aktivasyonunun eritropoietin reseptörü aracılığıyla gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Eritropoietinin topikal ve sistemik uygulamasının siyatik sinir ezi ve kesi modelinde nasıl etkili olduğunun araştırıldığı bir çalışmada Eritropoietinin topikal ve sistemik uygulandığı sıçanlarda daha az inflamatuvar hücrelerin ve skar dokusu oluşumunun gözlendiği, interlökin-1beta, interlökin-6 seviyesinin düşük; buna karşın interlökin-10 seviyesinin yüksek seviyede olduğu rapor edilmiştir (Sarica ve Altun, 2018). Çalışmamızda da Eritropoietin sistemik yolla uygulanmıştır. Bu uygulama yolunun zaten endojen kaynaklı bir Eritropoietinin varlığına ek olarak bir lokal doku hipoksisi yaratılarak Eritropoietin etkisi superimpoze edilebileceği hipotezi üzerinden olumlu etki göstereceği varsayılmıştır. Eritropoietin alan gruba ait deneklerin (Grup 4) Eritropoietin almayan gruba ait deneklere (Grup 3) göre yürüme patern analizinde -50 SFI değerine erken zamanda ulaşılması, buna ek olarak pinch teste Grade 3 cevap veren denek sayılarının daha fazla olması, elektrofizyolojik analizde amplitüd değerinin yüksek, latens değerinin ise daha yüksek olması, antioksidan enzim düzeylerinin daha yüksek olması gibi Eritropoietinin yapısal ve fonksiyonel olarak yararlı etki yaptığını göstermiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Eritropoietin'in bir periferik sinir olan siyatik sinirin vasküler kaynaklı hasarı sonrası iyileşme sürecinde yararlı etki gösterdiği fonksiyonel ve ultrastrüktürel analiz ile tespit edilmiş olup bu konuda daha detaylı çalışmalar yapılması gerektiği kanaatindeyiz. Ayrıca hangi etki mekanizmaları üzerinden bu etkilerini gösterdiği tespit edilerek yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Adams, W. E. The blood supply of nerves: I. Historical review. *J Anat.* 1942; 76 (Pt 4): 323-341.
- Akkin, S. M. (2003). Periferik sinir sistemine giriş. In G. F. Gökmen (Ed.), *Sistematik anatomi* (pp. 783-784). İzmir: Güven Kitabevi.
- Arcasoy, M. O. The non-haematopoietic biological effects of erythropoietin. *Br J Haematol.* 2008; 141 (1): 14-31.
- Bain, J. R., Mackinnon, S. E., & Hunter, D. A. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg.* 1989; 83 (1): 129-138.
- Bell, M. A., & Weddell, A. G. A descriptive study of the blood vessels of the sciatic nerve in the rat, man and other mammals. *Brain.* 1984a; 107 (Pt 3): 871-898.
- Bell, M. A., & Weddell, A. G. A morphometric study of intrafascicular vessels of mammalian sciatic nerve. *Muscle Nerve.* 1984b; 7 (7): 524-534.
- Berkingali, N., Warnecke, A., Gomes, P., Paasche, G., Tack, J., Lenarz, T. Neurite outgrowth on cultured spiral ganglion neurons induced by erythropoietin. *Hear Res.* 2008; 243 (1-2): 121-126.
- Berry, M. M., Standring, S. M., & Bannister, L. H. (1995). Nervous system. In P. L. Williams, L. H. Bannister, M. M. Berry, P. Collins, M. Dyson, J. E. Dussek, & M. W. J. Ferguson (Eds.), *Gray's anatomy* (Thirty-eight ed., pp. 945-948). New York: Churchill Livingstone.
- Blunt, J. M. Functional and clinical implications of the vascular anatomy of peripheral nerves. *Postgrad Med J.* 1957; 33: 68.
- Brines, M., & Cerami, A. Emerging biological roles for erythropoietin in the nervous system. *Nat Rev Neurosci.* 2005; 6 (6): 484-494.
- Brines, M., & Cerami, A. Erythropoietin-mediated tissue protection: Reducing collateral damage from the primary injury response. *J Intern Med.* 2008; 264 (5): 405-432.
- Brushart, T. M., Gerber, J., Kessens, P., Chen, Y. G., & Royall, R. M. Contributions of pathway and neuron to preferential motor reinnervation. *J Neurosci.* 1998; 18 (21): 8674-8681.
- Burkel, W. E. The histological fine structure of perineurium. *Anat Rec.* 1967; 158 (2): 177-189.

