

## DENEYSEL OLARAK RATLARDA OLUŞTURULAN PERİFERİK SİNİR YARALANMALARINDA ASİYATİK ASİT'İN ROLÜNÜN İNCELENMESİ

### INVESTIGATION OF THE ROLE OF ASIATIC ACID IN EXPERIMENTALLY CREATED PERIPHERAL NERVE INJURIES IN RATS

Yakup ÇAĞLAROĞLU<sup>1</sup> Mehmet Hakan ŞAHİN<sup>2✉</sup>, Hakan Hadi KADIOĞLU<sup>2</sup>

1. Erzurum Şehir Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği, Erzurum/TÜRKİYE
2. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği, Erzurum/TÜRKİYE

ORCID: 0000-0003-2853-6811, 0000-0002-5309-4165, 0000-0002-7744-6241

E-posta: mhsahin21@hotmail.com

Geliş Tarihi/Received  
02.08.2023

Kabul Tarihi/Accepted  
21.08.2023

Yayın Tarihi/Published  
31.08.2023

Bu makaleye atıfta bulunmak için / to cite this article:

Çağlaroğlu Y, Şahin MH, Kadioğlu HH. Deneysel olarak ratlarda oluşturulan periferik sinir yaralanmalarında asiatic asit'in rolünün incelenmesi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi. 2023; 2(2):55-65

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 \(CC BY-NC\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) Uluslararası Lisansı ile Lisanslanmıştır.

#### Özet

**Amaç:** Deneysel olarak aksonotmezis ve nörotmezis tipi yaralanma modellerinde Asiatic Asit'in (AA) nöroprotektif ve rejeneratif etkileri histopatolojik, elektrofizyolojik ve klinik olarak incelendi. **Gereç ve Yöntem:** 56 adet erkek Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan, yedi alt gruba ayrıldı. Grup1 (kontrol), Grup2A (aksonotmezis sonrası 28 gün oral serum fizyolojik verilen grup), Grup2B (aksonotmezis sonrası 10/mg/kg/gün x 28 gün oral AA tedavisi verilen grup), Grup2C (aksonotmezis sonrası 20/mg/kg/gün x 28 gün oral AA tedavisi verilen grup), Grup3A (nörotmezis sonrası oral serum fizyolojik verilen grup), Grup3B (nörotmezis sonrası 10/mg/kg/gün x 28 gün oral AA tedavisi verilen grup) ve Grup3C (nörotmezis sonrası 20/mg/kg/gün x 28 gün oral AA tedavisi verilen grup) olarak tanzim edildi. Fonksiyonel değerlendirme için yürüme testi, siyatik fonksiyon indeksi, ektansör postural thrust ve gastrocnemius kası ağırlık indeksi parametrelerine bakıldı. Elektrofizyolojik değerlendirme için elektromyografi (EMG) yapıldı. Tüm gruplar 28.gün sonunda sakrifiye edildi. Siyatik sinirler ve gastrocnemius kasları eksize edildi. Siyatik sinirler hemotoksilen-eozin ve toluidin mavisiyle, gastrocnemius kası ise masson trikrom ile histopatolojik olarak boyandı. Siyatik sinirler; anti-TNF-alfa, anti-TGF-beta, anti-NGF ve anti-S100 ile immünohistokimyasal olarak da boyandı. Boyamalar sonrası preparatlar semikuantitatif ve stereolojik yöntemlerle incelendi. Sonuçlar istatistiksel olarak analiz edildi. **Bulgular:** Aksonotmezis ve nörotmezis yapılan gruplarda klinik, elektrofizyolojik ve histopatolojik olarak güncel literatür ile paralel patolojik bulgular elde edildi. AA verilen tüm grupların, ilaç verilmeyen travma gruplarına göre histopatolojik, klinik ve elektrofizyolojik değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi. Ayrıca tedavi grupları içerisindeki doz farklılıklarının histopatolojik iyileşmede istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı görüldü. **Sonuç:** Analizler sonucunda oral asiatic asit verilen gruplarda; rejenerasyon akson sayısı, miyelin formasyonu ve denerve kas atrofisinin restorasyonunda pozitif yönde anlamlı görüntüler tespit ve klinik testlerle teyit edildi. Bu nedenle asiatic asitin antiinflamatuvar, antioksidan ve nöroprotektif etkileriyle periferik sinir yaralanmalarının tedavisine katkılar sağlayacağı ve periferik sinir yaralanmalarının tedavisi için yapılacak diğer çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

**Anahtar kelimeler:** Asiatic asit, periferik sinir yaralanmaları, travma, sıçan modeli

#### Abstract

**Objective:** The neuroprotective and regenerative effects of Asiatic Acid (AA) were examined histopathologically, electrophysiologically and clinically in axonotmesis and neurotmesis type injury models experimentally. **Material and Method:** 56 male Sprague-Dawley male rats were divided into seven subgroups. Group1 (control), Group2A (the group that received oral saline for 28 days after axonotmesis), Group2B (the group that received 10 / mg / kg / day x 28 days of oral AA treatment after axonotmesis), Group2C (the group that received 20 / mg / kg / day x 28 days of oral AA treatment after axonotmesis), Group3A (the group that received oral saline for 28 days after neurotmesis), Group3B (the group that received 10 / mg / kg / day x 28 days of oral AA treatment after (neurotmesis) and Group3C (the group that received 20 / mg / kg / day x 28 days of oral AA treatment after neurotmesis). For functional evaluation; walking test, sciatic function index, extensor postural thrust and gastrocnemius muscle weight index parameters were measured. Electromyography (EMG) was performed for electrophysiological evaluation. All groups were sacrificed at the end of the 28th day. Sciatic nerves and gastrocnemius muscles were excised. Sciatic nerves were histopathologically stained with hematoxylin-eosin and toluidin blue, and gastrocnemius muscle with masson trichrome. Sciatic nerves; It was also stained immunohistochemically with anti-TNF-alpha, anti-TGF beta, antiNGF and anti-S100. After staining, the preparations were examined by semi quantitative and stereological methods. Results were analyzed statistically. **Results:** Clinical, electrophysiological and histopathological pathological findings were obtained in parallel with the current literature in the groups that underwent axonotmesis and neurotmesis. It was observed that all groups given AA were statistically significant in histopathological, clinical and electrophysiological evaluation compared to the trauma groups that were not given medication. In addition, it was observed that the dose differences within

the treatment groups did not make a statistically significant difference in histopathological improvement. **Conclusion:** As a result of the analysis, in groups given oral asiatic acid; Significant positive images in the restoration of regenerated axon count, myelin formation and denervated muscle atrophy were detected and confirmed by clinical tests. Therefore, we believe that asiatic acid will contribute to the treatment of peripheral nerve injuries with its anti-inflammatory, antioxidant and neuroprotective effects and will shed light on other studies for the treatment of peripheral nerve injuries.