- Campana, W. M., & Myers, R. R. Exogenous erythropoietin protects against dorsal root ganglion apoptosis and pain following peripheral nerve injury. *Eur J Neurosci.* 2003; 18 (6): 1497-1506.
- Caye-Thomasen, P., Wagner, N., Lidegaard Frederiksen, B., Asal, K., & Thomsen, J. Erythropoietin and erythropoietin receptor expression in the guinea pig inner ear. *Hear Res.* 2005; 203 (1-2): 21-27.
- Cecchini, T., Cuppini, R., Ciaroni, S., De Matteis, R., & Del Grande, P. Increased number of sciatic sensory neurons in vitamin-e-deficient rats. *Somatosens Mot Res.* 1994; 11 (3): 269-278.
- Crews, L. L., & Wigston, D. J. The dependence of motoneurons on their target muscle during postnatal development of the mouse. *J Neurosci.* 1990; 10 (5): 1643-1653.
- Cuppini, R., Cecchini, T., Ciaroni, S., Ambrogini, P., & Del Grande, P. Nodal and terminal sprouting by regenerating nerve in vitamin e-deficient rats. *J Neurol Sci.* 1993; 117 (1-2): 61-67.
- Dagum, A. B. Peripheral nerve regeneration, repair, and grafting. *J Hand Ther.* 1998; 11 (2): 111-117.
- Decosterd, I., Allchorne, A., & Woolf, C. J. Progressive tactile hypersensitivity after a peripheral nerve crush: Non-noxious mechanical stimulus-induced neuropathic pain. *Pain.* 2002; 100 (1-2): 155-162.
- DeLeo, J. A., Coombs, D. W., Willenbring, S., Colburn, R. W., Fromm, C., Wagner, R. Characterization of a neuropathic pain model: Sciatic cryoneurolysis in the rat. *Pain.* 1994; 56 (1): 9-16.
- DeLeo, J. A., & Yeziarski, R. P. The role of neuroinflammation and neuroimmune activation in persistent pain. *Pain.* 2001; 90 (1-2): 1-6.
- Dellon, A. L., & Mackinnon, S. E. Selection of the appropriate parameter to measure neural regeneration. *Ann Plast Surg.* 1989; 23 (3): 197-202.
- Durward, A. The blood supply of nerves. *Postgrad Med J.* 1948; 24: 11-14.
- Farrell, F., & Lee, A. The erythropoietin receptor and its expression in tumor cells and other tissues. *Oncologist.* 2004; 9 Suppl 5: 18-30.
- Fernandez, L., Komatsu, D. E., Gurevich, M., & Hurst, L. C. Emerging strategies on adjuvant therapies for nerve recovery. *J Hand Surg Am.* 2018; 43 (4): 368-373.
- Fisher, J. W. Erythropoietin: Physiology and pharmacology update. *Exp Biol Med* (Maywood). 2003; 228 (1): 1-14.

- Genc, S., Koroglu, T. F., & Genc, K. Erythropoietin and the nervous system. *Brain Res.* 2004; 1000 (1-2): 19-31.
- Ghezzi, P., & Brines, M. Erythropoietin as an antiapoptotic, tissue-protective cytokine. *Cell Death Differ.* 2004; 11 Suppl 1: S37-44.
- Glickman, L. T., & Mackinnon, S. E. Sensory recovery following digital replantation. *Microsurgery.* 1990; 11 (3): 236-242.
- Goss, C. M. *Gray's anatomy (anatomy of the human body) (Twenty-ninth American Edition ed.)*. Philadelphia: Lea & Febirger; 1973, p:
- Gul, S., Celik, S. E., Kalayci, M., Tasyurekli, M., Cokar, N., & Bilge, T. Dose-dependent neuroprotective effects of melatonin on experimental spinal cord injury in rats. *Surg Neurol.* 2005; 64 (4): 355-361.
- Huang, C. T., Chen, S. H., Lin, S. C., Chen, W. T., Lue, J. H., & Tsai, Y. J. Erythropoietin reduces nerve demyelination, neuropathic pain behavior and microglial maps activation through erythropoietin receptors on schwann cells in a rat model of peripheral neuropathy. *Glia.* 2018; 66 (11): 2299-2315.
- Jelkmann, W. Molecular biology of erythropoietin. *Intern Med.* 2004; 43 (8): 649-659.
- Jelkmann, W. Erythropoietin after a century of research: Younger than ever. *Eur J Haematol.* 2007; 78 (3): 183-205.
- Kater, S. B., & Mills, L. R. Regulation of growth cone behavior by calcium. *J Neurosci.* 1991; 11 (4): 891-899.
- Kertesz, N., Wu, J., Chen, T. H., Sucov, H. M., & Wu, H. The role of erythropoietin in regulating angiogenesis. *Dev Biol.* 2004; 276 (1): 101-110.
- Kumral, A., Gonenc, S., Acikgoz, O., Sonmez, A., Genc, K., Yilmaz, O. Erythropoietin increases glutathione peroxidase enzyme activity and decreases lipid peroxidation levels in hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Biol Neonate.* 2005; 87 (1): 15-18.
- Lacombe, C., & Mayeux, P. The molecular biology of erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant.* 1999; 14 Suppl 2: 22-28.
- Lockhart, R. D., Hamilton, G. F., & Fyfe, F. W. *Anatomy of the human body. (Special low-price edition ed.)*. London: Faber and Faber Limited; 1965, p:
- Lu, G. W., Yu, S., Li, R. H., Cui, X. Y., & Gao, C. Y. Hypoxic preconditioning: A novel intrinsic cytoprotective strategy. *Mol Neurobiol.* 2005; 31 (1-3): 255-271.
- Lundborg, G. Ischemic nerve injury. Experimental studies on intraneural microvascular pathophysiology and nerve function in a limb subjected to temporary circulatory arrest. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl.* 1970; 6: 3-113.