**Keywords:** Asiatic acid, peripheral nerve injuries, trauma, rat model

## 1. GİRİŞ

Periferik sinir sistemi (PSS), merkezi sinir sistemi (MSS) ile nihai organlar arası her türlü duysal, motor, endokrin iletişimin ve koordinasyonun sağlandığı çok gelişmiş bir ağdır. Bu sistemde meydana gelebilecek bir hasar canlı organizma için ciddi kayıplara yol açabilir. Periferik sinir yaralanmalarının etyolojisinde; travma, ezilme, baskı, laserasyon, gerilme ve kimyasallar gibi bir takım sebepler vardır (1, 2). Periferik sinir hücresinin; wallerian dejenerasyon, aksonal dejenerasyon ve segmental demiyelinizasyon olmak üzere yaralanma tipleri mevcuttur. Sinir lifi travma sonrası hücreden ayrı kalan kısımda morfolojik, kimyasal ve fonksiyonel olarak gelişen değişikliklerin tümüne sinir dejenerasyonu denir. Sinirde meydana gelen bu değişikliklere wallerian dejenerasyon (WD) adı verilir. WD'ye uğramış bir sinirin iyileşip normal fonksiyonunu kazanmasına rejenerasyon denir (3). Wallerian dejenerasyonun da immün süreçte nötrofiller, makrofajlar ve T hücreleri de dahil olmak üzere çok sayıda immün hücrenin, patojenik süreçlere katkıda buldukları sinir hasarını takiben yaralı bölgelere alındığı bilinmektedir. Periferik sinir yaralanmaları sonrası inflamatuvar sürecin tetiklenmesiyle oksidatif stresin artması ve inflamatuvar mediatörlerin salınımı artmaktadır. Asiatic asit (AA) doğal bir pentasiklik triterpenoid olup geniş farmakolojik etkileri sayesinde oldukça umut vaat eden bir bileşiktir. Yapılan çalışmalarda AA'nın antioksidan, antiinflamatuvar ve analjezik etkileri olduğu gösterilmiştir. Çalışmalarda AA'nın NOS enziminin aktivitesini etkileyerek antiinflamatuvar ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzim aktivitelerini artırarak da antioksidan etkiye sahip olduğu görülmüştür. Yine yapılan çalışmalar da NF-kB'nin 'downregülasyonu' ve MAPK fosforilasyonunun baskılanması ile NOS, COX2, İL-1b, İL-6 ve TNF-a ekspresyonunun inhibisyonu ile AA'nın antiinflamatuvar etki gösterdiğini rapor edilmiştir (4, 5). Bir çalışmada ise nöroprotektif etkisini, beyinde kan-beyin bariyerini stabilize ederek ve mitokondriyal metabolizmayı düzenleyerek sağladığı gösterilmiştir (6). Asiatic asitin periferik sinirde aksonotmezis ve nörotmezis tipi yaralanmalarda sinir rejenerasyonunda rolü ve katkısı ilk kez gösterilecektir. Çalışmamızda asiatic asitin dozlarını daha önceki çalışmalara göre belirledik (7). Asiatic asit antiinflamatuvar, antioksidan, nöroprotektif ve analjezik etkilerinden dolayı periferik sinir yaralanmalarında muhtemel

yeni katkılar sağlayacaktır.

## 2. MATERYAL VE METOD

Erzurum Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 18.02.2020 tarihli ve 42190979-000-E.2000053833 sayılı izni ile yapıldı. Denekler Erzurum Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edildi. Ağırlıkları 200- 250 gr arasında olan 56 tane erkek Sprague-Dawley rat kullanıldı. Deneklerin sağlıklı, daha önce ilaç verilmemiş ve herhangi bir deneyde kullanılmamış olmalarına dikkat edildi. Denekler cerrahi işleme başlamadan 12 saat önce aç bırakıldı ve ağırlıkları ölçülerek kaydedildi. Deneklerin 28 günlük deney boyunca ağırlıkları günlük ölçüldü ve ilaç doz ayarlamaları ağırlıklarına uygun olarak hassas terazide yapıldı ve gavajla oral yolla deneklere verildi. Deneyler mikroskop eşliğinde ve mikrocerrahi ekipmanları ile yapıldı. Deneyler sırasında kullanılan Asiatic Asit ürün bilgileri; Alfa Aesar™ Asiatic acid, %97 500 mg, H60149. ME, Code: NEW, Additional Details: CAS Number: 464-92-6, product of China, ThermoFisher (Kandel) /Germany şeklindedir. Üretici firma tarafından iyofilize halde -20°C'de soğuk zincirde teslim edilen AA, oda sıcaklığında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda deneklerin ağırlıklarının ölçülmesini takiben günlük doz miktarına uygun olarak dimetil sülfoksit (DMSO) yardımı ile çözüldü.

Denekler öncelikle 3 ana gruba ayrıldı. Grup1 (kontrol grubu) :8 rat, Grup2 (aksonotmezis grubu): 24 rat, Grup3 (nörotmezis grubu): 24 rat ile oluşturuldu. Sonrasında Grup2 ve Grup3 kendi içerisinde eşit olarak üç gruba ayrılarak (2A: 8 rat, 2B: 8 rat, 2C:8 rat, 3A:8 rat, 3B:8 rat, 3C:8 rat) toplamda herbiri sekizer denek içeren 7 alt grup oluşturuldu. Deneklere Ketamin Hidroklorür (Ketalar® flakon, Parke-Davis lisansı ile Eczacıbaşı İlaç Sanayi İstanbul) 50 mg/kg ve Xylazin (Rhompun® enjektabl flakon, Bayer Türk Kimya Sanayi İstanbul) 10 mg/kg intraperitoneal olarak uygulanarak genel anestezi sağlandı. Deneğe operasyon tahtası üstünde prone pozisyon verildi. Denek kan dolaşımını bozmayacak şekilde dört ekstremiteden bağlanarak sabitlendi. Sağ gluteal ve uyluk lateral bölgesi traş edildi. Povidon iodine ile insizyon yeri temizliği yapıldı. Operasyon sahası siyah steril örtü ile örtüldü. Sağ alt ekstremitede kalça eklemi hizasından femoral kemiğe paralel şekilde oblik gluteal 3 cm'lik insizyon yapıldı. Cilt sıyrılarak biceps femoris kasına ulaşıldı. Biceps femoris ve gluteus superficialis komşuluğundan girişim yapıldı. Vastus lateralis görüldü. Biceps

femoris posteriora doğru ekarte edildi. Siyatik sinir ortaya çıkarıldı.

Aksonotmezis hasar modeli için, sıçan siyatik sinir ezilme tarzı yaralanma modeli kullanıldı. Aksonotmezis tipi yaralanma oluşturmak amacıyla; siyatik sinir üzerine 180 gr'lık kuvvet [1,76 Newton (N)] uygulayan 5 cm uzunluğunda 13 mm uç uzunluğuna sahip Dietrich bulldog klemp (Tekno-Cer® AC-123-20) 1 dakika süreyle yerleştirilip, lezyon oluşturuldu ve klemp çıkarıldı. Kas fasiası 4/0 vicryl suture, cilt ise 4/0 prolene suture ile kapatıldı. Nörotmezis tipi yaralanma oluşturmak amacıyla, cerrahi olarak eksplore edildi, cerrahi mikroskop keski alanı üzerine getirilerek, 25'lik büyütme yapılarak mikromakas yardımı ile kesildi. Sonrasında mikrocerrahi teknikle tüm sinirler uç uca aynı cerrah tarafından yapılmak üzere 10/0 naylon suture ile epinöral olarak dikildi. Kas fasiası ve cilt daha önce tarif edildiği gibi kapatıldı.

Yaraya 10 gün boyunca pansuman yapıldı. Denekler post-operatif dönemde kafeslerinde, normal oda sıcaklığında, günlük povidon iyot ile pansumanları yapılarak veteriner hekim kontrolünde tutuldular. Profilaktik antibiyotik olarak yeme karıştırılmış vaziyette amoksisilin klavulonik asid verildi. Günlük beslenmeleri ve su ihtiyaçları karşılandı. İlk operasyondan 28 gün sonra denekler reeksplore edildi. 28. günün sonunda deneklerin yaralanma oluşturulan sağ siyatik sinirleri hasar bölgesinin proksimal ve distalini de içine alacak şekilde çıkarıldı. Bilateral gastroknemius kasları da eksize edildi. Tüm deney aşamalarından geçen denekler daha sonra karbonmonoksit kutusu kullanılarak uyutuldu.

Her deneğe ait sinir ve kas dokuları, içinde %10'luk formalin solüsyonu bulunan kaplarına konuldu. Solüsyon içinde bir gün bekletildi. Sinir örneklerinden alınan ardışık transvers kesitler Thermo Fisher Scientific marka, Shandon Excelsior ET model takip cihazında parafinle bloklandı. Her bir hayvana ait parafin bloktan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Denek başına 5 kesit, toplamda 270 kesit alındı. Sinir morfolojisi, inflamasyon, ödem ve konjesyonunu göstermek amacıyla hematoksilin – eozin (H&E) ve WD'yi göstermek için Toluidin Blue ile boyandı. Gastroknemius kası numuneleri ise sinir inervasyonunun bozukluğunu ve atrofiye gittiğini histopatolojik olarak göstermek amacıyla masson trichrome 59 (MTC) ile boyandı ve fibrozis durumları derecelendirildi. Hazırlanan preparatlar Carl Zeiss marka Axio Scope. A1 model polarize ışık mikroskopunda değerlendirildiler. Stereolojik analiz için bir yazılım (Stereoinvestigator, Microbrightfield; USA) ve kamera ataçmanı kullanıldı. İlk olarak her bir rat için siyatik sinir örnekleri düşük büyültmede çizildi. İkinci olarak, uygun grid büyüklüğü ve unbiased sayım çerçeve 60 büyüklüğü belirlendi. Çizili alanlar Fractionator probe aracılığı ile sistematik ve randomize bir şekilde örneklendi ve miyelinli aksonlar yüksek

büyültmede sayıldı. Son olarak, ortalama miyelinli akson sayısal yoğunluğu şu formül ile hesaplandı [8].

$$Nv = \frac{\sum Q}{\sum S \times A}$$

(Nv: Sayısal yoğunluk □Q: Sayılan toplam markerlar □S: Örneklenen tarafların sayısı A: Sayılan çerçeve alanı)

Sinir dokusuna ait kesitlerden miyelinli akson yoğunluğu, miyelin kılıf kalınlığı, miyelinli akson çapı, gastroknemius kas dokusuna ait kesitlerden gastroknemius kas lifi çapı ve kollajen lif alan yüzdesi stereolojik olarak hesaplandı. Preparatların histopatolojik değerlendirilmesinde; fibrozis, wallerian dejenerasyon, ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu parametrelerine göre 3 puan üzerinden skorlama yapılan modifiye histopatolojik gradeleme skalası kullanıldı [9-11] .(Tablo 1)

## 2.1. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler IBM-SPSS Statistics 22 (IBM, USA) programı kullanılarak yapıldı. İstatistiksel değerlendirmede p<0.05 değeri anlamlı farklılık olarak kabul edildi. İki denekten fazla bağımsız grup için normal dağılım ve varyans homojenliği varsayımları sağlandığında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) Tukey HSD uygulandı. Korelasyon incelemelerinde Pearson Ki – kare ve ANOVA testleri kullanıldı. P değerinin 0.05'ten küçük olması durumunda sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## 3. BULGULAR

28 günlük deney süresince deney gruplarından toplamda 2 rat (ikisi de nörotmezis IIIa grubundan kanibalizm sonucu) öldüğünden 54 rat değerlendirmeye alındı. Makroskobik olarak bacak postürü, ayak basma özellikleri, bacak fleksör kaslarında atrofi gelişip gelişmediği, bacak yaralarının olup olmadığı ve insizyon hattı özelliklerine dikkat edildi. Haricen yara yeri problemi tespit edilmedi.

Çalışmaya dahil edilen 54 deneğe ait siyatik sinir dokularının cerrahi eksplozasyon sonrası yapılan makroskobik değerlendirmesinde; kontrol grubunda yer alan deneklerde çevre dokuya yapışıklık ve nöroma izlenmezken, çalışma gruplarına ait sinirlerde suture hattına uyan bölgelerde çevre dokuya yapışıklık görüldü. Nöroma oluşumu saptanmadı.

Deney gruplarına ait periferik sinir dokuları H&E boyama sonrasında değerlendirildi. Grup 1'de sinir liflerin düzenli olduğu, SC' ye ait nukleuslar ve düzenli akson yapıları ile tüm bölümlerde normal histolojik yapıda olduğu izlendi. Fibrozis, WD, ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu tespit edilmedi (Şekil 1).

Grup2A'daki deneklerde periferik sinir doku bütünlüğünün kaybolduğu görüldü. Dejeneratif zeminde akson yoğunluğunun azaldığı, miyelin kaybı

olduğu ve sinir liflerinin irregüler dağıldığı tespit edildi (Şekil 2).

Grup2A'daki Denekler Modifiye Histopatolojik Skorlama Tablosuna göre fibrozis bakımından Grade 1 - 2 - 3, WD bakımından Grade 2 - 3, ödem bakımından Grade 1 - 2 - 3, inflamatuvar hücre infiltrasyonu bakımından Grade 2 - 3 düzeyinde tespit edildi (Tablo 2). Değerler istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.05$ ).

Grup2B'deki deneklerde akson ve miyelin yapısının düzenlenmeye başladığı, fibrotik alanların ve konjesyonun azaldığı gözlemlendi. Grup2B' deki denekler Modifiye Histopatolojik Skorlama Tablosuna göre fibrozis bakımından Grade 1 - 2, WD bakımından Grade 1 - 2, ödem bakımından Grade 1 - 2, inflamatuvar hücre infiltrasyonu bakımından 76 Grade 0 - 1 - 2 düzeyinde tespit edildi (Tablo 2). Değerler istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.05$ ).

Grup2C'deki deneklerde dejeneratif değişikliklerde ve konjesyonda azalma, akson ve miyelin organizasyonunda iyileşme tespit gözlemlendi. Grup2C' deki denekler Modifiye Histopatolojik Skorlama Tablosuna göre fibrozis bakımından Grade 1 - 2, WD bakımından Grade 0 - 1 - 2, ödem bakımından Grade 0 - 1 - 2, inflamatuvar hücre infiltrasyonu bakımından Grade 0 - 1 düzeyinde tespit edildi (Tablo 2). Değerler istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.05$ ).

Grup3A'daki deneklerde çok yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu, belirgin konjesyon sahaları, yoğun kollajen lifler, aksonal bütünlükte bozulma miyelin kaybı ve yabancı cisim reaksiyonu gözlemlendi (Şekil 3). Grup3A' daki denekler Modifiye Histopatolojik Skorlama Tablosuna göre fibrozis bakımından Grade 2 - 3, WD bakımından Grade 2 - 3, ödem bakımından Grade 2 - 3, inflamatuvar hücre infiltrasyonu bakımından Grade 2 - 3 düzeyinde tespit edildi (Tablo 3). Değerler istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.05$ ). Grup3B' deki deneklerde akson yapısının ve miyelin organizasyonunun kısmen düzenlendiği, fibrotik alanların, inflamatuvar hücre infiltrasyonunun ve konjesyonun azaldığı gözlemlendi. Grup3B' deki denekler Modifiye Histopatolojik Skorlama Tablosuna göre fibrozis bakımından Grade 1 - 2 - 3, WD bakımından Grade 1 - 2, ödem bakımından Grade 1 - 2, inflamatuvar hücre infiltrasyonu bakımından Grade 1 düzeyinde tespit edildi (Tablo 3). Değerler istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.05$ ). Grup3C' deki deneklerde akson yapısının ve miyelin organizasyonunun kısmen düzenlendiği, fibrotik alanların, inflamatuvar hücre infiltrasyonunun ve konjesyonun azaldığı gözlemlendi. Grup3C' deki denekler Modifiye Histopatolojik Skorlama Tablosuna göre fibrozis bakımından Grade 1 - 2, WD bakımından Grade 1 - 2, ödem bakımından Grade 1 - 2, inflamatuvar hücre infiltrasyonu bakımından Grade 0 - 1 düzeyinde

tespit edildi (Tablo 3). Değerler istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.05$ ). Grup1'de sinir liflerin düzenli olduğu, SC' ye ait nukleuslar ve düzenli akson yapıları ile tüm bölümlerde normal histolojik yapıda olduğu izlendi. Aksonal organizasyon düzenliydi ve WD gözlenmedi (Şekil 4). Yaralanma yapılan kontrol gruplarında (Grup2A ve Grup3A) wallerian dejenerasyon, miyelin kaybı, konjesyon, kollajen lif ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu belirgindi, kısmen Schwann hücre hiperplazisi gözlemlendi. Grup2B, Grup2C, Grup3B ve Grup3C' de rejenerasyonun ve Schwann hücre artışı ön plandaydı ( Şekil 5). Grup1' deki deneklerin miyelinli akson yoğunluğu ortalama  $0.00426 \pm 0.00106 \text{ n}/\mu\text{m}^3$ , en düşük  $0.00332 \text{ n}/\mu\text{m}^3$ , en yüksek  $0.00667 \text{ n}/\mu\text{m}^3$  olarak saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ). Grup2A' daki deneklerin miyelinli akson yoğunluğu ortalama  $0.00103 \pm 0.00025 \text{ n}/\mu\text{m}^3$ , en düşük  $0.00076 \text{ n}/\mu\text{m}^3$ , en yüksek  $0.00139 \text{ n}/\mu\text{m}^3$  olarak saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı düşüklük saptandı ( $p<0.001$ ). Grup2B'deki deneklerin miyelinli akson yoğunluğu ortalama  $0.00239 \pm 0.00100 \text{ n}/\mu\text{m}^3$ , en düşük  $0.00136 \text{ n}/\mu\text{m}^3$ , en yüksek  $0.00433 \text{ n}/\mu\text{m}^3$  olarak saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı yükseklik saptandı ( $p<0.05$ ). Grup2C' deki deneklerin miyelinli akson yoğunluğu ortalama  $0.00322 \pm 0.00149 \text{ n}/\mu\text{m}^3$ , en düşük  $0.00186 \text{ n}/\mu\text{m}^3$ , en yüksek  $0.00646 \text{ n}/\mu\text{m}^3$  olarak saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı yükseklik saptandı ( $p<0.001$ ). Grup3A' daki deneklerin miyelinli akson yoğunluğu ortalama  $0.00050 \pm 0.00015 \text{ n}/\mu\text{m}^3$ , en düşük  $0.00025 \text{ n}/\mu\text{m}^3$ , en yüksek  $0.00065 \text{ n}/\mu\text{m}^3$  olarak saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı düşüklük saptandı ( $p<0.001$ ). Grup3B' deki deneklerin miyelinli akson yoğunluğu ortalama  $0.00088 \pm 0.00045 \text{ n}/\mu\text{m}^3$ , en düşük  $0.00046 \text{ n}/\mu\text{m}^3$ , en yüksek  $0.00167 \text{ n}/\mu\text{m}^3$  olarak saptandı. Miyelinli akson yoğunluğundaki artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). Grup3C' deki deneklerin miyelinli akson yoğunluğu ortalama  $0.00122 \pm 0.00102 \text{ n}/\mu\text{m}^3$ , en düşük  $0.00042 \text{ n}/\mu\text{m}^3$ , en yüksek  $0.00330 \text{ n}/\mu\text{m}^3$  olarak saptandı. Miyelinli akson yoğunluğundaki artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ) (Tablo 4,5).

Grup1'e ait deneklerin gastrokinemius kas örneklerinde çizgili kas demetleri nizami idi ve kollajen lif saptanmadı. Grup2A ve Grup 3A' ya ait deneklerin kas demetlerinde atrofi ve fibrozis ve kollajen lif oranında artış saptandı. Grup2B, Grup2C, Grup3B ve Grup3C' ye ait deneklerde fibrozis ve kollajen lif oranında azalma saptandı. (Şekil 6) Grup1'e ait deneklerin kollajen lif alan yüzdesi ortalama  $1.50 \pm 1.23$ , en düşük 0.26, en yüksek 4.21 idi. İstatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). Grup2A'ya ait deneklerin kollajen lif alan yüzdesi ortalama  $4.60 \pm 1.67$ , en düşük 1.12, en yüksek 6.14 idi. İstatistiksel olarak anlamlı

**Tablo 1.** Modifiye Histopatolojik Skorumla Kriterleri

Skor	Kriter (Kesit alanda x40 büyütmede)
<b>Fibrozis</b>	
Grade 1	< 150 fibroblast
Grade 2	100 – 150 fibroblast
Grade 3	> 150 fibroblast
<b>Wallerian dejenerasyon</b>	
Grade 1	< %25 dejenerasyon
Grade 2	%25-%75 dejenerasyon
Grade 3	> %75 dejenerasyon
<b>Ödem</b>	
Grade 1	< %25 ödem
Grade 2	%25- %75 ödem
Grade 3	> %75 ödem
<b>İnflamatuar hücre infiltrasyonu</b>	
Grade 1	0 – 10 nötrofil
Grade 2	10 – 50 nötrofil
Grade 3	> 50 nötrofil

**Tablo 2.** Grup2 Deneklerin Siyatik Sinir Hasarının Modifiye Histopatolojik Skorumla Tablosuna Göre Değerlendirilmesi

Denekler	Fibrozis			WD			Ödem			İnflamatuar hücre infiltrasyonu		
	(1-2-3)	(1-2-3)	(1-2-3)	(1-2-3)	(1-2-3)	(1-2-3)	(1-2-3)	(1-2-3)	(1-2-3)	(1-2-3)	(1-2-3)	
	2A	2B	2C	2A	2B	2C	2A	2B	2C	2A	2B	2C
1	1	1	1	2	1	0	1	1	0	2	0	0
2	3	1	1	3	1	1	3	1	0	2	1	0
3	2	1	1	3	1	1	3	1	1	2	1	0
4	3	1	1	2	1	1	3	1	1	2	1	0
5	2	1	1	3	1	1	3	1	1	3	1	1
6	1	1	1	3	2	1	3	2	1	3	1	1
7	3	2	1	3	2	2	2	2	1	3	1	1
8	3	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	1

yükseklik tespit edildi ( $p<0.05$ ). Grup2B'ye ait deneklerin kollajen lif alan yüzdesi ortalama  $3.44 \pm 1.50$ , en düşük 1.09, en yüksek 6.23 idi. Kollajen lif alan yüzdesindeki azalma anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). Grup2C'ye ait deneklerin kollajen lif alan yüzdesi ortalama  $1.84 \pm 1.30$ , en düşük 0.96, en yüksek 4.84 idi. Kollajen lif alan yüzdesindeki azalma istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ). Grup3A'ya ait deneklerin kollajen lif alan yüzdesi ortalama  $6.61 \pm 3.18$ , en düşük 2.26, en yüksek 11.62 idi. Kollajen lif alan yüzdesindeki artış istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ). Grup3B'ye ait deneklerin kollajen lif alan yüzdesi ortalama  $4.72 \pm 1.86$ , en düşük 1.96, en yüksek 7.76 idi. Kollajen lif alan

yüzdesindeki azalma anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). Grup3C'ye ait deneklerin kollajen lif alan yüzdesi ortalama  $4.49 \pm 1.82$ , en düşük 2.12, en yüksek 8.01 idi. Kollajen lif alan yüzdesindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ) (Tablo 6, 7).

#### 4. TARTIŞMA

Günümüzde trafik ve iş kazalarının artması, sporun hayatımızda daha fazla yer almaya başlaması, toplumsal şiddet olaylarının artması sonucu ateşli silah ve kesici-delici aletle oluşan yaralanmalara bağlı olarak periferik sinir yaralanmaları daha sık gözükmemektedir. Avrupada periferik sinir yaralanmasının insidansının yılda yaklaşık 300.000

vaka olduğu tahmin edilmektedir (12). Multitravma hastalarının yaklaşık % 2,8' inde meydana gelen periferik sinir hasarları; motor, duyuşal ve otonom işlevlerinin kısmi veya tam kaybına yol açmaktadır. Bu durum önemli ölçüde iş ve güç kaybına neden olmaktadır (13). Direkt travma, kontüzyon, bası, iskemi, ısı, elektrik ve enjeksiyon uygulamaları gibi nedenler periferik sinir yaralanmalarının etiolojisinde yer almaktadır (14, 15). Sinir kesilerinin olduğu yaralanmalar, yarattıkları morbidite sebebiyle aşılımaya çalışılan önemli bir sağlık sorunudur. Periferik sinir yaralanmalarının tedavisi; yaralanmanın şekli, lezyonun yeri, çevre dokuların durumu ve eşlik eden yaralanmalara bağlı olarak değışiklik göstermektedir. Proksimal seviyedeki yaralanmalarda dorsal kök ganglionlarında ve ön boynuzda çok sayıda hücre ölümü de fonksiyonel iyileşmenin kısıtlayıcı etkenlerindedir (16). Literatür incelendiğinde deneysel rat modelinde sinir yaralanması yapıp, kullanılan maddelerin sinir iyileşmesi üzerine etkinliğinin araştırıldığı birçok çalışma vardır (17). Çalışmamızda; insana en yakın deneysel model olması, uygulamada ve teknikte kolaylık sağlaması nedeniyle deney modeli olarak rat modeli seçilmiştir. Özellikle rat siyatik siniri, uzun seyri, orta uyluk bölgesinde kolay diseksiyona izin vermesi ve manipülasyon için uygun bir alana sahip olması, bu siniri sinir çalışmalarında vazgeçilmez kılmaktadır. Periferik sinir yaralanmasında hasar patogeneğinde oksidatif stres ve inflamasyon önemli bir rol oynar (18). Oksidatif stres yaralanma sonrası nöral hasarın ana nedenlerinden biridir ve periferik sinir yaralanması sonrası fonksiyonel iyileşmede olumsuz rol oynar (19,20). Periferik sinir yaralanmalarının farklı türleri farklı derecelerde oksidatif strese yol açabilir (21). Son araştırmalar, periferik sinir yaralanmasından sonra oksidatif stresin inhibisyonunun, fonksiyonel işlevin artmasına ve onarım sürecinde hızlanmaya neden olabileceğini göstermiştir (22, 23). Periferik sinir yaralanmasını takiben gelişen hızlı proinflamatuvar yanıt, doku artıklarının ortadan kaldırılması ve etkin bir sinir rejenerasyonu için gereklidir (24). Ancak inflamasyon devam ederse ve zamanında etkili bir şekilde baskılanmazsa fonksiyonel iyileşme etkilenir. Periferik sinir hasarından sonra inflamatuvar yanıtın baskılanması iyileşmeye katkıda bulunur (25). Sonuç olarak, oksidatif stresin ve inflamasyonun baskılanması oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtta sekonder oluşan nöral hasarın önlenmesini sağlayarak sinir rejenerasyonuna ve fonksiyonel rekonstrüksiyona katkıda bulunabilir (26). Yaralı sinirin aksonal parçalanmasıyla başlatılan inflamatuvar yanıt hem humoral (kompleman sistemi, siklooksijenaz-lipoksijenaz yolları, sitokinler/ kemokinler) hem de hücreşel (kan-sinir bariyeri permeabilizasyonu, SC aktivasyonu, makrofaj göçü) komponentler içerir. Sitokinler klasik olarak immun sistemin aktivasyonu

ve inflamatuvar yanıtla ilişkili heterojen bir grup polipeptid mediatör içerir. Son zamanlarda sitokinlerin sinir sistemi hasarı sonrası ekspresyonlarında artış olduğuna dair artan kanıtlar vardır (26).

Çalışmamızda ilk kez deneysel olarak ratlarda oluşturulan siyatik hasar modelinde AA' nın yaralanmış sinir üzerine antiinflamatuvar ve nöroprotektif etkilerinin gösterilmesi için histopatolojik incelemeler yapıldı. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu, ödem, wallerian dejenerasyon ve fibrozis semikantitatif yöntemlerle, miyelinli akson yoğunluğu, miyelin kılıf kalınlığı, miyelinli akson çapı, gastroknemius kas lifi çapı ve gastroknemius kası kollajen lif alan yüzdesi stereolojik olarak değerlendirildi.

Grupların fibrozis dereceleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde Grup2C ve Grup2B'de Grup 2A'ya kıyasla anlamlı düşüklük tespit edildi (sırasıyla  $p=0.004$ ,  $p=0.01$ ). Grup2C ve Grup2B arasında ise anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ). Grup3C ve Grup3B'de fibrozis açısından Grup3A'ya kıyasla anlamlı düşüklük tespit edildi (sırasıyla  $p=0.03$ ,  $p=0.048$ ). Grup3C ve Grup3B arasında ise anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ). Bu duruma göre sinir yaralanması olan gruplarda fibrozisin ciddi olarak arttığı, AA verilen gruplarda ilaç doz artışından bağımsız olarak fibrozis derecelerinde belirgin azalma olduğu gözlemlendi.