Lundborg, G. Structure and function of the intraneural microvessels as related to trauma, edema formation, and nerve function. *J Bone Joint Surg Am.* 1975; 57 (7): 938-948.

Lundborg, G. The intrinsic vascularization of human peripheral nerves: Structural and functional aspects. *J Hand Surg [Am].* 1979; 4 (1): 34-41.

Lundborg, G., & Dahlin, L. Anatomy, function, and pathophysiology of peripheral nerves and nerve compression. Review. *Hand Clin.* 1996; 12 (2): 185-193.

Lundborg, G., & Dahlin, L. B. The pathophysiology of nerve compression. *Hand Clin.* 1992; 8 (2): 215-227.

Mackinnon, S. E., Hudson, A. R., & Hunter, D. A. Histologic assessment of nerve regeneration in the rat. *Plast Reconstr Surg.* 1985; 75 (3): 384-388.

Modrak, M., Sundem, L., Gupta, R., Zuscik, M. J., & Elfar, J. Pharmacological attenuation of electrical effects in a model of compression neuropathy. *J Bone Joint Surg Am.* 2019; 101 (6): 523-530.

Moore, K. L. Clinically oriented anatomy (International Third Edition ed.); 1992, p:

Munro, C. A., Szalai, J. P., Mackinnon, S. E., & Midha, R. Lack of association between outcome measures of nerve regeneration. *Muscle Nerve.* 1998; 21 (8): 1095-1097.

Myers, R. R., Heckman, H. M., Galbraith, J. A., & Powell, H. C. Subperineurial demyelination associated with reduced nerve blood flow and oxygen tension after epineurial vascular stripping. *Lab Invest.* 1991; 65 (1): 41-50.

Nagai, A., Nakagawa, E., Choi, H. B., Hatori, K., Kobayashi, S., & Kim, S. U. Erythropoietin and erythropoietin receptors in human CNS neurons, astrocytes, microglia, and oligodendrocytes grown in culture. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2001; 60 (4): 386-392.

Noguchi, C. T., Asavaritikrai, P., Teng, R., & Jia, Y. Role of erythropoietin in the brain. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2007; 64 (2): 159-171.

Nordin, M., & Frankel, V. H. Basic biomechanics of the musculoskeletal system (Third ed.); 2001, p:

Oliveira, E. F., Mazzer, N., Barbieri, C. H., & Selli, M. Correlation between functional index and morphometry to evaluate recovery of the rat sciatic nerve following crush injury: Experimental study. *J Reconstr Microsurg.* 2001; 17 (1): 69-75.

Ribatti, D., Vacca, A., Roccaro, A. M., Crivellato, E., & Presta, M. Erythropoietin as an angiogenic factor. *Eur J Clin Invest.* 2003; 33 (10): 891-896.

Roberts, J. T. The effect of occlusive arterial disease of the extremities on the blood supply of nerves. Experimental and clinical studies of the vasa nervorum. *Am Heart J.* 1948; 35: 369-392.