Bu analizler doğrultusunda AA' nın, periferik sinir yaralanmasında NGF ve S100 düzeylerini artırıp, TNF- $\alpha$  ve TGF- $\beta$  düzeylerini azaltarak; nöroprotektif, antiinflamatuvar ve antioksidan etki gösterdiği ilk kez gösterildi. AA' nın bu mekanizmalarla fonksiyonel olarak düşük ayak gelişimini azalttığı, siyatik fonksiyon indeksini (SFİ), basma kuvveti (EPT) ve gastroknemius kas ağırlık indeksini artırdığı tespit edildi. Elektrofizyolojik olarak amplitüd ölçümlerini artırdığı gösterildi. Histopatolojik olarak ise fibrozis, wallerian dejenerasyon (WD), ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve kollajen lif yoğunluğunu azalttığı; miyelinli akson yoğunluğunu, miyelin kılıf kalınlığını, miyelinli akson çapını ve gastroknemius kas lifi çapını artırdığı gösterildi.

**Sonuç olarak;** periferik sinir yaralanmalarından sonra uygulanan uygun dozda asiatik asitin periferik sinir rejenerasyonunda olumlu etkileri gözlenmiştir. Analizler sonucunda oral asiatik asit verilen gruplarda; rejenere akson sayısı, miyelin formasyonu ve denerve kas atrofisinin restorasyonunda pozitif yönde anlamlı görüntüler tespit ve klinik testlerle teyit edildiğinden dolayı, asiatik asitin antiinflamatuvar, antioksidan ve nöroprotektif etkileriyle periferik sinir yararlanmalarının tedavisine katkılar sağlayacağı ve periferik sinir yaralanmalarının tedavisi için yapılacak diğer çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz

**Tablo 3.** Grup3 Deneklerin Siyatik Sinir Hasarının Modifiye Histopatolojik Skorlama Tablosuna Göre Değerlendirilmesi

Denekler	Fibrozis			WD			Ödem			İnflamatuar hücre infiltrasyonu		
	(1-2-3)			(1-2-3)			(1-2-3)			(1-2-3)		
	3A	3B	3C	3A	3B	3C	3A	3B	3C	3A	3B	3C
1	3	1	1	2	1	1	2	1	1	3	1	0
2	2	1	1	3	2	1	3	1	1	2	1	0
3	2	2	1	3	2	2	3	1	1	2	1	1
4	3	2	1	2	2	2	3	2	2	3	1	1
5	3	2	2	3	2	2	3	2	2	3	1	1
6	3	2	2	3	2	2	3	2	2	3	1	1
7	*	2	2	*	2	2	*	2	2	*	1	1
8	*	3	2	*	2	2	*	2	2	*	1	1

(\* işaretli ratlar öldüğünden değerlendirmeye alınamamıştır)

**Tablo 4:** Grupların Miyelinli Akson Yoğunluğu ( $n/\mu\text{m}^3$ ) Verileri

Denek	Grup-1		Grup-2			Grup-3	
	2A	2B	2C	3A	3B	3C	
1	0.00332	0.00076	0.00136	0.00186	0.00025	0.00046	0.00042
2	0.00344	0.00084	0.00146	0.00222	0.00040	0.00050	0.00047
3	0.00374	0.00087	0.00189	0.00240	0.00049	0.00051	0.00050
4	0.00379	0.00088	0.00208	0.00243	0.00059	0.00074	0.00075
5	0.00423	0.00095	0.00228	0.00294	0.00060	0.00083	0.00075
6	0.00444	0.00119	0.00238	0.00334	0.00065	0.00089	0.00154
7	0.00444	0.00138	0.00333	0.00412	*	0.00142	0.00203
8	0.00667	0.00139	0.00433	0.00646	*	0.00167	0.00330
<b>Ort</b>	<b>0.00426</b>	<b>0.00103</b>	<b>0.00239</b>	<b>0.00322</b>	<b>0.00050</b>	<b>0.00088</b>	<b>0.00122</b>
<b>±SD</b>	<b>±0.00106</b>	<b>±0.00025</b>	<b>±0.00100</b>	<b>±0.00149</b>	<b>±0.00015</b>	<b>±0.00045</b>	<b>±0.00102</b>

(\* işaretli ratlar öldüğünden değerlendirmeye alınamamıştır)

**Tablo 5:** Grupların Ait Miyelinli Akson Yoğunluğu ( $n/\mu\text{m}^3$ ) Ortalama Değerleri

Gruplar	Minimum	Maksimum	Ortalama ± SD
1	0.00332	0.00667	<b>0.00426 ± 0.00106</b>
2A	0.00076	0.00139	<b>0.00103 ± 0.00025</b>
2B	0.00136	0.00433	<b>0.00239 ± 0.00100</b>
2C	0.00186	0.00646	<b>0.00322 ± 0.00149</b>
3A	0.00025	0.00065	<b>0.00050 ± 0.00015</b>
3B	0.00046	0.00167	<b>0.00088 ± 0.00045</b>
3C	0.00042	0.00330	<b>0.00122 ± 0.00102</b>



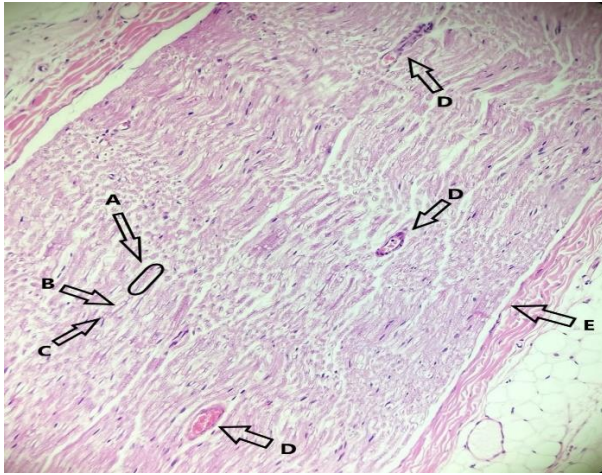
**Tablo 6:** Grupların Kollajen Lif alan Yüzde Verileri

Denek	Grup-1	Grup-2			Grup-3		
		2A	2B	2C	3A	3B	3C
1	0.26	1.12	1.09	0.96	2.26	1.96	2.12
2	0.56	3.25	2.41	0.99	4.87	2.43	2.96
3	0.99	4.48	2.87	1.12	5.56	4.51	3.56
4	1.23	5.23	2.96	1.25	7.23	4.86	4.02
5	1.24	5.25	3.84	1.32	8.14	4.99	4.44
6	1.36	5.62	3.96	1.96	11.62	5.12	5.13
7	2.22	5.77	4.17	2.28	*	6.15	5.74
8	4.21	6.14	6.23	4.84	*	7.76	8.01
Ort ± SD	1.50 ± 1.23	4.60 ± 1.67	3.44 ± 1.50	1.84 ± 1.30	6.61 ± 3.18	4.72 ± 1.86	4.49 ± 1.82

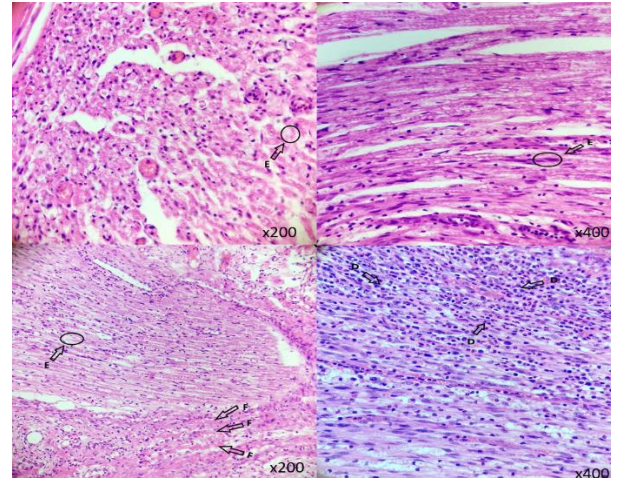
(\* işaretli ratlar öldüğünden değerlendirmeye alınamamıştır)

**Tablo 7:** Grupların Kollajen Lif alan Yüzdelerinin Ortalama Değerleri

Gruplar	Minimum	Maksimum	Ortalama ± SD
1	0.26	4.21	1.50 ± 1.23
2A	1.12	6.14	4.60 ± 1.67
2B	1.09	6.23	3.44 ± 1.50
2C	0.96	4.84	1.84 ± 1.30
3A	2.26	11.62	6.61 ± 3.18
3B	1.96	7.76	4.72 ± 1.86
3C	2.12	8.01	4.49 ± 1.82

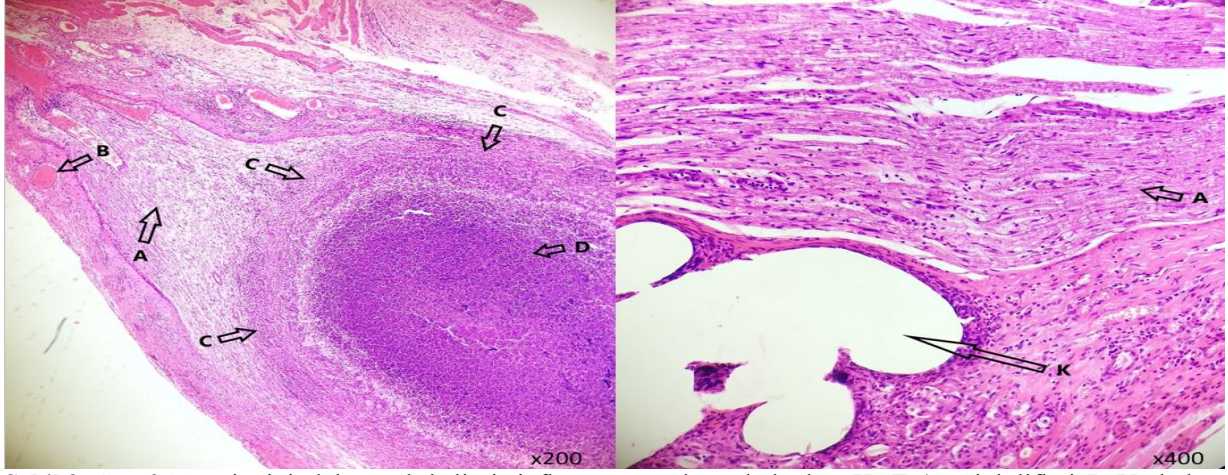


**Şekil.1** Kontrol grubuna ait sağlam sinir lifleri, H&E, x200 (A: Sinir Lifi, B: Miyelin C: Schwan hücresi, D: Vasküler yapı, E: Perinöryum)

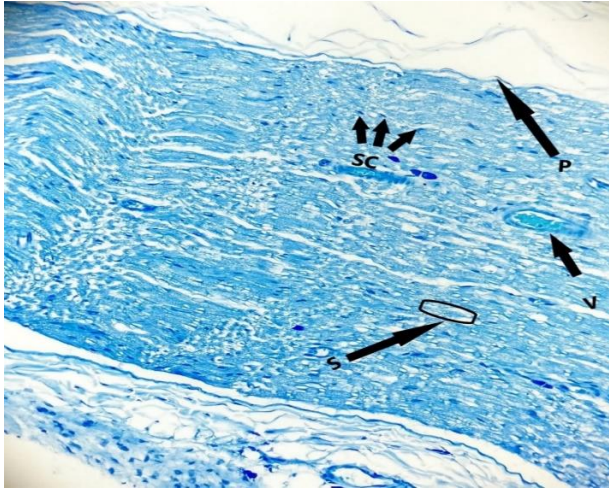


**Şekil 2:** Grup2A'ya ait sinir lifleri, H&E (E: Miyelin kaybı, F: Kollajen lifler D: İnflamatuar hücreler)

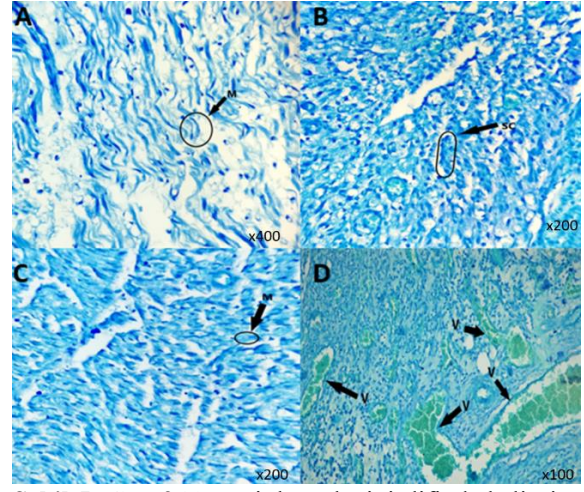




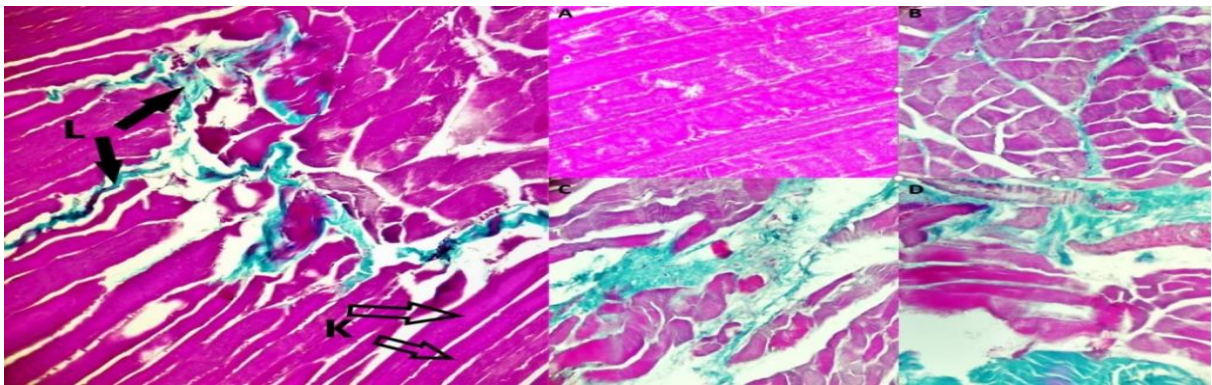
**Şekil 3:** Grup3A'ya ait Sinir dokusunda belirgin inflamasyon ve hasar bulguları, H&E (A: Sinir lifleri, B: Vasküler yapı, C: Fibrozis, D: İnflamatuvar hücreler, K: Yabancı cisim reaksiyonu)



**Şekil 4:** Kontrol grubuna ait siyatik sinir kesiti, toluidin mavisi x200 (P: Perinöryum, V: vasküler yapı, S: sinir lifi, SC: Schwann hücresi)



**Şekil 5:** Grup3A'ya ait hasarlı sinir lifinde belirgin myelin kaybı, toluidin mavisi (M: Myelin Kaybı, SC: Schwann hücre artışı, V: Vasküler yapı)



**Şekil 6:** Kas gruplarında fibrozis değerlendirmesi MTC boyası x200 (L: Kollajen lif, K: Çizgili kas, A: Normal kas, B: Hafif fibrozis, C: Orta derecede fibrozis, D: İleri derecede fibrozis)

**Çıkar çatışmaları;** Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

**Finansman;** Bu araştırma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TTU-2020-8514 kodlu proje olarak desteklenmiştir.

**İnsan ve hayvan konularının korunması ;** Yazarlar, izlenen prosedürlerin ilgili klinik araştırma etik kurulunun düzenlemelerine ve Dünya Tabipler Birliği Etik Kurallarına (Helsinki Bildirgesi) uygun olduğunu beyan eder.

## 5. KAYNAKLAR

1. Daneyemez M, Solmaz I, Izci Y. Prognostic factors for the surgical management of peripheral nerve lesions. *Tohoku J Exp Med.* 2005. 205(3): p. 269-275.
2. Seçer Hİ, Daneyemez MK. Periferik sinir yaralanmaları ve cerrahisi. İçinde: Temel Nöroşirürji. Ankara: Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları; 2010. p. 1763- 1764.
3. Zhang P, Xue F, Zhao F, Lu Hu, et al. The immunohistological observation of proliferation rule of Schwann cell after sciatic nerve injury in rats *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol.* 2008. 36(2): p. 150-155.
4. Gonçalves BMF, Salvador JAR, Marín S, Cascante M. Synthesis and biological evaluation of novel asiatic acid derivatives with anticancer activity. *Eur J Med Chem.* 2016. 6(5): p. 3967-3985.
5. Tang L, He R, Yang G, et al. Asiatic acid inhibits liver fibrosis by blocking TGFbeta/Smad signaling in vivo and in vitro. *PLoS One.* 2012. 7(2).
6. Zhang X, Wu J, Dou Y, et al. Asiatic acid protects primary neurons against C2-ceramideinduced apoptosis. *Eur J Pharmacol.* 2012. 679(1-3): p. 51-59.
7. Meng Z, Li H, Si C, et al. Asiatic acid inhibits cardiac fibrosis through Nrf2/HO-1 and TGF-β1/Smads signaling pathways in spontaneous hypertension rats. *Int Immunopharmacol.* 2019. 74: p. 105712.
8. Çakır M, Zengin S, Çalikoğlu Ç, et al. Protective Role of İnterferon-B in experimentally induced peripheral nerve injury in rats. *Acta Medica Mediterranea.* 2015. p.973-979
9. Faroni A, Mobasser SA, Kingham PJ, et al. Peripheral nerve regeneration: experimental strategies and future perspectives. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015. 82: p. 160-167.
10. Yazar E, Kuruoğlu E, Kocacı E, et al. Electrophysiological and histopathological effects of mesenchymal stem cells in treatment of experimental rat model of sciatic nerve injury. *Int J Clin Exp Med.* 2015. 8(6): p. 8776
11. Zeynal M. Ratlarda Periferik Sinir Enjeksiyon Hasarı Modelinde Siyatik Sinirin

Değerlendirilmesi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2017, Erzurum (Danışman: Prof. Dr. H. Hadi Kadioğlu)

12. Ehmedah A, Nedeljkovic P, Dacic S, et al. Vitamin B complex treatment attenuates local inflammation after peripheral nerve injury. *Molecules.* 2019. 24(24): p. 4615. 273. Scheib J, Höke A. Advances in peripheral nerve regeneration. *Nat Rev Neurol.* 2013. 9(12): p. 668-676.
13. Benli K. Periferik sinir cerrahisinin önemi, içinde Türk Nöroşirürji Dergisi 2005. p. 15:196-197.
14. Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus.* 2004. 16(5): p. 1-7.
15. Mishra P, Stringer M. Sciatic nerve injury from intramuscular injection: a persistent and global problem. *Int J Clin Pract Suppl.* 2010. 64(11): p. 1573-1579.
16. Scheib J, Höke A. Advances in peripheral nerve regeneration. *Nat Rev Neurol.* 2013. 9(12): p. 668-676.
17. Kurtoglu Z, Ozturk AH, Bagdatoglu C, et al. Effects of trapidil after crush injury in peripheral nerve. *Acta Med Okayama.* 2005. 59(2): p. 37-44
18. McLachlan EM, Hu P. Inflammation in dorsal root ganglia after peripheral nerve injury: effects of the sympathetic innervation. *Auton Neurosci.* 2014. 182: p. 108-117.
19. Zhang L, Johnson D, Johnson JA. Deletion of Nrf2 impairs functional recovery, reduces clearance of myelin debris and decreases axonal remyelination after peripheral nerve injury. *Neurobiol Dis.* 2013. 54: p. 329-338.
20. Lanza C, Raimondo S, Vergani L, et al. Expression of antioxidant molecules after peripheral nerve injury and regeneration. *J Neurosci Res.* 2012. 90(4): p. 842-848.
21. Wang H, Ding XG, Li SW, et al. Role of oxidative stress in surgical cavernous nerve injury in a rat model. *J Neurosci Res.* 2015. 93(6): p. 922-929.
22. Qian Y, Han Q, Zhao X, et al. 3D melatonin nerve scaffold reduces oxidative stress and inflammation and increases autophagy in peripheral nerve regeneration. *J Pineal Res.* 2018. 65(4): p. e12516. 131
23. Renno WM, Benov L, Khan KM. Possible role of antioxidative capacity of epigallocatechin-3-gallate treatment in morphological and neurobehavioral recovery after sciatic nerve crush injury. *J Neurosurg Spine.* 2017. 27(5): p. 593-613.
24. Mietto BS, Kroner A, Girolami EI, et al. Role of IL-10 in resolution of inflammation and functional recovery after peripheral nerve injury. *J Neurosci.* 2015. 35(50): p. 16431- 16442.
25. Ydens E, Demon D, Lornet G, et al. Nlrp6 promotes recovery after peripheral nerve injury independently of inflammasomes. *Journal of neuroinflammation.* 2015. 12(1): p. 1-14. 296. Said G. Examination and clinical care of the patient with

neuropathy. Handbook of Clinical Neurology, 2013. 115: p. 235-244.

**26.** 26. Dubový P, Jančálek R, Kubek T. Role of Inflammation and Cytokines in Peripheral Nerve

Regeneration, Tissue Engineering of the Peripheral Nerve, Volume 108, Int Rev Neurobiol. Academic Press;2013. p. 173-206.