Rydevik, B., Lundborg, G., Olmarker, K., & Myers, R. R. (2001). Biomechanics of peripheral nerves and spinal nerve roots. In M. Nordin & V. H. Frankel (Eds.), *Basic biomechanics of the musculoskeletal system* (Third ed., pp. 126-131). New York: Lippincott Williams&Wilkins.

Sadamoto, Y., Igase, K., Sakanaka, M., Sato, K., Otsuka, H., Sakaki, S. Erythropoietin prevents place navigation disability and cortical infarction in rats with permanent occlusion of the middle cerebral artery. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 253 (1): 26-32.

Sakanaka, M., Wen, T. C., Matsuda, S., Masuda, S., Morishita, E., Nagao, M. In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95 (8): 4635-4640.

Salehi, M., Naseri-Nosar, M., Ebrahimi-Barough, S., Nourani, M., Khojasteh, A., Hamidieh, A. A. Sciatic nerve regeneration by transplantation of schwann cells via erythropoietin controlled-releasing polylactic acid/multiwalled carbon nanotubes/gelatin nanofibrils neural guidance conduit. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2018; 106 (4): 1463-1476.

Sarica, S., & Altun, I. The effects on peripheral nerve damage of the application of local and systemic erythropoietin. *Bratisl Lek Listy.* 2018; 119 (9): 602-607.

Sarikcioglu, L., Demirel, B. M., Demir, N., Yildirim, F. B., Demirtop, A., & Oguz, N. Morphological and ultrastructural analysis of the watershed zones after stripping of the vasa nervorum. *Int J Neurosci.* 2008; 118 (8): 1145-1155.

Seltzer, Z., Dubner, R., & Shir, Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain.* 1990; 43 (2): 205-218.

Sewerynek, E., Melchiorri, D., Ortiz, G. G., Poeggeler, B., & Reiter, R. J. Melatonin reduces h₂O₂-induced lipid peroxidation in homogenates of different rat brain regions. *J Pineal Res.* 1995; 19 (1): 51-56.

Shimoyama, M., Tanaka, K., Hasue, F., & Shimoyama, N. A mouse model of neuropathic cancer pain. *Pain.* 2002; 99 (1-2): 167-174.

Snell, R. S. *Clinical anatomy for medical students* (4th edition ed.). Boston/Toronto/London: Little, Brown and Company; 1992, p:

Stewart, J. D. Peripheral nerve fascicles: Anatomy and clinical relevance. *Muscle Nerve.* 2003; 28 (5): 525-541.

Stys, P. K., Ransom, B. R., Waxman, S. G., & Davis, P. K. Role of extracellular calcium in anoxic injury of mammalian central white matter. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990; 87 (11): 4212-4216.

Sugawa, M., Sakurai, Y., Ishikawa-Ieda, Y., Suzuki, H., & Asou, H. Effects of erythropoietin on glial cell development; oligodendrocyte maturation and astrocyte proliferation. *Neurosci Res.* 2002; 44 (4): 391-403.

Terzis, J. K., & Smith, K. L. *The peripheral nerve structure, function and reconstruction.* New York: Raven Press; 1990, p:

Viviani, B., Bartesaghi, S., Corsini, E., Villa, P., Ghezzi, P., Garau, A. Erythropoietin protects primary hippocampal neurons increasing the expression of brain-derived neurotrophic factor. *J Neurochem.* 2005; 93 (2): 412-421.

Wall, P. D. On the relation of injury to pain. The John J. Bonica lecture. *Pain.* 1979; 6 (3): 253-264.

Wang, L., Zhang, Z., Wang, Y., Zhang, R., & Chopp, M. Treatment of stroke with erythropoietin enhances neurogenesis and angiogenesis and improves neurological function in rats. *Stroke.* 2004; 35 (7): 1732-1737.

Yoshimura, A., & Misawa, H. Physiology and function of the erythropoietin receptor. *Curr Opin Hematol.* 1998; 5 (3): 171-176.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Derya	Uyruğu	T.C.
Soyadı	ÖZDEMİR ERTÜRK	Tel no	05339669514
Doğum tarihi	01.08.1983	e-posta	ozdemirderya83@gmail.com

Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı
Lise	Antalya Lisesi	2000
Lisans	İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2006
Yüksek Lisans		
Doktora		

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Veteriner Hekim	Hayat Veteriner Kliniği	2007-2014
Veteriner Hekim	Tarım ve Orman Bakanlığı	2016-

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	YÖKDİL	46

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)

Burslar-Ödüller:

Yayımlar ve Bildiriler: