

T.C.  
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

MENTAL SİNİR YARALANMALARINDA İNTERLÖKİN-1  
RESEPTÖR ANTAGONİSTİNİN İNFLAMAZOM VE  
İNFLAMAZOM REGÜLATÖRLERİNİN ÜZERİNE  
ETKİLERİNİN İN-VİVO OLARAK İNCELENMESİ

Dt. Eynar BERDELİ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Gülten KAVAK

İZMİR-2022



**T.C.**  
**İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**MENTAL SİNİR YARALANMALARINDA İNTERLÖKİN-1**  
**RESEPTÖR ANTAGONİSTİNİN İNFLAMAZOM VE**  
**İNFLAMAZOM REGÜLATÖRLERİNİN ÜZERİNE**  
**ETKİLERİNİN İN-VİVO OLARAK İNCELENMESİ**

Dt. Eynar BERDELİ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Gülten KAVAK

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Programı** çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 29 / 11 / 2022

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Gülten KAVAK

(İzmir Katip Çelebi Üniversitesi)

Üye :.....  
\*(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)

Üye.....\*  
(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)

Üye :.....  
\*(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)

Üye :.....  
\*(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)

ONAY : Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

.....

(İMZA) Enstitü Müdürü

## **YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİ YET HAKLARI BEYANI**

Enstitü tarafından onaylanan doktora tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi'ne verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

**Tezimin/Raporumun tamamı dününya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**

**Tezimin/Raporumun ..... tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını istemiyorum (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç)**

**Tezimin.....tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

**Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

.../.../... İmza

**Eynar Berdeli**

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğumu, Tez Danışmanım Prof. Dr. Gülten Kavak danışmanlığında tarafımdan ürettiğimi ve İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığımı beyan ederim.

..../..../....

**İmza**

**Eynar Berdeli**

## TEŞEKKÜR

Doktora eđ itimim sürecinde benden desteğini hiç esirgemeyen, yol gösteren, tez çalışmamın planlanmasında ve yürütülmesinde en büyük katkısı olan ve her zaman yanımda olan çok kıymetli sevgili tez danışmanı hocam Prof. Dr. Gülten KAVAK'a;

Cerrahi eđ itimim boyunca samimiyet ve güleryüzlükle bana yol gösteren ve mesleki gelişimimde büyük katkıları olan Doç. Dr. Onur şAHİN hocama, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, birlikte çalışmaktan, bir aile olmaktan büyük mutluluk ve onur duyduğum Ađ ız Diş ve ene Cerrahisi Anabilim Dalı'ndaki hocalarım Prof. Dr. Nergiz YILMAZ , Doç. Dr. MuratULU ve Doç. Dr. Nihat LAÇİN'e ;

Lisans eğitimimden bu güne kadar bir abla edasıyla her anlamda yanımda duran kadar Doç. Dr. Kübra ARAL'a;

Tezimin deney ve yazım aşamasında büyük bir özveriyle desteklerini ve yardımlarını eksik etmeyen sevgili asistan arkadaşlarım Yasemin ÖZANT ve Dilan KAYA'ya;

Tezimin labratuvar kısmındaki sonsuz katkılarından dolayı Ege üniversitesi Moleküler Tıp Laboratuvarı alışanı sevgili ablalarım,

Eğitime başladığımız ilk günden beri her daim yanyana sırsırta durduğumuz kardeşlerim dediğim eşkıdemlerim Ömer ANKAYA, Xhini RİZAJ, Ceren EKMEKÇİOĞLU, Oya TÖRÜN, Malik BAYRAMBEYLİ'ye;

Bölümümde birlikte çalışma imkanı bulduğum isimlerini saymakla bitiremeyeceğim kıymetli asistan arkadaşlarım;

Bizlere yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen tüm klinik ve ameliyathane personeline;

Beni büyütüp bu günlere getiren, her aldığım kararda arkamda duran sevgili anneme ve babama, eksikliğini hiç hissetmediğim bir ömür destekçim ablama teşekkür ederim.



## ÖZET

# MENTAL SİNİR YARALANMALARINDA İNTERLÖKİN-1 RESEPTÖR ANTAGONİSTİNİN İNFLAMAZOM VE İNFLAMAZOM REGÜLATÖRLERİNİN ÜZERİNE ETKİLERİNİN İN-VİVO OLARAK İNCELENMESİ

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Doktora Programı,  
Doktora Tezi, İzmir, 2022

**Amaç:** İnflamazomların ve inflamazom regülatörlerinin mental sinir yaralanmaları üzerindeki kısa ve uzun dönem etkileri gen düzeyinde incelenmiştir.

**Materyal ve metod:** Bu çalışmada Wistar albino her bir ana grupta 8 adet olmak üzere toplam 120 rat kullanılmıştır. Deney grubundaki hayvanların mental sinirleri açığa çıkarılıp ezilme tarzında hasar oluşturuldu. Denek grubuna IL-1 reseptör antagonisti olan Anakinra subkutan olarak uygulandı. Oluşturulan sinir hasarının erken ve geç dönemde incelenmesi için örnekler 2. Ve 30. günde toplandı. Sakrifikasyon sonrası. İlacın sinir hasarı öncesinde veya sonrasında verilmesiyle oluşan etkileri 7 farklı inflamazom bağlantılı gen olan NLRP3, ASC, Caspase 1, TRIM16, POP1, NEK7 ve IL-1 $\beta$  üzerindeki etkileri incelendi.

**Sonuç:** Çalışmamızın sonuçlarına göre mental sinir hasarı NLRP3 gen ekspresyonu ile ilişkili olabilir. Anakinra'nın sinir hasarından 24 saat sonra tek veya çoklu doz olarak uygulanması NLRP3 gen ekspresyonunu sağlıklı düzeylere çekebilmektedir.

**Anhatar kelimeler:** mental sinir, NLRP3, ASC, Caspase 1, TRIM16, POP1, NEK7 ve IL-1 $\beta$

## **ABSTRACT**

### **IN-VIVO INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF INTERLUKIN-1 RECEPTOR ANTAGONIST ON INFLAMMASOME AND INFLAMMASOME REGULATORS IN MENTAL NERVE INJURY,**

**İzmir Kâtip Çelebi University Institute of Health Science, Oral and Maxillofacial  
Surgery Doctoral Program, Doctoral Thesis, İzmir, 2022**

**Aim:** The short- and long-term effects of inflammasomes and inflammasome regulators on mental nerve injuries were investigated at the gene level.

**Material and method:** In this study, a total of 120 Wistar albino rats, 8 in each main group, were used. The mental nerves of the animals in the experimental group were exposed and crushed damage was created. . Anakinra, an IL-1 receptor antagonist, was administered subcutaneously to the subject group. Samples were collected on the 2nd and 30th days to examine the nerve damage in the early and late stages. After sacrifice. The effects of the drug given before or after nerve damage The effects on 7 different inflammasome-associated genes, NLRP3, ASC, Caspase 1, TRIM16, POP1, NEK7 and IL-1 $\beta$  were examined.

**Conclusion:** According to the results of our study, mental nerve damage may be associated with NLRP3 gene expression. Administration of anakinra as a single or multiple dose 24 hours after nerve damage can increase NLRP3 gene expression to healthy levels.

**Keywords:** mental nerve, NLRP3, ASC, Caspase 1, TRIM16, POP1, NEK7 and IL-1 $\beta$

# İÇİNDEKİLER TABLOSU

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI .....	ii
ETİK BEYAN.....	iii
Şekiller Dizini .....	xi
Resimler Dizini.....	xii
Tablolar Dizini .....	xiii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Problemin tanımı ve önemi.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Araştırmanın Amacı .....</b>	<b>2</b>
<b>1.3. Araştırmanın Hipotezi.....</b>	<b>2</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Trigeminal Sinir Anatomisi .....</b>	<b>3</b>
2.1.1. Oftalmik sinir.....	4
2.1.2. Maksiller Sinir .....	5
2.1.3. Mandibular Sinir.....	6
2.1.4. Mental Sinirin Önemi.....	8
<b>2.2. Oral ve Maksilofasiyal Bölgede Sinir Yaralanmalarının Nedenleri.....</b>	<b>10</b>
2.2.1. Lokal Anestezi Enjeksiyonuna Bağlı Gelişen Sinir Yaralanmaları.....	10
2.2.2. Gömülü Diş Çekimine Bağlı Oluşan Sinir Yaralanmaları .....	10
2.2.3. Dental İmplant Uygulaması Esnasında Oluşabilecek Sinir Hasarları.....	11
2.2.4. Ortognatik Cerrahiye Bağlı Gelişen Sinir Yaralanmaları .....	11
2.2.5. Maksillofasiyal Travma Kaynaklı Sinir Yaralanmaları .....	12
2.2.6. Temporomandibular Eklem Cerrahisi Sırasında Oluşan Sinir Yaralanmaları.....	13
2.2.7. Diğer Nedenler .....	13
<b>2.3. Sinir Yaralanmalarının Sınıflandırılması .....</b>	<b>14</b>
2.3.1. Seddon Sınıflaması .....	14
2.3.2. Sunderland Sınıflaması .....	16
<b>2.4. Sinir Hasarı Sonrası Meydana Gelen Değişiklikler ve Rejenerasyon .....</b>	<b>17</b>
2.4.1. Sinir Hücre Gövdesinde Meydana Gelen Değişiklikler.....	18

2.4.2. Proksimal Segmentte Meydana Gelen Değişiklikler .....	18
2.4.3. Distal Segmentte Meydana Gelen Değişiklikler .....	19
2.4.4. Sinir hasarında inflamazomların rolü .....	19
<b>2.5. İnflamazomlar .....</b>	<b>21</b>
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>26</b>
3.1. Çalışma Dizaynı.....	26
3.2. Sinir hasarı oluşturmak için kullanılan cerrahi yöntem.....	30
3.3. Il-1R Antagonistinin (Anakinra) Uygulanması .....	37
3.4. Sakrifikasyon İşlemi .....	37
3.5. Mental sinir örneklerinin toplanması .....	37
3.6. Örneklerden RNA izolasyonu yapılması .....	38
3.7. RNA Kalitatif ölçümü .....	40
3.8. Revers Transkripsiyon PCR ile RNA'dan cDNA Sentezi .....	40
3.9. İstatistiksel Analiz .....	41
3.10. Gen ifade seviyelerinin ölçülmesi.....	42
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>43</b>
4.1. Gruplardaki NLRP3 Gen Ekspresyon Seviyeleri .....	47
4.2. Gruplardaki İnterlökin-1 $\beta$ Gen Ekspresyon Seviyeleri .....	49
4.3. Gruplardaki ASC Gen Ekspresyon Seviyeleri .....	50
4.4. Gruplardaki Caspase 1 Gen Ekspresyon Seviyeleri.....	51
4.5. Gruplardaki POP1 Gen Ekspresyon Seviyeleri .....	52
4.6. Gruplardaki TRIM16 Gen Ekspresyon Seviyeleri.....	53
4.7. Gruplardaki NEK7 Gen Ekspresyon Seviyeleri.....	54
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>56</b>
<b>6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>63</b>
<b>KAYNAKÇA.....</b>	<b>66</b>



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 N. Trigemini'nin dalları .....	4
Şekil 2: Mandibular sinir ve dalları .....	8
Şekil 3: İnflamasyonun şematik yapısı.....	21
Şekil 4:Genel inflamasyon şeması. (118) .....	23
Şekil 5: Kanonik ve kanonik olmayan inflamasyon yanıtları.(123) .....	25
Şekil 6:Kanonik ve kanonik olmayan inflamasyon yanıtları.(123) .....	25
Şekil 7: Çalışma gruplarına ait akış şeması.....	29
Şekil 8: ASC geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi.....	43
Şekil 9:NLRP3 geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi.....	43
Şekil 10: IL-1 $\beta$ geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi .....	44
Şekil 11: TRIM16 geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi.....	44
Şekil 12: Caspase 1 geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi.....	45
Şekil 13: GAPDH geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi .....	45
Şekil 14POP1 geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi .....	46
Şekil 15:NEK7 geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi .....	46
Şekil 16: NLRP3 genine ait tüm gruplardaki örneklerin amplifikasyon eğrisi.....	47
Şekil 17: NLRP3 Gen Ekspresyon Seviyeleri.....	48
Şekil 18: İnterlökin-1 $\beta$ Gen Ekspresyon Seviyeleri .....	49
Şekil 19: ASC gen ekspresyon seviyeleri.....	50
Şekil 20: caspase -1 gen ekspresyon seviyeleri.....	51
Şekil 21: POP1 gen ekspresyon seviyeleri .....	52
Şekil 22: TRIM16 gen ekspresyon seviyeleri.....	54
Şekil 23: NEK7 gen ekspresyon seviyeleri .....	55

## RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: deney hayvanlarının cilt kesisi.....	31
Resim 2: Mental sinirin açığa çıkarılması.....	32
Resim 3: mental sinirin dalları.....	33
Resim 4: mental sinirin prolen suture ile hasarlanması .....	34
Resim 5: hasara uğramış mental sinir .....	35
Resim 6: ciltin 6.0 vicryl suture ile kapatılması.....	36
Resim 2: Il-1R Antagonistini Anakinra'nın formu.....	37
Resim 4: Örneklerden RNA izolasyonunun yapılması .....	39
Resim 5: RNA saflığının ölçülmesi için kullanılan cihaz .....	40
Resim 6: Çalışmada kullanılan cDNA sentez kiti.....	40

## TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1 .....	41
Tablo 2: PCR reaksiyonu için kullanılan mix.....	42





# 1. GİRİŞ

## 1.1. Problemin tanımı ve önemi

Periferik sinir yaralanmaları (PSY), günümüzde çok sık karşılaştığımız komplikasyonlardandır (1). Periferik sinirler, pek çok nedene bağlı olarak hasara uğrayabilirler. Bu nedenler arasında bası, kesi, gerilme gibi mekanik etkenlerin yanı sıra termal, iskemik, elektriksel, ışımsal ve kimyasal etkenler de yer almaktadır (2). Bunlar arasında sinir hasarına neden olan en sık yaralanma şekli, gerilim tipi yaralanmalardır. Periferik sinirler, yapısında kollajen içeren endonöriyumları sayesinde belli bir elastikiyete sahiptirler; ancak traksiyon kuvveti sinirin esneme kapasitesini aşarsa bu tip hasar meydana gelir. İkinci sıklıkta karşılaşılan sinir hasarı şekli laserasyonlardır, bu tip yaralanmalar sıklıkla bıçak gibi bir aletle oluşur. Tam kesi oluşabileceği gibi, sinir elemanlarından bazılarında devamlılığın korunduğu tarzda da olabilir. Kompresyon tipi yaralanmalar da sıklıkla görülen sinir yaralanmalarındandır. Sinir devamlılığını korunmuş olmasına rağmen, hem duyu hem de motor fonksiyon kaybı oluşabilir. Bu tip yaralanmaların patofizyolojisi tam olarak açıklanamamıştır, ancak muhtemel mekanizmanın mekanik kompresyon sonucunda oluşan iskemi olduğu düşünülmektedir (3). Sinir hasarları, oral ve maksillofasiyal cerrahide sık karşılaşılabilen komplikasyonlardandır (4,5). Sinir hücreleri belirli düzeyde rejeneratif potansiyele sahip olsa da sinir hasarlarının fonksiyonel iyileşmesi çoğunlukla yetersiz olmakta ve optimal düzeye ulaşmamaktadır (6). Periferik sinir cerrahisindeki güncel gelişmelere rağmen sinir onarımı sonrası elde edilen fonksiyonel iyileşme çoğu zaman beklenen sonucu karşılamamaktadır (7). Başarılı bir sinir rejenerasyonu; aksonal tomurcuklanma, büyüme, uç organ reinnervasyonu ve santral sinir sistemi ile rejenerasyon olan liflerin integrasyonu gibi pek çok aşamanın tamamlanmasını gerektiren karmaşık bir süreci kapsamaktadır. Periferik sinir yaralanmalarının şiddetine bağlı olarak çeşitli tedavi protokolleri literatürde kullanılmıştır. Mikrocerrahi ciddi sinir yaralanmalarında oldukça etkili olabilmekle birlikte nöropraksi ve bazı aksonotmezis gibi düşük düzeydeki sinir hasarlarında tam bir tedavi protokolü bulunmamaktadır (8). Medikasyon fizyoterapi ve manyetik alan tedavilerinin düşük ve orta düzeydeki sinir yaralanmalarında kullanımı önerilse de bu tekniklerin hiçbirinin nöral rehabilitasyonda tatmin edici sonuçlar sağlamadığı

bildirilmiştir (9,10). Dolayısıyla sinir yaralanmalarındaki biyolojik mekanizmanın tam olarak anlaşılması spesifik tedavi prosedürlerinin önünü açabilecektir(11).

## **1.2. Araştırmanın Amacı**

İnflamazomların ve inflamazom regülatörlerinin mental sinir yaralanmaları üzerindeki kısa ve uzun dönem etkileri gen düzeyinde incelenmiştir.

## **1.3. Araştırmanın Hipotezi**

Mental sinir yaralanmalarının NLRP inflamazomuyla ilgili olduğu düşünülüp bir IL-1 antagonisti olan Anakinra'nın inflamazom regülatörlerini sağlıklı seviyelere çekmesi beklenildi.

## 2. GENEL BİLGİLER

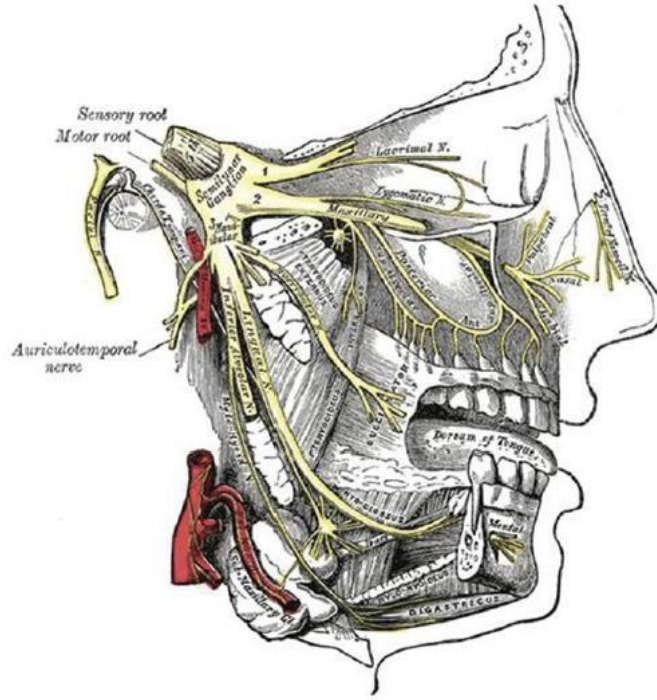
### 2.1. Trigeminal Sinir Anatomisi

Trigeminal sinir, beşinci (V) kranial sinirdir. On iki kranial sinirin en büyüğüdür ve en geniş dağılım alanına sahiptir. Hem motor hem de duyu lifleri ile karışık bir sinirdir. Trigeminal sinir pons'un ön yüzünden bilateral olarak çıkar; her sinir, başın ve yüzün ipsilateral yarısını inerve eder. Her trigeminal sinirin üç ana dalı vardır ve bu nedenle adı trigeminal sinirdir. Yüz bölgesinin duyu modaliteleri, vücudun diğer bölümlerinden daha karmaşık ve özeldir. Trigeminal sinir bölgesinde yoğun innervasyon bölgeleri vardır ve bu nedenle, trigeminal sinir diğer sinirlere göre daha fazla sayıda nörona sahiptir.

Trigeminal sinirin iki fonksiyonel bileşeni vardır:

1. branşiyal veya faringeal arkten türetilen kasları besleyen özel visseral veya branşiyal efferent (motor lifler).
2. Baş ve yüzden genel hisler taşıyan genel somatik afferent (duyu lifler).

Motor liflerin hücre çekirdekleri ponda bulunurken, duyu lifler trigeminal ganglionda sonlanmaktadır. Trigeminal sinirin, trigeminal ganglionun ön kısmından (dışbükey kenar) ortaya çıkan üç periferik dalı vardır. Bunlar oftalmik (V1), maksiller (V2) ve mandibular (V3) sinirlerdir. Bu üç sinir dalının her biri, çeşitli yapıları inerve etmek için birden fazla dala ayrılır. Oftalmik ve maksiller sinirler yalnızca duyu lifler taşırken, mandibular sinir hem duyu hem de motor lifleri taşır. Periferik dalların bazıları ayrıca yüz, ağız, burun ve gözlerin çeşitli bezlerini besleyen pre/post ganglionik parasempatik ve post ganglionik sempatik lifler içerir (12).



Şekil 1 N. Trigeminus'un dalları

### 2.1.1. Oftalmik sinir

Oftalmik sinir, trigeminal ganglionun anterolateral yüzünden çıkan duyu siniridir. Trigeminal sinirin en küçük dalıdır (12). 2,5 cm uzunluğunda olan oftalmik sinir kavernoöz sinüsün dış yan duvarında orbitaya doğru ilerler (13,14). N.lacrimalis, n.frontalis ve n.nasociliaris olmak üzere üç dala ayrılarak fissura orbitalis superior'dan orbitaya girer.

Dalları aracılığıyla; göz küresi, konjunktiva, göz yaşı bezi, üst göz kapağı, frontal ve sfenoid sinüslerle sellulae ethmoidales'in, burun boşluğu dış yan duvarları ve burun bölmesinin ön bölümünün mukozası, burun ve alın derisi ile saçlı derinin vertekse kadar olan bölümünden, ayrıca ekstraoküler göz kasları ile bir bölüm yüz kaslarından gelen proprioseptif duyuyu da içeren somatosensitif duyuları alır.

N. oftalmikus; birleştirici dallar sayesinde n.okulomotorius, n. abducens, n.troklearis ve sempatik sisteme ait olan plexus kavernozausla bağlantı kurar .

N. lakrimalis; orbitanın dış duvarında m. rectus lateralis ve m. rectus superior arasında seyreder. Parasempatik sekretuar lifler taşıyan içeren n. lakrimalis, glandula lakrimalis'te göz kapağının dış kısmında ve konjunktivada dağılır.

N.frontalis; n. oftalmikus'un en kalın uç dalıdır. Üst göz kapağı derisi, alın derisi ve frontal sinüs mukozasında dağılır. N. nazosiliaris; kavernoöz sinüste iken oftalmik sinirden ayrılır. Burun sırtında, burun boşluğunun bir bölgesinde ve göz küresinde dağılır. Gözün iç köşesi üstünde, burnun yan tarafında, sakkus lakrimalis, konjunktiva ve karankula lakrimaliste dağılır (13-15).

### **2.1.2. Maksiller Sinir**

Trigeminal sinir'in orta kalınlıktaki dalıdır. Ganglion trigeminalenin konveks ön-orta kısmından çıkan ve yalnız sensitif liflerden oluşan bu dal yüzün orta bölümü, alt göz kapakları, burnun yan tarafları, üst dudakların derisi ile nazofarinks, maksiller sinüs, tonsiller, yumuşak ve sert damak, üst çene diş ve diş etlerinden duyu alır. Foramen rotundumdan geçerek orta kranial fossadan ayrılır ve pterygopalatine fossaya girer. Foramen rotunduma girmeden önce meningeal dalını verir (15,16). Pterygopalatine fossada yan dallara ayrılmaktadır. Bu dallar n.maxillarisin afferent liflerinin yanı sıra ganglion pterygopalatinum'dan aldıkları sempatik ve parasempatik efferent lifleri de bulundurlar. N.infraorbitalis, n. maksillaris'in en kalın dalıdır. Bu sinir n.zigomatikus ile birlikte fissura orbitalis inferioru geçerek orbitaya gelir. Nn. alveolares superior n.maksillaris'ten fossa pterygopalatina içinde ayrılıp tuber maksilla üzerindeki foramina alveolarialardan geçerek, korda timpaniden aldığı parasempatik liflerle birlikte pleksus dentalis superioru oluştururlar (17,18).

### 2.1.3. Mandibular Sinir

Gangliyon trigeminalenin alt kısmından çıkan n. mandibularis, n.trigeminus'un en kalın ve uzun dalıdır. Ganglion trigeminalenin konveks ön dış kenarının arka alt kısmından çıkan duysal lifler, motor radiks lifleri ile birleştikten sonra n. mandibularisi oluşturur.

Bu bağlamda siniri iki bölümde incelemek mümkündür; kalın olan radix sensoria ve ince olan radix motoria'dır. N. mandibularis genel olarak alt çene dış ve dişetleri, temporal bölge derisi, alt dudak ve yüzün alt kısmının derisi, dilin ön 2/3 ü, yanak ve mastoid hücreleri döşeyen mukoza, çene kemiği, çene eklemi ile dura mater encephali, kulak kepçesi, kulak zarı ve dış kulak yolunun bir bölümünden duyu alır(19–22).

Somatomotor lifler ise çiğneme kaslarının (m. temporalis, m. masseter, m. pterygoideus medialis ve m. pterygoideus lateralis) yanı sıra suprahyoid kaslardan m. mylohyoideus ile m. digastrikus venter anteriorunu, yumuşak damak kaslarından m. tensor veli palatiniyi ve orta kulak kaslarından m. tensor tympaniye inerve eder (21,23–25).

Mandibular sinir foramen ovaleden çıktıktan sonra, rekürrens meninjikus, medialis pterygoid, tensor veli palatini ve tensor tympani dallarını vererek devam eder ve fossa infratemporalise gelir. Mandibular sinir, yukarıda bahsedilen sinir dallarını verdikten sonra büyük bir posterior sinir dalı ve küçük bir anterior sinir dalına ayrılır. Bu iki sinir dalında hem duyu hem de motor lifleri bulunmaktadır. Genellikle motor liflerinin bulunduğu anterior sinir dalı, çiğneme kaslarının inervasyonunu sağladığı için n.masticatorius da denmektedir. Mandibular sinirin posterior dalında ise daha çok duyu lifleri bulunmakta ve aurikulatemporal, inferior alveolar ve lingual sinir olmak üzere 3 sinir dalına ayrılmaktadır(25).

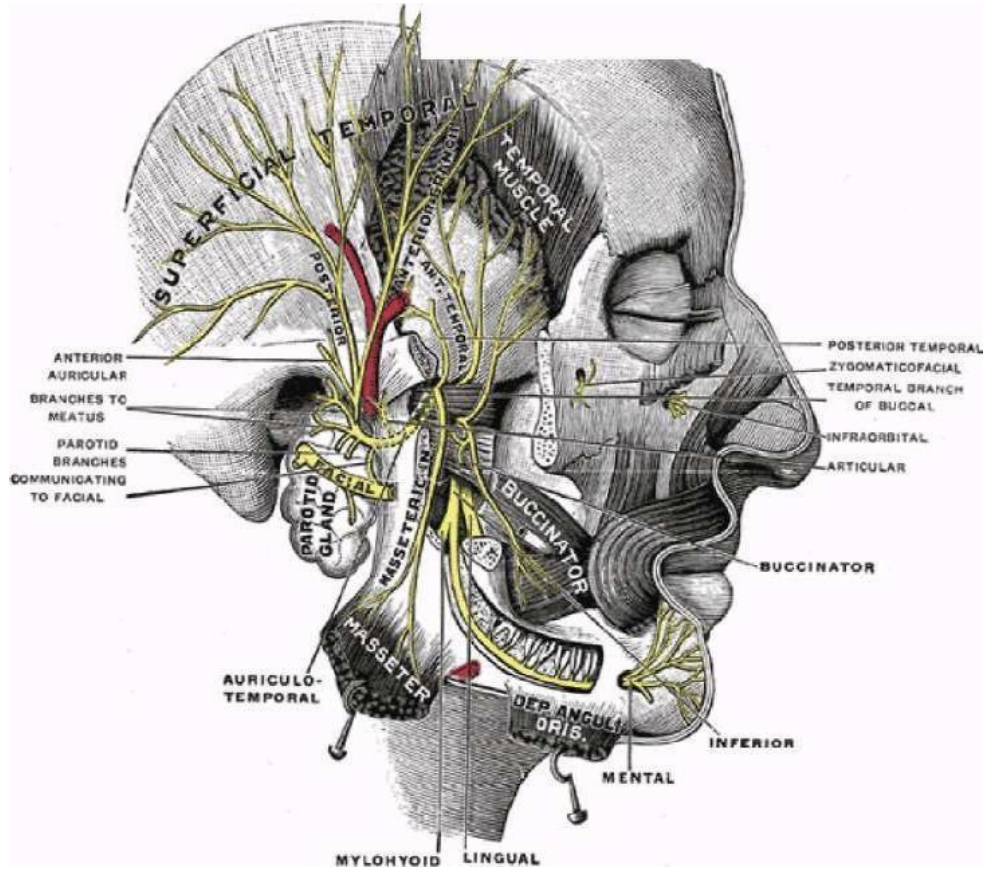
N.lingualis, duysal ve parasempatik lifler içerir. N. fasiyalisin bir dalı olan korda timpani ile birleşir. Korda timpani, n. fasiyalisten glandula submandibularis ve

glandula sublingualise ait parasempatik lifleri getirdiği gibi dildeki tat alma papillalarına da bu duyu ile ilgili sinir liflerini ulaştırır. Dile girip uç dallarına ayrılan sinir, dil sırtında sulkus terminalisin önünde kalan kısmı örten mukozada ve ağız döşemesinde dağılır. Dilin 2/3 ön bölümünün duysal innervasyonunu sağlar (23).

N. aurikulotemporalis, foramen ovale'den çıktıktan sonra çene ekleminin arkasında dışa doğru uzanır ve glandula parotisin içine girerek bez içinde yukarı ve dış yana doğru ilerleyip dış kulak yolu ile çene eklemi arasında yüzeyselleşerek rejio temporalis derisine duysal dallar verip sonlanır. Bu sinir alt tükrük merkezinden ganglion otikum aracılığı ile gelen ve glandula parotise giden parasempatik lifler de taşır. Diğer dalları nn. auriculares tragus derisinde dağılır. N. meatus akustikus eksternus, dış kulak yolu derisinde ve timpanik membranın dış yüzünde dağılır. Rr. parotidei parotis'e sekretomotor lifler verir. rr.comm dalları, n. aurikulotemporalisi N. fasiyalis ile birleştirir.

N. alveolaris inferior, n. mandibularis'in en kalın dalıdır. Motor ve duysal lifler içeren bu sinir n. lingualis etrafından m. pterigoideus medialisin alt kenarını dolanarak m. mylohyoideus'u innerve eden n. mylohyoideus motor dalını verdikten sonra, foramen mandibula içine girerek mandibular kanala ulaşır. Kanalis mandibularis'te yerleşmiş olan bu sinir pleksus dentalis (alveolaris) inferior'u oluşturur. rr. dentales inferior ve rr. gingivales inferior dallarını vererek alt çene dişleri ve dişetinde dağılır. Sinir foramen mentaleden çıkmadan önce, kesici dişlere giden n. insisivus dalını verir. Terminal dalı n. mentalis olup foramen mentalisten çıkararak vermiş olduğu rr. mentales ve rr. labiales inferior ile alt çene ucu derisi ile alt dudak derisi ve mukozasına dağılır (20,23).





Şekil 2: Mandibular sinir ve dalları

#### 2.1.4. Mental Sinirin Önemi

Mental foramen (MF), mandibular kanalın mandibula korpusunun ön yüzünden açılan, çene ve alt ön dudak bölgesini besleyen ve bu bölgenin duyuşal innervasyonunu sağ layan damar ve sinir paketinin çıktığı anatomik oluşumdur. Foramenin açılış doğ rultusu posterior yönde dışarı ve yukarı doğ ru olacak şekilde dir. Radyografilerde genellikle alt premolar diş ler bölgesinde radyolüsent bir saha olarak görülür(26,27). Foramen mentale genellikle 2. küçük azı diş lerinin apeksi hizasında konumlanır. Ancak mandibular diş lerle iliş kisi etnik gruplara göre veya kiş iden kiş iye farklılık gösterebilir. Yaş ile lokalizasyonu değ iş ebilir(28). Yaş lanmayla orantılı olarak distale kaydığı belirtilmiş , bu olaya da diş lerin mezialize olması ve yaş lanma ile ilgili atrisyonun sebep olabileceğı öne sürülmüş tür (29). Mental foramen yetiş kinlerde genellikle mandibula korpusunun alt ve üst sınırı arasındaki mesafenin orta hizasında konumlanır. Çocuklukta mandibulanın alt sınırına daha yakınken, dişsiz mandibulada üst sınıra daha yakındır (27)

Mental foramen çapı yapılan çalışmalar doğrultusunda ortalama 2.1-3.9 mm olarak rapor edilmiştir. Mental foramenin simfiz, ramus, mandibulanın alt ve üst sınırına olan uzaklığını ölçen çalışmalar bu değerleri ortalama 25 mm, 69 mm ve 14 mm olduğunu bildirmişlerdir. 60+ yaş grubunda MF4'ün azaldığı görülmüştür. Bunun diş kaybıyla ilişkili kemik rezorbsiyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Mental foramen kanin ve 1.premolar arasında gözlenir. Ayrıca sıklıkla mental foramenin birinci ve ikinci küçük azı dişleri arasında ve ikinci küçük azı dişinde yer aldığı bildirilmektedir (30). Literatürde, yapılan bir çalışmada, mental foramenin mandibulada farklı şekillerde bulunabileceği rapor edilmiştir. Bu şekillerin %43,8'i yuvarlak ve %56,3'ü oval olarak bildirilmiştir (31).

Mental foramenin yanında aksesuar foraminaller bulunabilmektedir. Sawyer ve ark. foraminallerin birden fazla olabileceğini bildirmişlerdir(32). Yapılan bir başka çalışmada ise, Asya'daki 110 kadavra kafatası incelemesinde iki mental foramen görülme sıklığı %1,8 olarak rapor edilmiştir. Mental foramenlerin radyografik değerlendirmesinin dikkatli bir şekilde yapılması gerekmektedir. Jacobs ve ark 545 kişide yaptıkları çalışmada, mental foramenlerin panoramik radyografilerde %94' ünün tespit edilebildiğini, ancak net görüşün sadece %49' unda ulaşılabildiğini bildirmişlerdir (33).

Literatürde mental foramenin farklı popülasyondaki pozisyonunu ve anatomik varyasyonunu gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. Mental foramenin yanında aksesuar foraminaller (AMF) bulunabilmektedir. Direk ve ark. yaptıkları çalışmada değerlendirilen vakaların% 11'inde (% 7 erkek,% 4 kadın) 15 AMF görüldü; Toplam 100 olgunun% 8'i tek taraflı,% 3'ü çift taraflı ve% 1'i tek taraflı olarak bulundu(34).

Sağ tarafta %66,7 ve sol tarafta %33,3 oranında AMF görüldü. AMF'ler erkeklerde (dokuz AMF) ve sağ tarafta (on AMF) daha fazla bulundu. AMF mevcudiyet oranının Polinezyalıların (%12,5) (Riesenfeld 1956; Sawyer ve ark. 1998) ve Hintlilerin (%13)(Singh ve Srivastav 2010) çalışma sonuçlarına benzer, ancak Türk popülasyonunda yapılan BT temelli bir çalışmanın sonuçlarındaki değerler (%6.5, % 6.3) (Kalender ve ark. 2012; Goregen ve ark. 2013) yüksek tespit edilmiştir. Literatürdeki en yüksek oran (%55,5) Perulu bir popülasyonun koni ışın CT çalışmasında tespit edilmiştir (Cabanillas Padilla ve Quea Cahuana 2014) (35–39).

## **2.2. Oral ve Maksilofasiyal Bölgede Sinir Yaralanmalarının Nedenleri**

### **2.2.1. Lokal Anestezi Enjeksiyonuna Bağlı Gelişen Sinir Yaralanmaları**

Lokal anestezi enjeksiyonuna bağlı olarak gelişen sinir hasarı, en fazla inferior alveolar blokajını sağlamak için yapılan anestezi sırasında iğne, epinöral veya perinöral kanamaya bağlı kompresyon gibi fiziksel, hemoraji veya lokal anestetik madde içeriğine bağlı olarak kimyasal şekilde olabilir(40,41).

İAN Blokaj sırasında % 70 oranında en sık hasar gören sinir linguas siniridir. Herhangi bir sinir hasarının kalıcılığı hasarın şiddetine, hastanın yaşına, hasardan sonra geçen süreye ve hasarın hücre gövdesine olan yakınlığına doğrudan bağlıdır(42).

### **2.2.2. Gömülü Diş Çekimine Bağlı Oluşan Sinir Yaralanmaları**

İAN ve lingual sinir yaralanmaları gömülü mandibular diş çekimi sırasında gözlenen en sık komplikasyonlardan biridir. Literatürde gömülü diş çekimi sonrasında oluşan sinir hasarı oranı, %0,6 ile %23 arasında bildirilmektedir. Bu sinir hasarları, dizestezi, hipoestezi, hiperestezi veya anestezi tarzında kalıcı ya da geçici olarak izlenmektedir (43). Operasyon sırasında oluşabilecek sinir hasarı kullanılan tekniğe bağlıdır. Yapılan cerrahi yöntemin şekli, cerrahın el beceresi ve operasyon bölgesi sinir yaralanması için önemli etkenlerdir. Örnek olarak alt üçüncü moların cerrahi çekiminde, insizyon hattı lingualde konumlandırılırsa lingual sinir hasarı oluşabilmekte, bukkal bölgede ise mukoperiostal flebin kaldırılması aşamasında ise mental sinir yaralanması ile karşılaşılabilir. Üst çenede ise palatal flep kaldırılması aşamasında nazopalatin sinir hasarı gelişebilmektedir (44,45).

### **2.2.3. Dental İmplant Uygulaması Esnasında Oluşabilecek Sinir Hasarları**

İmplant cerrahisi sırasında karşılaşılabilecek en önemli komplikasyonlardan biri de kullanılan döner aletin yarattığı termal ya da mekanik travma sonucu sinir hasarı oluşmasıdır. Bu sinir hasarı doğrudan ya da dolaylı (kanama vb) yollardan olabilir. Mandibula posterior bölgede uygulanan implant cerrahisi sırasında kanalın üstündeki kortikal kemik delinerek inferior alveolar vene zarar verilmesi sonucu oluşan hemorajinin inferior alveolar sinire bası yapması sonucu kompartman sendromu olarakta adlandırılan uzun süreli bir dizestezi oluşabilmektedir(46). İmplant cerrahisi sonrası nöral sensoriyal bozukluklar, hafif paresteziden tam anesteziye kadar değişebilmektedir. Bazı çalışmalar kemik yoğunluğunun azaldığı yerlerde sinir basıncını önlemek için 1,5 mm'lik bir mesafe önermesine rağmen, implantın ucundan kanala en az 2 mm'lik bir güvenlik marjı, İAN'nin hasar görmesini önlemek için ideal olarak belirlemiştir (47).

### **2.2.4. Ortognatik Cerrahiye Bağlı Gelişen Sinir Yaralanmaları**

Bilateral sagittal split osteotomisi (BSSO); çenelerin kapanış problemlerini ve dentofasiyal şekil bozukluklarının tedavisinde en çok tercih edilen cerrahi tekniklerdendir. İlk defa Schuchardt (1942) tarafından önerilmiş ve daha sonradan Trauner ve Obwegeser (1957), DalPont (1961), Hunsuck (1968), Gallo ve ark. (1976) ve Epker (1977) tarafından modifiye edilmiştir (48). BSSO ile alt çene hem ileri hem geri şekilde hareket ettirilirken hem estetik hemde fonksiyonel açıdan çok başarılı sonuçlar elde edilmektedir ancak BSSO operasyonundan sonra İAN etkilenmesine bağlı olarak dudakta ve alt çene ucunda gerçekleşen his değişiklikleri en büyük dezavantajı olarak görülmektedir (49,50). Yapılan çalışmalarda BSSO sonrası görülen uzun dönem sinir disfonksiyonu komplikasyonları %5 ile %70 arasında seyretmektedir (51,52). Al-Bishri ve ark. BSSO ile alt çene ilerletme yaptıkları hastalar üzerinde yaptıkları anketlerde, girişimden bir yıl sonra 101 alt çenenin % 36'sında İAN'e bağlı his değ işikliklerinin halen devam etmekte olduğunu saptamışlar, lingual sinirin ise % 0.5 oranında etkilendiğini bildirmişlerdir (53). Van Sickels ve ark. sadece BSSO ya da BSSO ve genioplasti girişimlerini beraber uyguladıkları 85 hastayı iki yıl boyunca

takip ederek yaş, ilerletme miktarı ve genioplasti operasyonun his değişikliği üzerine etkilerini incelemişlerdir. Bu üç etkininde his kaybını arttırdığı özellikle 35 yaş üstü hastalarda ve 7mm'den fazla ilerletme olan vakaların his kaybı açısından daha yüksek riskli olduğunu belirtmişlerdir (54). Tyhgesen ve ark. buna ilaveten 6 ve 10 mm arasındaki ilerletmelerden sonra yapılan iki nokta ayırma testlerinde saptanan his kaybının daha yüksek olduğunu, ancak, bunun hastanın girişim öncesi bulguları ile birlikte değerlendirilmesi gerektiğini öne sürmüştür(55). Le Fort I osteotomisi ile en fazla yaralanan sinir, infraorbital sinirdir. İnfraorbital sinir hasarıyla birlikte üst dudak, alt göz kapağı ve burun lateralinde duyu fonksiyonunda kayıp görülür. Üst çenede yapılan kesi hattının yüksek olması, yumuşak dokunun ekarte edildiği sırada sinire olan baskı, yanlış yerleştirilen fiksasyon vidaları gibi sebeplerden dolayı infraorbital sinir hasarı oluşabilmektedir ancak bu hasarlar genellikle kompresyon tarzında olduğu için kalıcı bir hasar söz konusu nadir olarak görülür (56).

#### **2.2.5. Maksillofasiyal Travma Kaynaklı Sinir Yaralanmaları**

Litaratürde maksillofasiyel travma kaynaklı sinir hasarları hakkında çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bunun sebebi travmaya maruz kalan hastalarının akut aşamada duyuşal kayıplarını şikayet etmemeleri ve sonrasında takibinin yapılmamasıdır. Cerrahların öncelikli olarak travma kaynaklı kırık tamirine odaklanmaları, duyuşal kayıpların ikinci planda kalmasına sebep olmaktadır. Araştırmacılar mandibula korpus ve angulus kırıklarından sonra, inferior alveolar ve mental sinirde %76-91 oranında yaralanma olduğunu rapor etmişlerdir. Bu hastalardan tedavi edilmiş olanlarının 1 yıllık takibi sonrası, %32-67'sinde oluşan sinir hasarının kalıcı olduğunu kaydedilmiştir. (57). Duyusal kaybın kalıcı olması, kırık deplasman şiddetine, travma anı ve tedavisi arasındaki zamana ve kırık onarım tekniğine bağlıdır. Yapılan çalışmalarda, deplase olmamış alt çene kırıklarında kırık tedavisi öncesi duyuşal nöropati % 25 iken, 5 mm'den fazla deplase olmuş alt çene kırıklarında bu oran %73,5'e yükselmektedir. Alt çene kırıklarında kapalı redüksiyonun, açık redüksiyona kıyasla daha az nöropati gözleendiğini bildirilmiştir (58).

## **2.2.6. Temporomandibular Eklem Cerrahisi Sırasında Oluşan Sinir**

### **Yaralanmaları**

TME cerrahisi sırasında fasiyal sinir ve dallarında, inferior alveoler, lingual, bukkal ve aurikulatemporal sinirlerde hasar görülebileceği literatürde bildirilmiştir (59,60). Fasiyal sinirin mimik kaslarının motor inervasyonunun yanında tat alma, lakrimasyon ve salivasyon gibi fonksiyonlarında bulunmasından kaynaklı cerrahi sonrasında klinik olarak hastaların en çok problem yaşadığı durum fasiyal sinir yaralanmasıdır. Hem fonksiyonel hem de estetik kayıp yaşanmasından dolayı hastaların yaşam kalitesi ciddi ölçüde düşmektedir. Fasiyal sinirin dallarının arasında en sık hasar gören temporal dalı olmakla birlikte genellikle zigomatik ve temporal dalları hasar görmektedir (61,62). TME cerrahisi sırasında oluşan hasarların büyük bölümü doku ekartasyonu sırasında uygulanan fazla kuvvetin sinir liflerindeki gerilime bağlı nöropraksi oluşumudur. Ayrıca operasyon sonrasında görülen ödem ve hematomdan kaynaklı sinir lifleri üzerindeki basısından dolayı geçici fasiyal sinir hasarı görülebilmektedir (63). Kondil kırıklarının cerrahi tedavisi sırasında, fasiyal sinirin dallarının hasar görme prevalansı %12-48 olarak bildirilmiştir (64,65). Literatürde TME cerrahisi sonrası fasiyal sinir hasarı insidansının ise %12,5-32 arasında değ işmekte olduğ u görülmekte ve bu durumun 3-6 ay içerisinde iyileştiği bildirilmiştir (61,62).

### **2.2.7. Diğer Nedenler**

Tonsillektomi, entübasyon, laringoskopi, submandibular bez operasyonu veya tükürük bezi cerrahisi sırasında Periferik sinir yaralanmalarının meydana gelebildiği i bildirilmiştir (66). Ayrıca periferik sinirin fiziksel hasarlanması travmatik nöroma formasyonuna neden olabilmektedir. Travmatik nöroma, endonöral, perinöral ve epinöral dokuların, Schwann hücresi ve aksonlarının neoplastik olmayan proliferasyonu olarak tanımlanmaktadır. Hücresel tamir ancak nöromanın çıkarılması ile gerçekleşebilmektedir (67).

### 2.3. Sinir Yaralanmalarının Sınıflandırılması

Sinir yaralanmalarının sınıflandırılması, sinir liflerinde ve trunkuslarda olan yapısal veya fonksiyonel değ işikliklere göre yapılabilmektedir. Sinir yaralanmalarına yönelik yapılan ilk sınıflama 1941 yılında Cohen isimli araştırmacı tarafından önerilmiş ve sonrasında 1943 yılında Seddon isimli araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Sınıflama sırasıyla nöropraksi, aksonotmezis ve nörotmezis olarak yapılmıştır (68). Sunderland 1951 yılında, Seddon tarafından raporlanan sınıflamayı detaylandırarak 5 gruba ayırmış ve 1'den 5'e kadar derecelendirmiştir. Mackinnon 1988 yılında, Sunderland tarafından revize edilen sınıflamaya 6. derece sinir hasarını da eklemiştir (69,70). Seddon ve Sunderland tarafından önerilen sınıflandırma günümüzde en çok kabul gören sınıflandırmadır (71–74).

#### 2.3.1. Seddon Sınıflaması

1943 yılında Seddon tarafından bildirilen sınıflama sinir hasarının şiddetine göre nöropraksi, aksonotmezis ve nörotmezis terimlerini kullanarak üç başlık altında toplamıştır. Bu sınıflama geniş oranda kabul görmekte ve rehber olarak kullanılmaktadır.

**Nöropraksi:** Sinir dokusunda tamamıyla bir motor paralizi bulunurken, duyu ve sempatik fonksiyonların ise çalışması ile tarif edilen en düşük derecede sinir yaralanması biçimidir. Sinir lifinde anatomik yapı bütünlüğü ve akson devamlılığı bulunmaktadır. Bununla birlikte, geçici olarak lokal sinir iletiminde kesinti söz konusudur (75). İyileşme miyelin kılıfta olan rejenerasyonun bitmesiyle tamamlanır ve bu süre beş günden üç aya kadar değişiklik göstermekle birlikte ortalama 6-8 hafta olarak bildirilmektedir. Klinik olarak sinir normal görülsede histoloji olarak incelendiğinde demiyelizasyon izlenmektedir (76). Nöropraksiste yalnızca demiyelizasyon izlenmesine rağmen görülen geçici fonksiyon kaybının nedeni hasarlı bölgede iyon iletiminde bir bariyer oluşması olduğu savunulmaktadır(74). Bu nöropatik olaylar sadece duyu ya da motor değ il her ikisinde oluşan kayıplar şeklinde görülebilmektedir. Hasar gören sinirin distal kısmı normal olup, kasların uyarılabilirliği devam etmektedir. Bu sebeple Wallerian dejenerasyonu (akson ve myelin kılıflarda dejenerasyon) gerçekleşmemektedir (77).

**Aksonotmezis:** Sinirde oluşan bu tip hasarlar şiddetli kompresyon veya gerilim sonucunda oluşabilmektedir. Yaralanma bölgesinde demiyelinizasyon görülür ve akson devamlılığı bozulur. Epinöriyum, endonöriyum, perinöriyum ve Schwann hücrelerinin bazal membranında ise hasar görülmez. Hasar bölgesinin distalinde Wallerian dejenerasyonu izlenir. Lezyonun proksimalinde ise aksonal tomurcuklanma oluşur. Sonuç olarak hasar oluşan sinirin distalinde tam bir duyu, motor ve otonomik fonksiyonda kayıp gerçekleşir. Wallerian dejenerasyonu oluşur fakat endonöral tüp normaldir. Endonöral tüp ve Schwann hücrelerinin bazal membranı bir rehber tüp görevi görerek Schwann hücrelerinin proliferasyonunu sağlar (78). Hasar görmemiş bu endonöral tüp boyunca miyelinizasyon gerçekleşmektedir. Aksonal büyüme ile kendiliğinden iyileşme görülür. Destek sağlayan bağ dokular sağlıklı olduğu için prognoz iyi olup ve fonksiyonel iyileşme tamamen sağlanabilmektedir. Aksonotmezisde hasar gören sinirin iyileşmesi ve fonksiyonların tekrardan kazanılması; terminal organ ile lezyon arasındaki uzaklığı, hastanın yaşına, yaralanmanın şiddetine ve rejenerasyon miktarına bağlıdır. Rejenerasyon, her gün 1-2 mm hızla gerçekleşir, fakat bu sürede kasların uyarılmaması sebebiyle atrofi oluşabilmektedir (69,78,79).

**Nörotmezis:** En ciddi sinir yaralanma şeklidir. Anatomik olarak incelendiğinde sinirde ciddi derece hasar izlenmektedir. Lezyonun distalinde daha fazla olmakla beraber proksimal tarafta da dejenerasyon izlenmektedir. Siniri oluşturan çoğunda veya tümünün devamlılığında dejenerasyon izlenmektedir. Sinirde tam kesik mevcut olabilir veya endonöriyum, epinöriyum ve perinöriyumda yaralanmalar mevcuttur. Lezyonun distal kısmında duyu, motor ve otonomik fonksiyonların tamamında kayıp izlenmektedir (68). Bu şekilde oluşan yaralanmalar genellikle traksiyon, laserasyon, ciddi ezilme, mermi yaralanmaları ve iskemik ya da kimyasal madde enjeksiyonu sonucunda gerçekleşmektedir. Ayrıca, sinir dokusuna infiltrat olmuş bir tümör veya skar dokusu ile de meydana gelebilmektedir (70). Oluşan bu skar nedeniyle aksonlar yeniden büyümeyi tetikleyecek yapılar oluşmaz. Aksonların yıkımıyla ve Wallerian dejenerasyonu sebebiyle oluşan iç yapısındaki dejenerasyondan kaynaklı sinirde fonksiyon görülmez. Endonöral kılıf yapısı farklı derecelerde hasara uğrar. Bu hasar ile kanama, ödem ve inflamasyon meydana gelir ve bunun sonucunda fibrozis gelişir



ve nöroma görülme ihtimali yüksektir (80). Bu tip hastalarda herhangi bir cerrahi girişim yapılmadan iyileşme sağlanamaz(69).

### 2.3.2. Sunderland Sınıflaması

1951 yılında Sunderland tarafından sinir dokusunda anatomik olarak meydana gelen 5 dereceden oluşan bir sınıflama yapmıştır (80,81).

1. Derece Hasar: Seddon sınıflamasındaki nöropraksi tarzı yaralanmaya tekabül etmektedir. Hasardan sonra sinir dokuda iletim kaybı olur ve demiyelinizasyon görülür, akson ve kılıf bütünlüğü sağlamdır. Wallerian dejenerasyonu oluşmaz. İyileşme spontane olarak gerçekleşir.

2. Derece Hasar: Seddon sınıflamasındaki aksonotmezise tekabül eder. Hasara uğrayan bölgede sinir kılıfı sağlamken akson bütünlüğü kesitiye uğramıştır. Distal segmentte Wallerian dejenerasyonu izlenir. Endonöral tüp ve Schwann hücre membranının sağlam olmasından dolayı iyileşme spontane olarak gerçekleşir.

3. Derece Hasar: Seddon sınıflamasında aksonotmezis ve nörotmezis karışımına tekabül eder. Epinöryum ve perinöryum sağlamken endonöryum, Schwann hücreleri ve akson devamlılığı hasara uğramıştır. İç yapının bu denli bozulması şiddetli kompresyon ile gerçekleşir. İyileşme endonöryumdaki hasarın boyutuna bağlı olarak gelişir. Lezyonun distalinde Wallerian dejenerasyonu izlenir. Endonöryum ve Schwann hücre kılıfı hasar gördüğünden dolayı tam bir iyileşmeden söz edilemez.

4. Derece Hasar: Sinirin epinöryum haricindeki tüm dokularında, hasar görülür. Sinir bütünlüğü devamlılığı bulunsada, hasar sonrası oluşacak olan fibrozis, sinirin rejenerasyonunu engellemektedir. Bunun sonucunda nöroma formasyonu meydana gelmektedir. Spontan olarak iyileşme çok nadirdir. Tinel bulgusu yaralanan bölgede görülür, fakat skar dokusunun, rejenerasyonu bloke etmesi sebebiyle distale doğru ilerleyemez. Bu tip yaralanmalar, ezilme, koter yaralanması, gerilim ve traksiyon ile oluşmaktadır (76,80).

5. Derece hasar: Sinirin tüm dokularında devamlılık bozulmuş olup tam bir sinir kesisi mevcuttur. Cerrahi onarım ya da greftleme işlemi yapılmadan, iyileşme görülmez (71,73). Bu tip hasarlarda aksonal rejenerasyonun prognozu kötüdür ve cerrahi onarım şarttır.

Mackinnon bu sınıflamaya bir ek yaparak 6.derece sinir hasarını miks bir tip olarak, aynı sinir dokusu boyunca farklı seviye ve derecelerde hasar olarak tanımlamıştır.

#### **2.4. Sinir Hasarı Sonrası Meydana Gelen Değ işiklikler ve Rejenerasyon**

Bir periferik sinir, travmatik bir hasardan sonra yaralanma bölgesinde morfolojik ve metabolik değ işiklikleri içeren karmaşık patofizyolojik değ işiklikler meydana gelmektedir. Bu değ işiklikler sinir hücresinin gövdesi, distali ve proksimali, kas hemde duyusal reseptörlerin distal uçlarında görülür. Bu değ işiklikler hasarın oluşmasının hemen arkasından başlar (82). Periferik sinir sisteminde santral sinir sisteminden farklı olarak hem dejenerasyon hem de rejenerasyon görülür ancak bu rejenerasyon mitoz ve hücre proliferasyonu ile değil hücresel düzeyde restorasyonla gerçekleşmektedir (83,84). Periferik sinir rejenerasyonunda makrofajlar, fibroblastlar, inflamatuvar hücreler, nörotropik faktörler gibi pek çok etmen rol oynamaktadır. Periferik hasar sonrasında wallerian dejenerasyonu, aksonal dejenerasyon ve segmental dejenerasyon olmak üzere üç temel nöronal yanıt oluşur.

**Wallerian dejenerasyonu:** Kalsiyuma bağı lı olarak oluşan dejenerasyondur. Periferik sinirin aksonunun herhangi bir yerinde herhangi bir nedenle (travma, infarktüs, uzamış veya şiddetli baskı gibi) hasarlanması sonucu lezyonun proksimalinde akson sağ lam kalır, distal aksonda ise akson ve myelinde fiziksel parçalanma oluşur. Daha sonra schwann hücreleri ve hasarın olduğu bölgeye göç eden makrofajlar dejenere olan akson ve myelini temizlerler. Bu durum, aksonun hasarlandığı yerin, sinirin distaline yakınlığı ile orantılı olarak 4-11 günde gelişir.

**Aksonal dejenerasyon:** Nedeni genellikle metaboliktir. Periferik sinir gövdesinin veya aksonunun hasarı söz konusudur. Rahatsızlık periferik sinir hücre gövdesini doğrudan etkileyen bir nedenle ya da aksonun bütününe etkileyen bir nedenle de olabilir. Hücre canlılığını kaybettiği takdirde geri dönüşten söz edilemez. Akson bütünlüğünün durumuna göre haftalar ya da aylar içinde rejenerasyon gerçekleşebilir.

**Segmental demiyelinizasyon:** Miyelinli sinir lifinde, periferik sinir aksonunda hasar olmaksızın etrafındaki Schwann hücresinde ve/veya miyelin kılıfında hasar söz konusudur. Etken ortadan kalktığı anda 15 gün ila 6 ay arasında remiyelinizasyon tamamen sağlanır (85).

#### **2.4.1. Sinir Hücre Gövdesinde Meydana Gelen Değişiklikler**

Akson hasarının hemen ardından ilk 6 saatte görülen kromatoliz sırasında, sinir hücre gövdesi hacimsel olarak artmaya başlar. Ardından nissl cisimcikleri ve granüllü endoplazmik retikulumlar yıkılmaya başlar. Yıkılan nissl cisimcikleri sitoplazma merkezinde kaybolurlar ve böylelikle bazofili azalır. Tüm bunlardan dolayı artık sinir hücresi şişerek çekirdeği periferik doğru itmiştir. Hasara uğrayan sinir hücresinde miyelin kılıf 36-48 saat içinde aksondan belirgin bir şekilde ayrılmaya başlar. Aksonda variköz şişlikler meydana gelirken nörotübül ve nörofilamentler düzensizleşir. Vakualize olmuş bu aksonlar Ghost hücresi olarak da tanımlanır (86). Bu dejeneratif değişikliklerin ardından 48-96 saat içinde devamlılığını yitiren aksonda iletim bozulur. Bu hücresel değişiklikler, sinir yaralanması sonrası 2. ve 3. haftalarda en yüksek değerine ulaşmaktadır (87,88). Kromatoliz ile hücre kendi kendini tamir etmeye başlar, fakat hücre gövdesine yakın hasarlarda hücre ölümü oluşmaktadır (89-91).

#### **2.4.2. Proksimal Segmentte Meydana Gelen Değişiklikler**

Sinir hasar bölgesinin proksimalinde, distal segmentteki gibi bir dejenerasyon izlenir. Schwann hücreleri hasar bölgesinin yakınındaki proksimal segment boyunca parçalanır. Akson ve miyelinin gözle görülür şekilde çapı azalır. Bu proksimal

bozulma minimal olabilir veya hücre gövdesine kadar uzanabilir. Sinir hasarından 24 saat sonra rejenerasyon ünitesi denilen proksimal segmentte terminal ve kollateral bir tomurcuklanma görülür. Her tomurcuğun ucu büyüme hunisi ismini alır (87,91). Büyüme konisinin içinde aktif ve miyozin filamanları bulunur. Filapoid çıkıntıları sayesinde hareketlilik kazanır. Nörotrpizim, büyüme konisinin, distal segmentteki Schwann hücre kolonları büngner bantlarına ve hücrenin bazal laminasındaki laminin ve fibronektine olan afinitesi olarak tanımlanır ve bu tomurcuklanma büyüme yönünü belirler (89,91,92).

#### **2.4.3. Distal Segmentte Meydana Gelen Değişiklikler**

Sinir hasarı oluştuktan sonra, distal segmentin akson ve myelin kılıfında dejeneratif değişiklikler görülür ve bu olaya Wallerian dejenerasyonu denir. Waller adlı araştırmacı tarafından 1850 yılında tanımlanmıştır. Wallerian dejenerasyonu ile akson ve miyelin kökenli maddeler temizlenirken, rejenere olmaya başlayan aksonun büyümesi için de uygun bir saha oluşturulur (93). Hasarın ilk 24 saati içinde Schwann hücrelerinde nükleer genişleme, sitoplazmik genişleme ve mitoz artışı meydana gelir (88,94,95). Distal segmentte artan bu Schwann hücreleri fagositik hücre özelliklerini kazanarak fagositoz yapar, hücrenin çekirdeğinin heterokromatin artışına bağlı olarak piknotik hale gelir. Piknotik çekirdek, mavi mor koyu boyanır hiperkromatik çekirdek olarak da tanımlanır. Aksonal hasarın algılanmasından sonra Schwann hücreleri enflamasyon başlatan sitokinler ve kemokinler salınması yoluyla makrofajları hasar bölgesine toplar. Makrofajlar ve Schwann hücreleri, myelini fagosite eder. Total debrisin temizlenmesi ise birkaç ay sürebilmektedir (87,93).

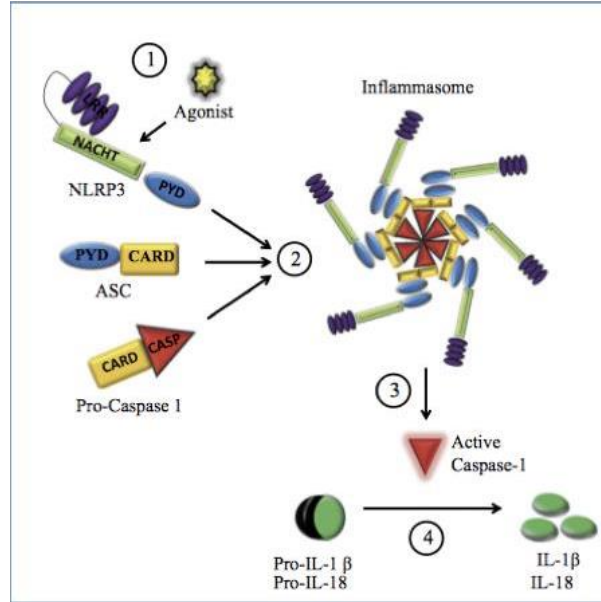
#### **2.4.4. Sinir hasarında inflamazomların rolü**

İnflamasyon, infeksiyon ve hasara karşı immün sistemin fizyolojik bir cevabıdır. İnflamasyonun tüm mediatörleri içerisinde, İnterlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) önemli bir pro-inflamatuar mediatör olup; mikroorganizmalar, bakteriyel toksinler, kompleman faktörleri veya doku yaralanması gibi patojenle bağlantılı moleküler paternlere (PAMP) veya hasarla bağlantılı moleküler paternlere (DAMP) bir cevap olarak makrofajlar, fibroblastlar, osteoblastlar, epitel hücreleri gibi hücreler tarafından üretilirler ve dolaşımdaki lökositler için adezyon moleküllerinin salgılanmasını ve

kemik iliğinden lökosit ve trombositlerin dolaşıma geçmesini sağlarlar (96). IL-1 $\beta$  pro-IL-1 $\beta$  olarak da adlandırılan inaktif bir 31-kDa prekürsör olarak üretilir. PAMP ve DAMP'lar makrofaj membranındaki patern tanıma reseptörleri (PRR) aracılığıyla fonksiyon görürler (97,98). PRR'ler vasıtasıyla, doğal immün sistem, mantar, bitki ve hayvan hücrelerindeki moleküler yapıları tanır. Doğal immün sistemde temel dört PRR ailesi mevcuttur (99). Bunlar; Toll-benzeri reseptörler (TLR), RIG-I-benzeri reseptörler (RLR), C-tipi lektin reseptörler (CLR) ve NOD benzeri reseptörler (NLR) dir. İnflamatuar hücreler tarafından IL-1 $\beta$  üretimi inflamazom adı verilen ve temel görevi kaspaz-1'in aktivasyonu olan bir multiprotein kompleksi tarafından düzenlenmektedir (100). İnflamazom kompleksi, sıklıkla NLR ailesinin üyelerinden bir PRR, bir adaptör protein olan ASC [apoptosis- related speck like protein containing a CARD (caspase activation and recruitment domain)] ve kaspaz-1'in aktif formundan meydana gelir (101). Ligandı ile bağlanan NLR oligomerize olur ve protein-bölge etkileşimleriyle ASC adaptör proteinine bağlanır. ASC ise CARD bölgesiyle pro-kaspaz-1'i biyolojik olarak aktif kaspaz-1'e dönüştürür. Aktif kaspaz-1 ise IL-1 $\beta$ , IL-18 ve IL-33 sitokinlerinin öncül formlarını proteolitik olarak keser ve matür formlarına dönüştürür. Günümüzde en bilinen inflamazom NLRP3 inflamazomu olup, DAMP sinyallerinin genel bir sensörü olduğu düşünülmektedir. NLRP3, NF- $\kappa$ B'yi ve kaspaz-1'i aktifleyebilmek için PYD-PYD etkileşimine ve bunların etkileşmesi için de bir aracı molekül olan ASC'ye ihtiyaç duymaktadır (102,103). İnflamazomların regülasyonu çeşitli yapılar tarafından kontrol edilmektedir. Pyrin-only proteinler (POP) ve Card-only protein ailelerinin (COP) inflamazom aktivasyonunun potansiyel modülatörü olduğu bildirilmiştir (104). Çünkü inflamazomların modülasyon yolunun Pyrin ve CARD homodomain etkileşim bölgelerinin bozulmasıyla olabileceği düşünülmektedir. Çalışmalar sinir hasarının tedavisinin inflamatuvar cevap ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Özellikle IL-1 $\beta$  ekspresyonunun spinal kord hasarı, siatik sinir hasarı ve parsiyel siatik sinir hasarı sonrasında önemli oranda artışı gözlenmiştir (105–107). NLRP3 inflamazomunun siatik sinir hasarı sonrası active olduğu ayrıca ASC ve IL-1 $\beta$  düzeylerinde gen ekspresyon düzeylerinde artış gözlenmiştir. Dolayısıyla inflamazom ve IL-1 $\beta$ 'in sinir hasarlarında bir rolü olabileceği düşünülmektedir (108).

Travmatik beyin hasarları sonrası IL-1 $\beta$  düzeyindeki artışın hasardan 6 saat sonra artmaya başladığı ve normal düzeylerine 24 ile 30 gün arasında dönebildiği

saptanmıştır (109). IL-1 $\beta$  nöronal ve miyelin kaybını, kan beyin bariyeri pertürbasyonunu ve ileri kalıcı inflamasyonu tetikleyen bir inflamatuvar sitokin olup reseptörleri astrosit, mikroglia ve makrofajlarda saptanmıştır (110). IL-1R1'nin tip 1 IL-1 reseptörüne (IL-1R1) bağlanması ve ilgili yolağın bloklanması IL-1R antagonistleri sayesinde sağlandığı gösterilmiştir (111). IL-1Ra'nın recombinant bir formu olan Kineret'in artirit tedavisinde IL-1 $\beta$  reseptörünü ve bağlanmasını engelleyerek klinik fayda sağladığı bildirilmiştir (112). Travmatik beyin hasarlarında hasarın şiddetinden bağımsız olarak IL-1 $\beta$  düzeylerini önemli oranda artırdığı görülmüştür (113). Daha önceki çalışmalarda Kineret'in travmatik beyin hasarına bağlı ortaya çıkan olumsuz etkilerinin Kineret sayesinde normale döndürüldüğü in vivo olarak gösterilmiştir (109).



Şekil 3: İnflamazomun şematiği yapısı.

## 2.5. İnflamazomlar

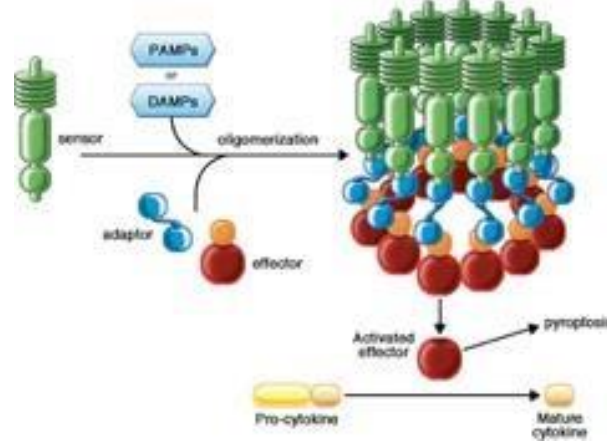
İlkel canlılardan insanlara kadar bütün omurgalıları patojenlere karşı kendilerini korumak için doğal ve adaptif bağışıklık sistemlerine sahiptirler. Doğuştan gelen bağışıklık sistemi, organizmada savunmanın ilk hattıdır ve genetik olarak kodlanmış pattern tanıma reseptörleri'ne (PRR'ler) sahiptirler. PRR'ler, patojenler, ölü hücreler veya toksik metabolik, inflamatuvar hemostaz molekülleri gibi zararlı uyarılara yanıt olarak immün sistemi aktive eder. PRR'ler hücrede lokalizasyonlarına bağlı olarak iki

ana sınıfa ayrılır. Bunlar hücre zarının dış yüzeyindedir ya da sitozoldedir. Toll-like reseptörler (TLR'ler) ve C-tipi lektin reseptörleri (CLR'ler), plazma zarında ve endozomlarda bulunan zar dışı proteinlerdir ve hücre dışı ortamda PAMP'ları tanırlar. İkinci bir PRR sınıfı, hücre içi birimlerde bulunur ve RIG-1 benzeri reseptör (RLR), AIM2 benzeri reseptör (ALR) ve nükleotit bağlayıcı domeyn ve lösin açısından zengin tekrar içeren (NLR) ailesi proteinlerini içerir(114). PAMP, DAMP'larla karşılaşan birçok PRR, nükleer faktör-kB (NF-kB), aktivatör proteini 1 (AP1) ve interferon düzenleyici faktörler (IRF'ler) ile gen transkripsiyonunu destekleyen sinyal kaskadlarını tetikler. Hedef genler sitokinleri, interferonları ve diğer proinflamatuvar veya anti-mikrobisidal proteinleri kodlar. Bir dizi NLR ve ALR ayrı bir savunma mekanizmasını tetikler. Bu proteinler, proinflamatuvar kaspazlar 1 ve 11'i aktive etmek için inflamazom adı verilen sitozolik protein komplekslerinin bir araya gelmesi ile oluşmaktadır. İnflamazom terminolojisi ilk olarak 2002 yılında Tschopp grubu tarafından pro-IL-1 $\beta$  işleminde yer alan bir protein kompleksini tanımlamak için önerilmiştir (115)

İnflamazomlar, enfeksiyona sebep olan mikroorganizmalara, konak proteinlerinden oluşan moleküllere, mikrobiom canlılarına (MAMP) ve inflamatuvar hemostaz moleküllerine (HAMP) karşı inflamasyonun başlatılması ve kaspaz-1 aktivasyonunun düzenlenmesinde görevli olan çok önemli doğal bağışıklık sistemi elemanlarıdır (116). Sensör reseptör, adaptör ve efektör proteinlerin bir araya gelmesi sonucunda oluşan sitozolik çoklu protein kompleksi olarak ifade edilirler. PRR'ler, endojen stres tarafından üretilen patojene bağlı moleküler paternler (PAMP'ler) veya hasara bağlı moleküler paternler (DAMP'ler) olarak adlandırılan ve enfeksiyonu ortadan kaldırmak ve hasarlı dokuları onarmak için inflamatuvar yolları tetikleyen patojenik bileşenleri tanırlar (117).

İnflamatuvar kaspaz-1'i aktive eden hücre içi yaklaşık 50 adet multimerik protein kompleksi olan inflamazomların aktivasyonu, büyük bir intrasellüler inflamatuvar yolaktır. Bu yolakta inflamazom sistemini oluşturan proteinler benzer domeynlere sahiptirler. Ölüm domeyni (DD), ölüm efektör domeyni (DED'ler), kaspaz birleşim domeyni (CARD'lar) ve pirin domeyni (PYD'ler) içeren dört protein ailesi bulunmaktadır. Bu alt ailelerden ikisi, yani CARD'lar ve PYD'ler, homotipik

protein-protein etkileşimleri yoluyla inflamazomların oluşmasında kritik roller oynarlar.<sup>5</sup>

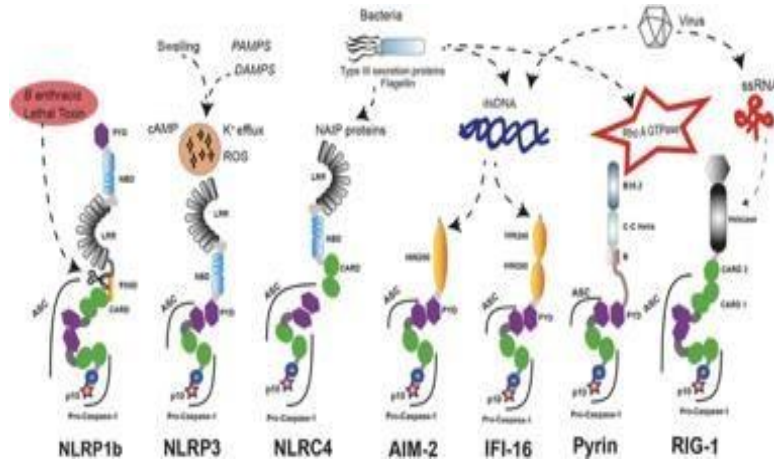


Şekil 4: Genel inflamazom şeması. (118)

Bir inflamazom, PAMP, DAMP, MUMP ve HUMP'larla yanıt olarak pro-kaspaz-1'i aktive edebilecek bir platform oluşturmak için oligomerize olan kendi sensör proteini olan PRR adı ile tanımlanır. Prokaspazların enzimatik olarak aktif proteazlara hızlı dönüşümü, proinflamatuvar IL-1 $\beta$ , IL-18 ve pro IL-33 üretimi ve hücrenin inflamatuvar ölümü olan piroptoz ile sonuçlanır (114,115). IL-1 $\beta$ , inflamatuvar yanıtların güçlü bir aracıdır. Sistemik olarak, IL-1 $\beta$  ateş, C-reaktif protein ve serum amiloid A içeren hepatik akut faz tepkisini indükler ve nötrofiliyi desteklemek için kemik iliğine etki eder (119). İnflamasyonlu dokularda lokal düzeyde, IL-1 $\beta$ , nötrofil migrasyonunu teşvik eden hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1), vasküler adhezyon molekülü-1 (VCAM-1), P-selektin ve E-selektin gibi hücre adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu indükler. Ek olarak, IL-1 $\beta$ , tümör nekroz faktörü TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi diğer inflamasyon araçlarının aktivasyonunu ve üretimini düzenlemek için doğrudan nötrofiller ve diğer lökosit popülasyonları üzerine de etki eder. Bu gözlemler IL-1 $\beta$ 'nin konakçı savunmasında bir rolü olduğunu ve aslında IL-1 $\beta$  eksik olan farelerin bakteri, virüs veya mantar enfeksiyonuna karşı yabancı tiplerinden daha duyarlı olduğuna dair kanıtların olduğunu düşündürmektedir (120).

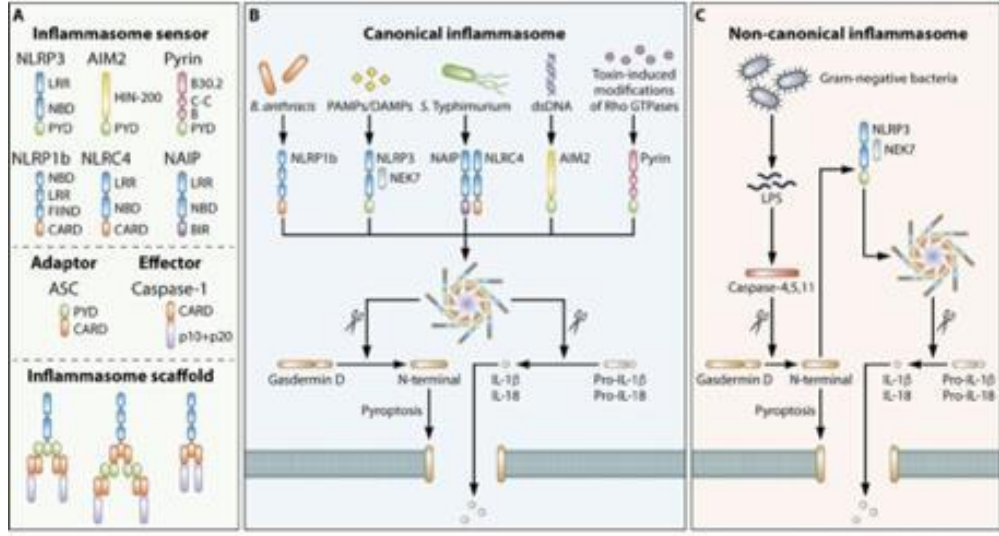


İnflamazomları oluşturan beş PRR üyesi vardır, bunlar: NOD ve lösinden zengin tekrarlar (LRR) içeren NLR üyeleri olan NLRP1, NLRP3 ve NLRC4 ve PYHIN üyesi absent-in-melanom 2 (AIM2) ve Pirindir. Ek olarak, NLRP2, NLRP6, NLRP7, NLRP12, RIG1 ve IFI16 gibi diğer PRR üyelerinin de inflamazomları oluşturduğu bildirilmiştir. RIG1 ve IFI16 inflamazom sistemi, intrasellüler nükleotidler, konak veya konakçıya ait DNA ve RNA parçacıklarını tanıyarak zararsızlaştıran sistem olarak bilinmektedirler (121).

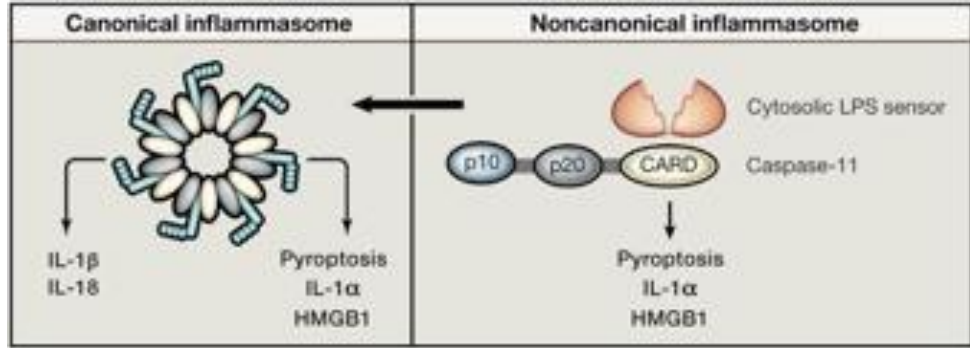


Şekil: İnflamazom tipleri

Bahsi geçen inflamazomlar kanonik olup, kaspaz-1, IL-1 $\beta$  ve IL-18'in proteolitik olgunlaşmasını ve ayrıca piroptoz (inflammatuar hücre ölümü) ve nekroptoz ( litik inflammatuar hücre ölümü) adı verilen hücre ölümünün hızlı, inflammatuar bir formunu düzenler. Nekroptoz, IL-1 $\beta$  ve IL-18'in salınımını düzenleyen gelişim, inflamasyon ve hastalık patogenezinde rol oynar. İnflamazomlar, duruma bağlı olarak inflammatuar bağışıklık yanıtını uyarıcı bir rol ve hastalık patogenezinde de aktif bir rol oynarlar. Son zamanlarda, proIL-1 $\alpha$ 'ı işleyebilen hücre içi LPS algılayan kaspaz- 11 dahil olmak üzere bir tür non- kanonik inflamazom da keşfedilmiştir (122).



Şekil 5: Kanonik ve kanonik olmayan inflamazom yanıtları.(123)



Şekil 6:Kanonik ve kanonik olmayan inflamazom yanıtları.(123)

Sitozolik LPS'ye yanıt olarak aktive edilen kanonik olmayan inflamazom, *Escherichia coli*, *Citrobacter rodentium*, *Vibrio cholera* ve sitozole giren diğer gram-negatif bakterilerle enfekte olmuş makrofajlarda kaspaz-11'in aktivasyonunu tetikler. Kaspaz-11, doğrudan IL-1α ve HMGB1'in hücre dışı salgısına ve piroptozu aracılık eder ve kanonik NLRP3 inflamazomununa birleşmesi yoluyla dolaylı olarak olgun IL-1β ve IL-18'in salgılanmasına neden olur.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Çalışma Dizaynı

Ağırlıkları 230 – 300 g arasında değişen toplam 120 adet Wistar Albino cinsi rat çalışmaya dahil edilmiştir. Hayvanlar su ve yiyeceğe serbest bir şekilde erişebilecekleri standart metal kafeslerde tutulmuş ve normal oda sıcaklığında olacak şekilde, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsüyle otomatize edilmiş odalarda deney süresi boyunca muhafaza edilmiştir.

Çalışmadaki örnek sayısı güç analizi yöntemi kullanılarak daha önceki benzer çalışmalardan da yola çıkılarak hesaplanmıştır(124). Her bir ana grupta 8 rat olmak üzere toplam 120 rat çalışmada kullanılmıştır.

Çalışma Helsinki Hayvan ve İnsan Araştırmaları Uygulama Prensipleri' ne uygun olarak gerçekleştirilmiş olup T.C Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onay almıştır(2021-042).

Hayvanlarda sinir hasarı erken ve geç dönem olmak üzere literatürde de uygulandığı üzere 2. gün ve 30. Günde incelenmiştir(124). Hayvanlar Kısa ve uzun dönem sinir hasarının etkilerini incelemek amacıyla rastgele 10 gruba ayrılmıştır.

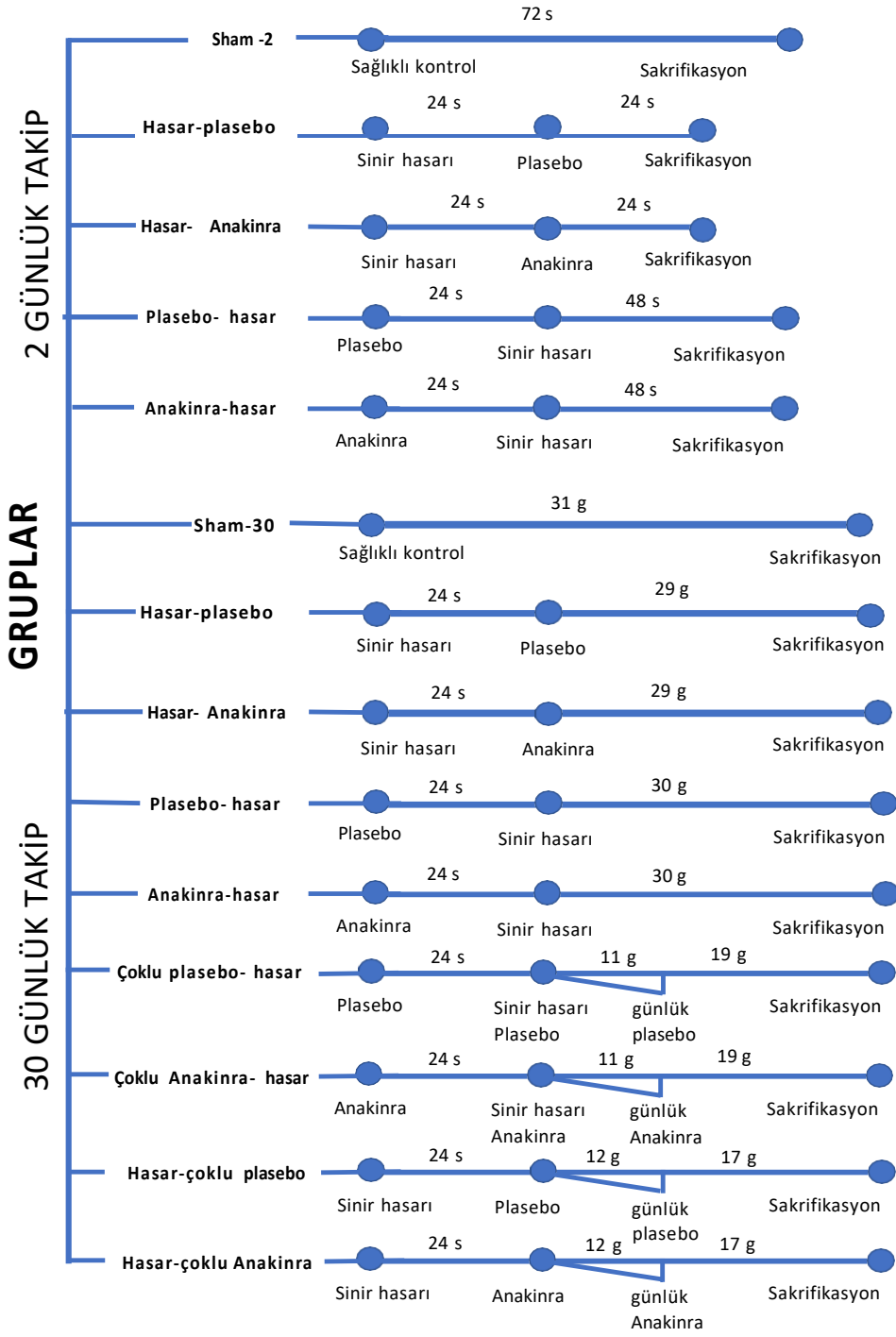
**Kısa dönemde (sinir hasarı sonrası 2 günlük takip):**

1. **Sham 2** (n=8): Sağlıklı kontrol 3 gün sonra sakrifiye edilmiştir.
2. **Hasar-plasebo** (n=8): Sinir hasarı oluşturduktan 24 saat sonra tek doz taşıyıcı olan plasebo uygulanmış ve hayvanlar sinir hasarından 48 saat sonra sakrifiye edilmiştir.
3. **Hasar-Anakinra** (n=8): Sinir hasarı oluşturduktan 24 saat sonra tek doz Anakinra uygulanmış ve hayvanlar sinir hasarından 48 saat sonra sakrifiye edilmiştir.
4. **Plasebo-hasar** (n=8): Sinir hasarı oluşturmadan 24 saat önce tek doz taşıyıcı olan plasebo uygulanmış ve hayvanlar sinir hasarından 48 saat sonra sakrifiye edilmiştir.
5. **Anakinra-hasar** (n=8): Sinir hasarı oluşturmadan 24 saat önce tek doz Anakinra uygulanmış ve hayvanlar sinir hasarından 48 saat sonra sakrifiye edilmiştir.

**Uzun dönemde (sinir hasarı sonrası 30 günlük takip):**

6. **Sham-30** (n=8): Sağlıklı kontrol 31 gün sonra sakrifiye edilmiştir.
7. **Hasar-plasebo** (n=8):: Sinir hasarı oluşturduktan 24 saat sonra tek doz taşıyıcı olan plasebo uygulanmış ve hayvanlar sinir hasarından 30 gün sonra sakrifiye edilmiştir.
8. **Hasar-Anakinra** (n=8): Sinir hasarı oluşturduktan 24 saat sonra tek doz Anakinra uygulanmış ve hayvanlar sinir hasarından 30 gün sonra sakrifiye edilmiştir.
9. **Plasebo-hasar** (n=8): Sinir hasarı oluşturmadan 24 saat önce tek doz taşıyıcı olan plasebo uygulanmış ve hayvanlar sinir hasarından 30 gün sonra sakrifiye edilmiştir.
10. **Anakinra-hasar** (n=8): Sinir hasarı oluşturmadan 24 saat önce tek doz Anakinra uygulanmış ve hayvanlar sinir hasarından 30 gün sonra sakrifiye edilmiştir.
11. **Çoklu plasebo-hasar** (n=8): Sinir hasarı oluşturmadan 24 saat önce tek doz taşıyıcı olan plasebo uygulanmış, hayvanlara sinir hasarı oluşturulan gün 1 doz daha uygulanmış ve günlük plasebo uygulaması 11 gün daha devam edip hayvanlar hasardan 30 gün sonra sakrifiye edilmiştir.
12. **Çoklu Anakinra-hasar** (n=8): Sinir hasarı oluşturmadan 24 saat önce tek doz Anakinra uygulanmış, hayvanlara sinir hasarı oluşturulan gün 1 doz daha uygulanmış ve günlük Anakinra uygulaması 11 gün daha devam edip hayvanlar hasardan 30 gün sonra sakrifiye edilmiştir.

13. **Hasar-çoklu plasebo (n=8):** Sinir hasarı oluşturulduktan 24 saat sonra taşıyıcı olan plasebo uygulanmış ve plasebo uygulaması 12 gün boyunca günlük olarak devam edip hayvanlar sinir hasarından 30 gün sonra sakrifiye edilmiştir.
14. **Hasar-çoklu Anakinra (n=8):** Sinir hasarı oluşturulduktan 24 saat sonra Anakinra uygulanmış ve Anakinra uygulaması 12 gün boyunca günlük olarak devam edip hayvanlar sinir hasarından 30 gün sonra sakrifiye edilmiştir.



Şekil 7: Çalışma gruplarına ait akış şeması

### **3.2. Sinir hasarı oluşturmak için kullanılan cerrahi yöntem**

Cerrahi işlemlerden önce deney hayvanlarına 90 mg/kg intramusküler ketamin hidroklorür (Ketalar; Pfizer, İstanbul, Türkiye) ve 10mg/kg xylazin (Rompun; Bayer, İstanbul, Turkey) genel anestezi sağlanmıştır. Ratlar genel anesteziye alındıktan sonra boyun bölgesi traş edilmiş, ardından denekler tespit tahtasına yerleştirilmiştir. Traş edilen bölgeye cerrahi alanın antisepsisini sağlamak amacıyla povidon-iyodin solüsyonu (Poviodex, Kimpa, Türkiye) uygulanmıştır. Gerekli asepsi, antisepsi ve sterilizasyon koşulları sağlandıktan sonra operasyon yapılmış alanın çevresine 0,5ml 1:200,000 epinefrin içeren artikain solüsyonuyla (Ultracain-DS hoechst Marion Roussel, İstanbul, Türkiye) lokal anestezi yapılmış, steril cerrahi örtülerle cerrahi alanın izolasyonu sağlanmış ve insizyon hattı belirlenmiştir. Boyun orta noktasından 1 cm uzunluğunda vertikal dermal insizyon yapıldıktan sonra cilt kenarları ekarte edilerek masseter kasına ulaşılmıştır. Masseter kası künt diseksiyonlarla aşılarak mental sinir açığa çıkarılmış, sinir mikrocerrahi penset ve mikrocerrahi makas yardımı ile dikkatli bir şekilde etraf dokulardan serbestleştirilmiştir. Anevrizma klipsi ile açığa çıkarılan sinir 60 saniye süresince kısırılarak ezilme tarzında sinir hasarı oluşturulmuştur. Cerrahi işlemler tamamlandıktan sonra 4/0 glikolid esaslı emilebilen süturla (Vicryl, Ethicon, Brüksel, Belçika) kas dokusu, ardından 4/0 ipek süturla (Doğsan, Türkiye) cilt dokusu basit suture tekniği ile suture edilmiş ve cerrahi alan kapatılmıştır. Cerrahi işlemin ardından enfeksiyon kontrolü için enrofloksasin (Baytril-K® 2,5 mg/kg IM) ve operasyon sonrası ağrının olmaması için meloksikam (Maxicam ®1mg/kg IM) enjeksiyonu yapılmıştır.





Resim 1: deney hayvanlarının cilt kesisi



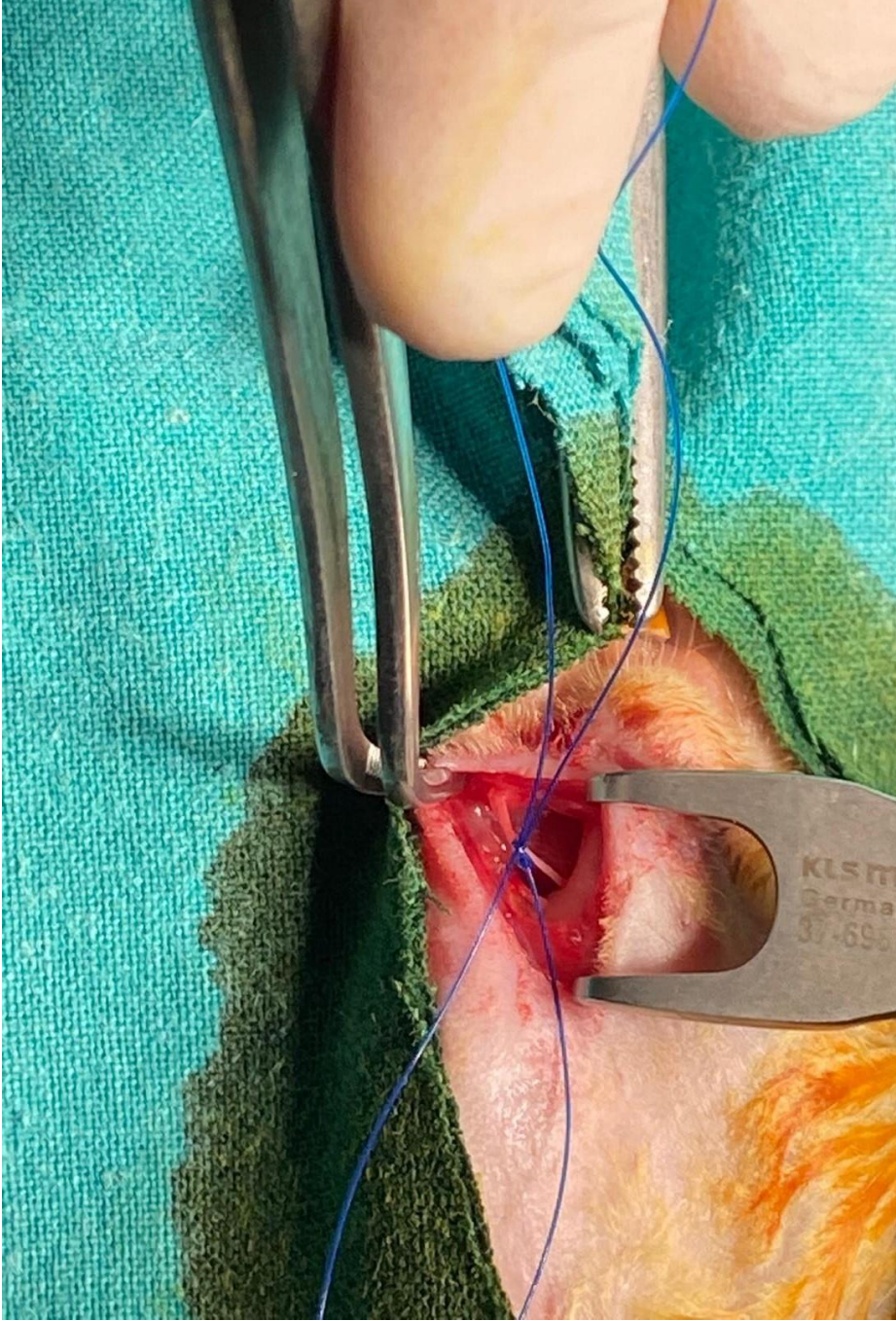


Resim 2: Mental sinirin açığa çıkarılması



Resim 3:mental sinirin dalları





Resim 4:mental sinirin prolen suture ile hasarlanması



Resim 5:hasara uğramış mental sinir





Resim 6:ciltin 6.0 vicryl suture ile kapatılması

### 3.3. II-1R Antagonistinin (Anakinra) Uygulanması

Çalışmadaki tek doz IL-RA (Anakinra) uygulanacak gruplara literatürde daha önce önerilen şekilde 75 mikrogram Anakinra subkutan olarak 1 kez uygulanmıştır(125). Kullanılacak olan 75 mikrogram Anakinra daha önceki klinik çalışmalarda da kullanılan doza benzer bir doz olduğu literatürde belirtilmiştir. Önceki çalışmalarda Anakinrain FDA onaylı bir ilaç olmasından ötürü güvenlik endişelerini minimize etmesinden ötürü uygulanmasına karar verilmiştir(125,126). Çalışmadaki çoklu doz Kineret uygulaması ise yine 75 mikrogram olarak toplam 13 doz olacak şekilde literatürde de belirtildiği şekilde uygulanmıştır. (125)



Resim 7: II-1R Antagonistini Anakinra'nın formu

### 3.4. Sakrifikasyon İşlemi

Hayvanlar genel anesteziye alındıktan sonra mental sinirleri toplanmış ve sonrasında sakrifikasyon işlemi hayvanlara servikal dislokasyon yapılarak gerçekleştirilmiştir.

### 3.5. Mental sinir örneklerinin toplanması

Hayvanların mental sinirleri toplanmış ve RNA koruyucu bir solüsyon içerisinde saklanmıştır. Toplanan örneklerden cDNA ve RNA eldesi sonrası inflamazomlardan NLRP3, inflamazom regülatörlerinden POP1, TRIM16, NEK7,

inflamazom partlarından olan ASC ve Caspase-1 ve inflamazomun etkilediği sitokin olan IL-1 $\beta$  gen ekspresyon düzeyleri için incelenmiştir.

### 3.6. Örneklerden RNA izolasyonu yapılması

Farelerden alınan doku örneklerinden elde edilecek RNA'nın bozulmasını engellemek amacıyla, bu doku örnekleri 500 $\mu$ l RNA Later solüsyonu içine +4°C koşullarında muhafaza edilmiştir. Doku örneklerinden yapılan RNA izolasyonu, gradiyent (Faz) ayırımına dayanan bir yöntem olan Trizol/Kloroform metodu ile manuel olarak gerçekleştirilmiştir. RNA izolasyonu aşağıdaki işlem basamakları ile gerçekleştirilmiştir;

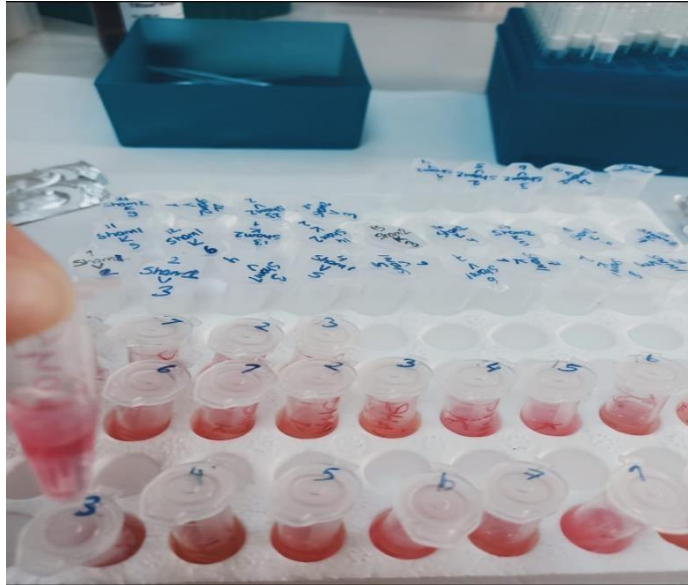
#### Hazırlık Aşaması:

- Çalışılacak yerde kontaminasyonu engellemek amacı ile alan dezenfekte edilir.
- %70 etil alkol hazırlanır.
- Kloform, İsopropil alkol, %70 etil alkol çalışma öncesinde soğutulmak amacı ile -20 derece derin dondurucuya konulur.
- Ependorf tüpler etiketlenir ve uygun sıra ile sporlara dizilir.
- Santrifüjün +4 dereceye gelmesi sağlanır.

#### İzolasyon Aşaması

- İlk olarak Propilen ependorf tüplerde bulunan ve +4 derecede muhafaza edilen RNA later'lı (Ambion RNAlater Solution, USA) fare sinir doku örnekleri oda koşullarında yaklaşık 10 dakika bekletilir.
- Daha sonrasında RNA Later'ı uzaklaştırmak için 14.000 rpm 10dk santrifüj edilerek RNA later mikropipet ile uzaklaştırılır.
- İçinde sadece fare sinir dokusu bulunan tüplerin üzerine 500 $\mu$ l Trizol(Ambion Trizol Reagent, USA) eklenir, RNase aktivitesini minimum derecede tutmak için kısa süreli vorteks (15-20 sn) ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilir.
- - 20 derece bulunan soğuk kloformdan 180 $\mu$ l eklenerek kısa süreli vorteks yapılır. 5 dk oda sıcaklığında yeniden inkübasyona bırakılır.
- Trizol-kloform karışımında gradiyent farkı yaratmak için 14.000 rpm 15 dk santrifüj işlemi yapılır. Bu işlem sonrasında RNA daha hafif bir molekül ağırlığına sahip olduğu için en üstte bulunan şeffaf fazda yer alır. DNA ve proteinler şeffaf fazın altında bulunan pembe bölgede bulunur.

- Ependorf tüpler santrifüjden faz ayrımını korumak için yavaşça ve nazikçe dikkatli bir şekilde çıkartılır. Üst faz (Şeffaf faz) yani RNA'nın bulunduğu bölüm başka bir ependorf tüpüne aktarılır.
- Bundan sonraki basamaklar RNA'nın presipitasyon ve yıkama basamaklarını içermektedir.
- RNA'nın çözünür halde bulunduğu ependorf'un içerisine 200µl soğuk isopropil alkol eklenir. 30 dk oda sıcaklığında inkübe edilir. Daha sonra 14.000 rpm 10 dk santrifüj yapılır. Bu basamaktan sonra RNA bir pellet şeklinde tüpün alt kısmında yer almaktadır. Ardından pellete zarar vermeden yavaşça isopropil alkol uzaklaştırılır.
- Yıkamak için 500µl soğuk % 70 etil alkol eklenir. 10 dk oda sıcaklığından inkübe edilir. Daha sonra 14.000 rpm 10 dk santrifüj yapılır. Ardından etil alkol uzaklaştırılır. Bu basamak 2 defa yapılır.
- Eppendorf tüp 37 °C 10 dk kurutulur.
- Kurutulmuş ependorf 30 mikrolitre RNase free water (Qiagen, USA) eklenerek 70°C 5-8 dk inkübe edilerek RNA'nın çözünmesi sağlanır ve 1.25mikrolitre RNAsin (Applied Biosystem RNase Inhibitor, USA) eklenir.



Resim 8: Örneklerden RNA izolasyonunun yapılması



### 3.7. RNA Kalitatif ölçümü

RNA saflığının ve miktarının ölçülmesi için Qubit2.0 flurometer (Thermo Fisher Life Technologies) ve aynı marka Qubit RNA Assay Kit kullanıldı. İzolasyon ve kantite edilen RNA'dan hemen cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Uzun dönemli saklama -80 ve daha kısa dönem saklama için örnekler -20 C'de muhafaza edilmiştir.



Resim 9: RNA saflığının ölçülmesi için kullanılan cihaz

### 3.8. Revers Transkripsiyon PCR ile RNA'dan cDNA Sentezi

RNA'dan cDNA oluşturmak için High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA) kullanılmıştır.



Resim 10: Çalışmada kullanılan cDNA sentez kiti

Öncelikle PCR mix'i aşağıdaki tabloda belirtilen miktarlara göre hazırlanmıştır. Bu karışım 8'li strip tüplere 7.5µl olacak şekilde dağıtılmıştır. Ardından 12.5µl RNA örneği eklenerek Veriti (Applied Biosystem Waltham, MA, USA) cihazında, aşağıda belirtilen döngü koşulları ile PCR işlemi gerçekleştirilmiştir.

<b>Tablo 1. cDNA Sentezi</b>	
<b>Kullanılan reaktanlar</b>	<b>Miktarları</b>
10x RT-Buffer	2µl
100mm dNTP	1µl
10x Random primer	2µl
MultiScribe RT	1.5µl
Rnasin	1 µl
RNA 4 ng/ µl	12,5µl
Total Miktar	20µl
<b>Döngü Koşulları</b>	
25° C	10 dk
37° C	120 dk
85° C	5 dk
25° C	∞

### **3.9. İstatistiksel Analiz:**

Çalışmadan elde edilen tüm verilerin istatistiksel analizi için SPSS 22.0 (IBM Corporation) istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır. Gruplara ait parametrelerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlenmiştir. Normal dağılım gösteren parametrelerin karşılaştırılmasında ANOVA, çoklu karşılaştırmalarında ise Tukey testi Bonferroni düzeltmesi ile birlikte

kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyen grupların karşılaştırmasında Kruskal-Wallis testi, ikili karşılaştırmalarında ise Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Tüm testlerde 0.05 anlamlılık derecesi (p) baz alınmıştır.

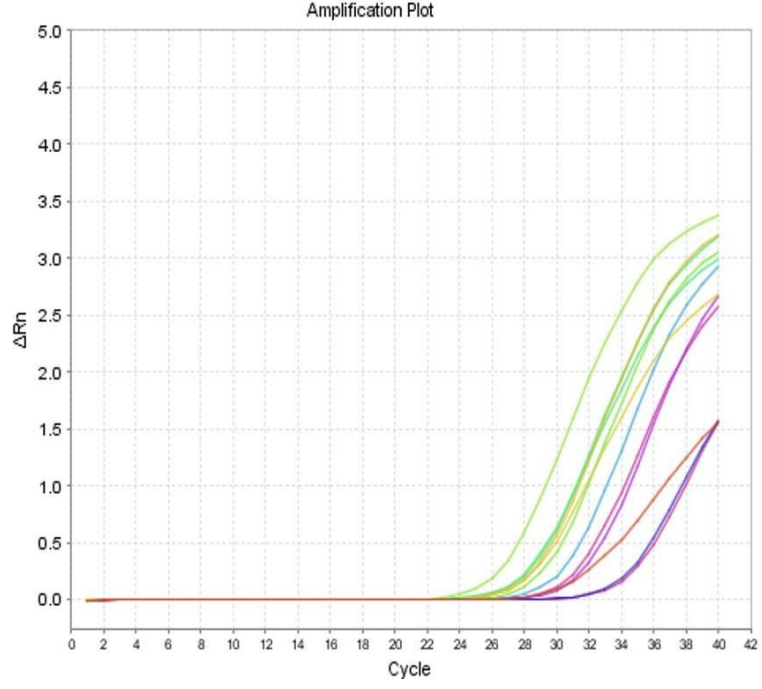
### 3.10. Gen ifade seviyelerinin ölçülmesi

Real-Time PCR farklı dokulardan elde edilen hedef genlerin (NLRP3/POP1/IL-1B/PYCARD/CASP1/NEK7/Trim16) mRNA miktarındaki değişimi gözlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Öncelikle çalışmada kullanılacak olan hazır primerler Thermo-fisher firmasından sipariş edilmiştir. Her bir primer için bir cDNA örneğinin dilüsyonu yapılarak co-efficiency testi yapılmıştır. Her bir primer için amplifikasyon eğrisi oluşturulmuştur. Analiz sonuçlarına göre tüm test edilen genlerin örnekte eksprese olduğu saptanmıştır. GAPDH gene ise housekeeping kontrol geni olarak kullanılmıştır. Real-Time PCR reaksiyonu Step One Plus (Thermo Fisher, USA) cihazında gerçekleştirilmiştir. Karışım; 12,5µl Enzo 2X PCR Master Mix, her bir gene özgü tasarlanmış primer prob mixlerinden 1 µl, 7.5µl RNAaz-DNAaz free su ve 5-7µl (ort.4ng/µl) cDNA olmak üzere total volüm 25 µl'ye tamamlanmıştır. Standart real time PCR programı uygulanmıştır. cDNA ürünleri Microamp 96'lı well platelerde aşağıdaki tabloda verilen miktarlar kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan platelerin üzeri MicroAmp Optical Adhesive film ile kaplanarak Step One Plus cihazına yüklenmiştir. Gen ifade seviyeleri  $2^{\Delta\Delta Ct}$  değerine göre hesaplanmıştır.

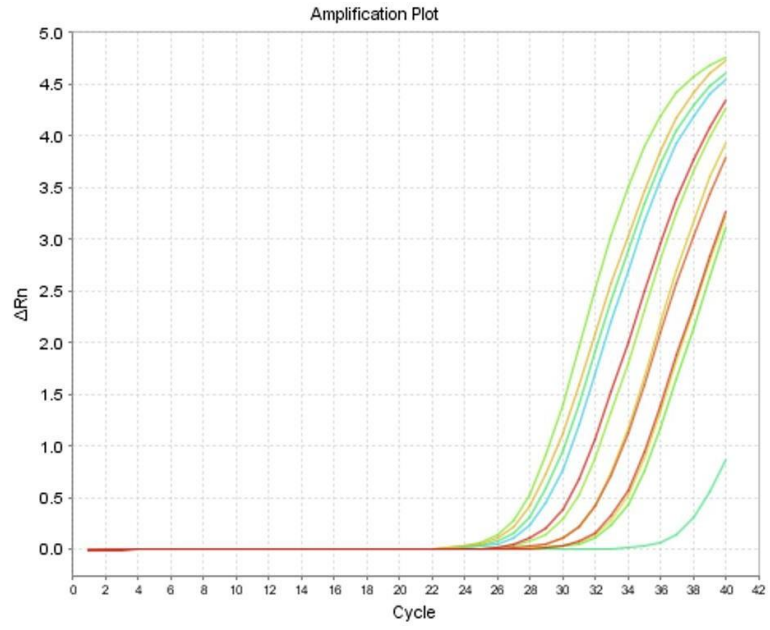
Enzo qPCR mix	12,5 µl
Probe mix (NLRP3/POP1/IL-1B/PYCARD/CASP1/NEK7/Trim16/GAPDH)	1 µl
cDNA	4 µl
dH <sub>2</sub> O	7.5 µl
Toplam	25 µl

Tablo 2: PCR reaksiyonu için kullanılan mix

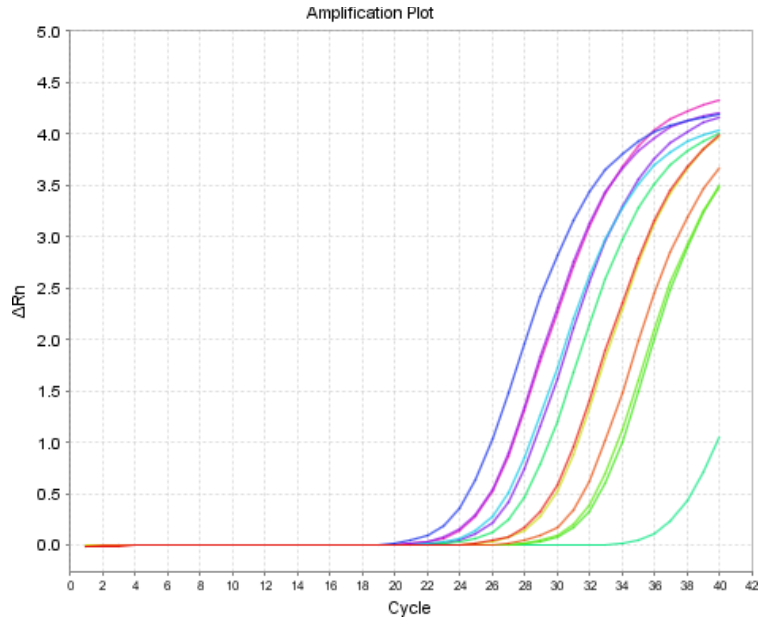
## 4. BULGULAR



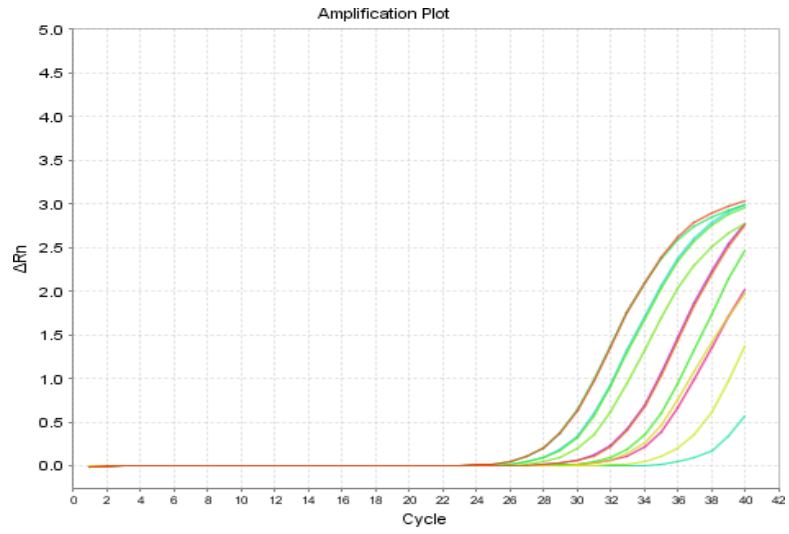
Şekil 8: ASC geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi



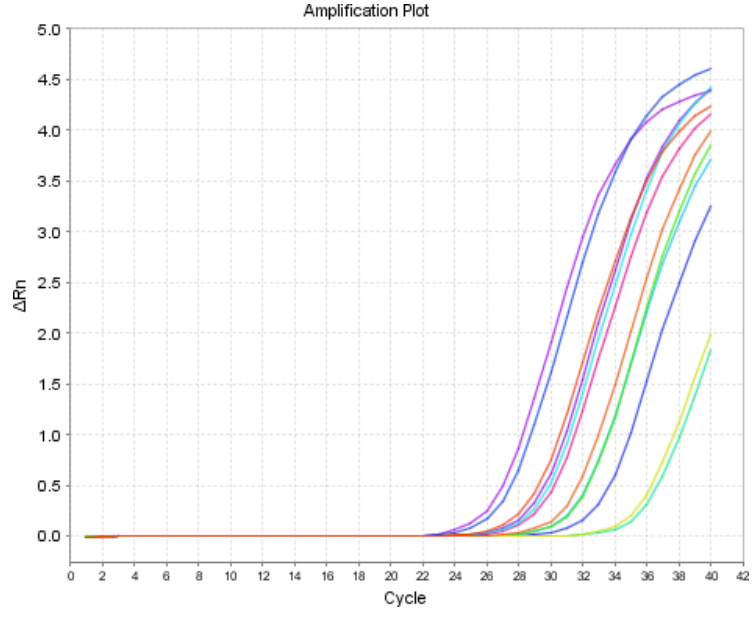
Şekil 9: NRLP3 geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi



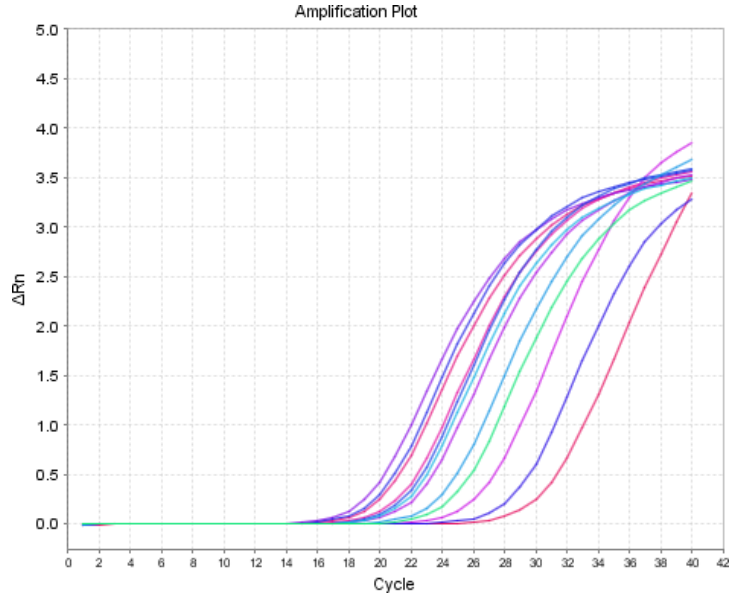
Şekil 10: IL-1 $\beta$  geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi



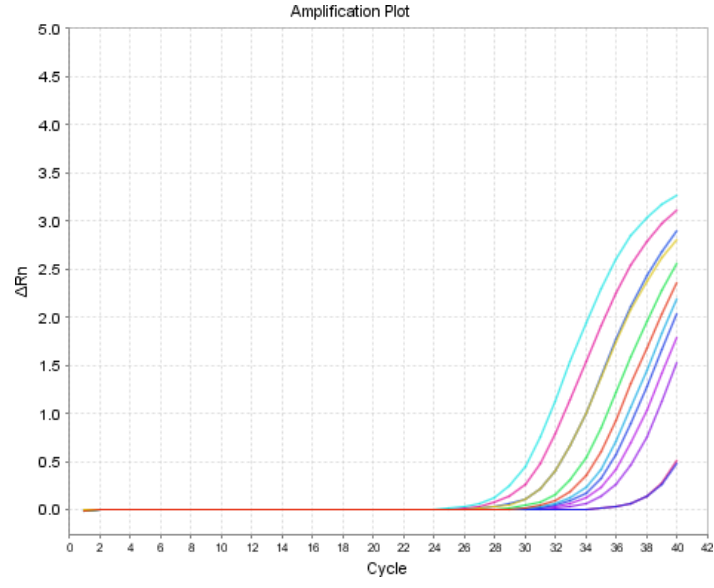
Şekil 11: TRIM16 geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi



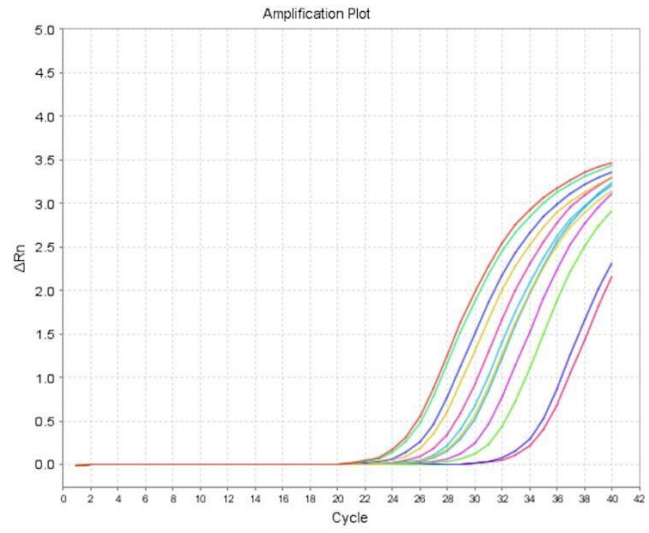
Şekil 12: Caspase 1 geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi



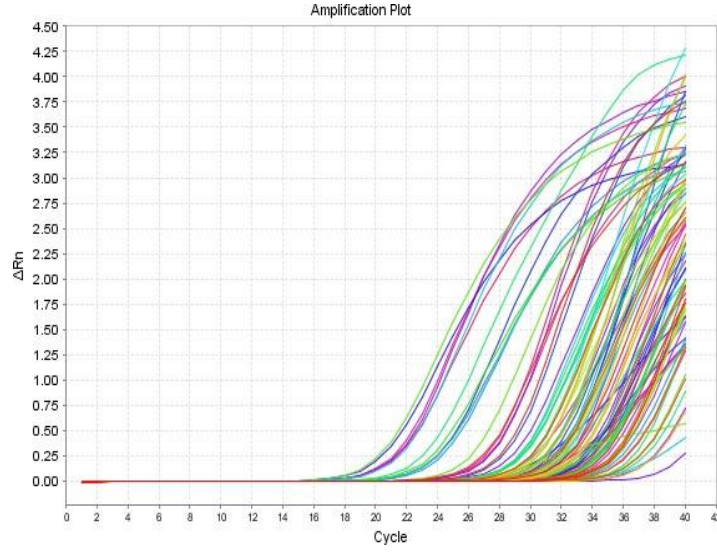
Şekil 13: GAPDH geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi



Şekil 14 POP1 geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi



Şekil 15: NEK7 geninin primerine ait amplifikasyon eğrisi



Şekil 16: NLRP3 genine ait tüm gruplardaki örneklerin amplifikasyon eğrisi

#### 4.1. Gruplardaki NLRP3 Gen Ekspresyon Seviyeleri

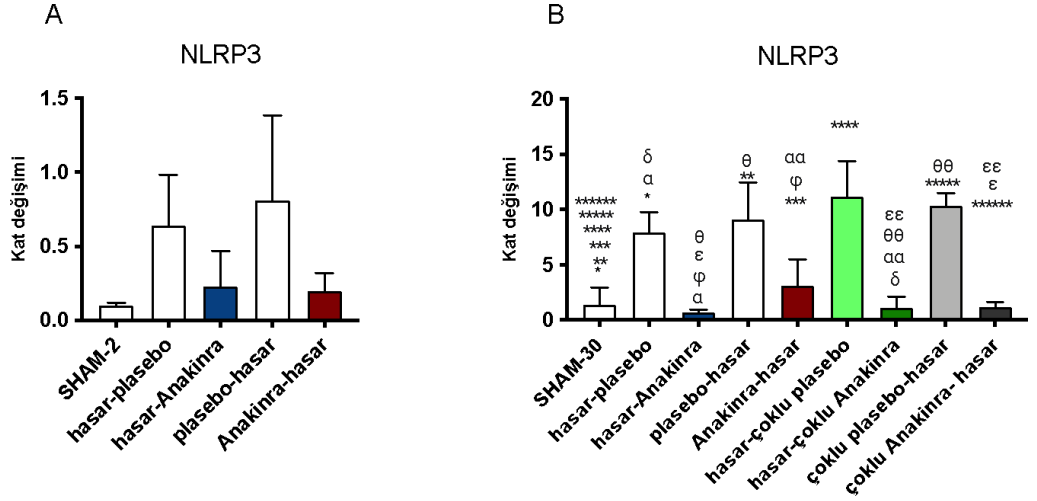
Sinir hasarının NLRP3 gen ekspresyonuna kısa dönem etkisi incelediğinde sinir hasarını takiben 2 gün sonrasında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ )(Şekil 17 A)

NLRP3 gen ekspresyon düzeylerinin uzun dönem etkileri incelendiğinde sağlıklı kontrol grubuna kıyasla sinir hasarı oluşturulan hasar-plasebo grubunda 7.9 kat artış, plasebo-hasar grubunda ise 9.1 kat artış saptanmıştır. ( $p<0.05$ )(Şekil 17 B) Sinir hasarı oluşturulduktan 1 gün sonrasında tek doz olarak uygulanan Anakinra'in (hasar-Anakinra) bu yükselişi anlamlı oranda azalttığı saptanmıştır. Sinir hasarı oluşumundan 1 gün önce verilen Anakinra ise (Anakinra-hasar) sinir hasarı sonrası anlamlı oranda artan NLRP3 gen ekspresyonunu azaltmada başarısız olmuştur. ( $p<0.05$ )(Şekil 17 B)

Çalışmada çoklu doz Anakinra uygulaması yapılan gruplarda ise öncesinde hasar oluşturularak çoklu plasebo uygulanan (hasar-çoklu plasebo) veya plasebo verilip 24 saat sonrasında hasar oluşturulan (çoklu plasebo-hasar) grubunda NLRP3 gen ekspresyonu sırasıyla 13.7 kat ve 10.3 kat artmış olarak saptanmıştır. Hasar sonrası çoklu uygulanan Anakinra (hasar-çoklu Anakinra) bu artışı sağlıklı grup düzeylerine



indirmeyi başarabilmiştir. Hasardan 24 saat önce başlanan ve çoklu doz olarak devam eden Anakinra uygulaması ise (Çoklu Anakinra-hasar) beklenenin aksine NLRP3 ekspresyonunu 6.8 kat yukarı yönlü regüle etmiştir. ( $p < 0.05$ ) (Şekil 17 B) Hasar sonrası tek doz uygulanan (hasar-Anakinra) Anakinra ise çoklu doz uygulanan Anakinra (hasar-çoklu Anakinra) arasında NLRP3 gen ekspresyonu açısından herhangi bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).



Şekil 17: NLRP3 Gen Ekspresyon Seviyeleri

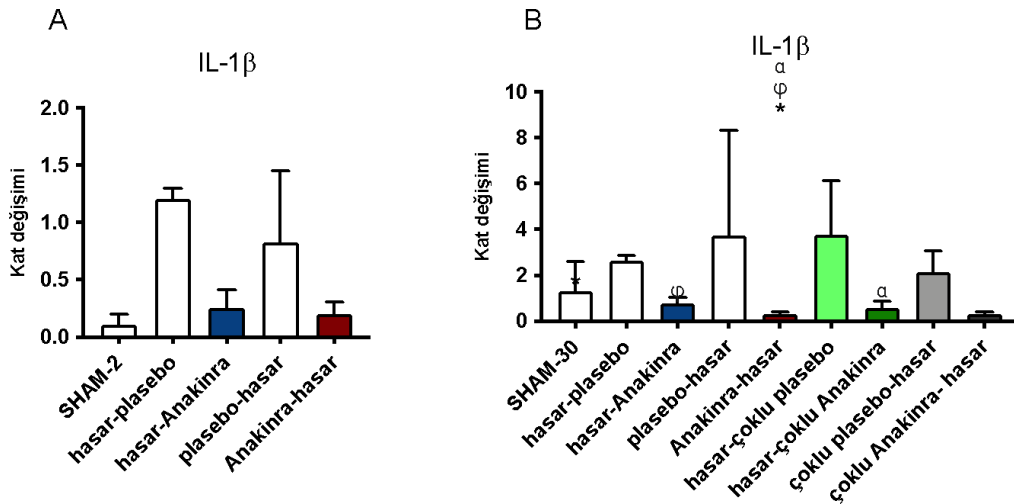
**Şekil 17:** Gruplardaki sinir hasarı oluşumundan 2 gün (A) ve 30 gün (B) sonraki NLRP3 gen ekspresyon düzeylerinin incelenmesi A) NLRP3 ekspresyonu cerrahi sinir yaralanmasından 48 saat sonra gruplar arasında anlamlı bir farka ulaşmamıştır  $p > 0.05$  B) Hasar-plasebo (7.9 kat) ve plasebo-hasar (9.2 kat) sağlıklı gruba göre anlamlı oranda daha fazla NLRP3 ekspresyonuna sahiptir. Hasar-Anakinra grubu ile sağlıklı grup benzer ekspresyon düzeylerine sahipken, Anakinra-hasar grubunda sağlıklı gruba kıyasla 7.34 kat daha fazla NLRP3 ekspresyonunu yukarı yönlü regüle etmiştir. Hasar-çoklu plasebo ve Çoklu plasebo-hasar grupları NLRP3 ekspresyonunu sırasıyla 13.7 ve 10.3 kat yukarı yönlü regüle etmiştir. Sadece hasar-çoklu Anakinra bu ekspresyonu normal grup düzeylerine çekmeyi başarmıştır. Hasar sonrası tek doz uygulanan Anakinra ile çoklu doz uygulanan Anakinra arasında fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ). (\*, \*\*, \*\*\*, \*\*\*\*\*, \*\*\*\*\*, ε, θ, δ, α, φ, θθ, δδ, αα, φφ  $p < 0.05$ )

#### 4.2. Gruplardaki İnterlökin-1 $\beta$ Gen Ekspresyon Seviyeleri

Sinir hasarı oluşumundan 48 saat sonra incelenen IL-1 $\beta$  gen ekspresyon düzeyleri analiz edilen hiçbir grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farka ulaşmamıştır. ( $p>0.05$ )(Şekil 18 A)

Sinir hasarı oluşturduktan 30 gün sonraki yapılan uzun dönem IL-1 $\beta$  gen ekspresyon düzeyleri analizi sonucunda ise sinir hasarı oluşumunun IL-1 $\beta$  gen ekspresyonu üzerine anlamlı bir etkisi bulunmamıştır. ( $p>0.05$ )(Şekil 18 B) Sinir hasarından önce verilen Anakinra (Anakinra-hasar) sağlıklı kontrol grubuna göre 12.9 kat fazla IL-1 $\beta$  gen ekspresyon artışı saptanmıştır ( $p<0.05$ ). İlave olarak, sinir hasarı sonrası verilen Anakinra (hasar-Anakinra) sinir hasarından önce verilen Anakinra' ya göre (Anakinra-hasar) IL-1 $\beta$  gen ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla azalttığı saptanmıştır. ( $p<0.05$ ) (Şekil 18 B)

Çoklu doz Anakinra'nın etkisinin incelendiği gruplarda ise hasar sonrası çoklu olarak uygulanan Anakinra grubunda (hasar-çoklu Anakinra), hasar öncesi verilen Anakinra (Anakinra-hasar) grubuna göre anlamlı oranda daha az IL-1 $\beta$  gen ekspresyonuna neden olduğu saptanmıştır. ( $p<0.05$ ) Hasar öncesi çoklu doz olarak verilen Anakinra (çoklu Anakinra- hasar) ise tek doz olarak verilen Anakinra'ya göre (Anakinra-hasar) IL-1 $\beta$  gen ekspresyonunu anlamlı oranda azaltmıştır. ( $p<0.05$ ) (Şekil 18 B)



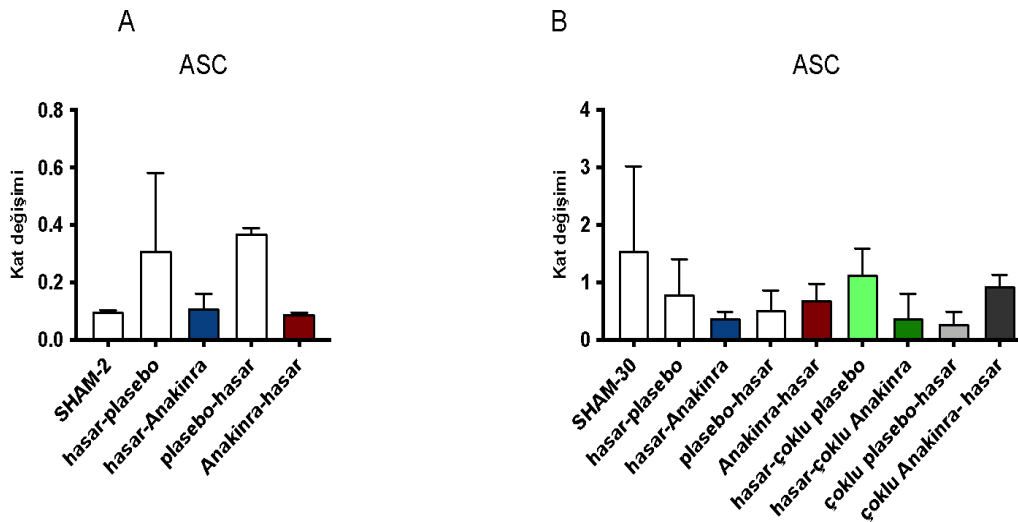
Şekil 18: İnterlökin-1 $\beta$  Gen Ekspresyon Seviyeleri

**Şekil 18:** Gruplardaki sinir hasarı oluşumundan 2 gün (A) ve 30 gün (B) sonraki İnterlökin-1 $\beta$  gen ekspresyon düzeylerinin incelenmesi A) Kısa dönemde gruplar arasında herhangi bir farklılık bulunmamıştır B) 30 gün sonunda Anakinra-hasar sağlıklı kontrol grubuna göre 12.9 kat daha fazla IL-1 $\beta$  eksprese etmiştir. Anakinra-hasar grubundaki ekspresyon düzeyleri Hasar-Anakinra grubuna göre anlamlı oranda daha yüksek saptanmıştır Anakinra-hasar grubu ile hasar-çoklu Anakinra grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. (\*,  $\varphi$ ,  $\alpha$  p<0.05)

### 4.3. Gruplardaki ASC Gen Ekspresyon Seviyeleri

Sinir hasarının kısa ve uzun dönem etkileri inflamazom kompleksinin bir parçası olan ASC gen düzeyleri için analiz edilmiştir. Sinir hasarından 2 gün sonra tüm gruplarda sağlıklı kontrol grubuna göre aşağı yönlü bir regülasyon gözlene de grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. İlave olarak sinir hasarından önce veya sonrasında uygulanan Anakinra'in de ASC düzeyleri üzerine herhangi bir etkisi saptanmamıştır. (p>0.05)(Şekil 19 A)

Sinir hasarından 30 gün sonrasında ise 2.güne benzer sonuçlar gözlenmiştir. Hasar sonrası gruplar arasında sağlıklı gruba kıyasla bir fark saptanmamıştır. Anakinra uygulanan gruplar da ASC üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamıştır. (p>0.05)(Şekil 19 B)



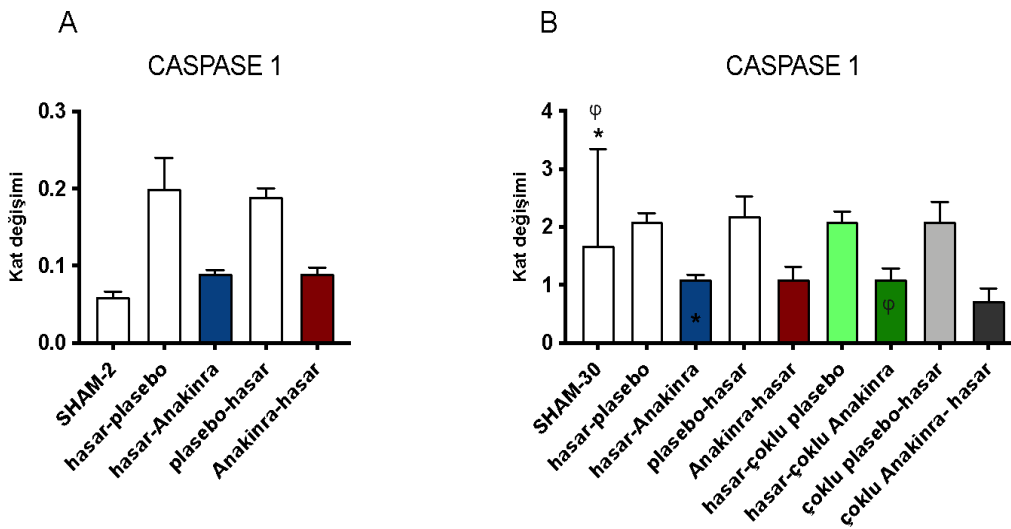
Şekil 19: ASC gen ekspresyon seviyeleri

**Şekil 19 :** Gruplardaki sinir hasarı oluşumundan 2 gün (A) ve 30 gün (B) sonraki ASC gen ekspresyon düzeylerinin incelenmesi A) Kısa dönemde gruplar arasında ASC gen ekspresyonu açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ) B) Uzun dönem incelemede sinir hasarı sonrasında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Anakinra uygulaması da ASC üzerine herhangi anlamlı bir etki oluşturmamıştır ( $p>0.05$ ). Hasar öncesinde veya sonrasında uygulanan Çoklu doz Anakinra uygulaması da herhangi bir anlamlı farka neden olmamıştır. ( $p>0.05$ ).

#### 4.4. Gruplardaki Caspase 1 Gen Ekspresyon Seviyeleri

İnflamazom kompleksinin diğer bir parçası olan Caspase-1 gen ekspresyonuna sinir hasarının kısa dönemdeki etkileri analiz edildiğinde, sinir hasarından 2 gün sonrasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Anakinra uygulamasının da Caspase-1 üzerine anlamlı bir etki oluşturmadığı gözlenmiştir. ( $p>0.05$ )(Şekil 20 A)

Sinir hasarı sonrası 30 günlük bir süre incelendiğinde ise sinir hasarı oluşumunun Caspase-1 üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmadığı gözlenmiştir. Sinir hasarı sonrası verilen Anakinra 'nın (hasar-Anakinra) sinir hasarı oluşturulmamış sağlıklı kontrol grubuna göre Caspase-1 gen ekspresyon düzeylerini 5.88 kat aşağı yönlü regüle ettiği saptanmıştır. Benzer şekilde hasar sonrası verilen çoklu doz Anakinra'nın (hasar-çoklu Anakinra) da kontrol grubuna göre 5.4 kat aşağı yönlü bir regülasyona neden olduğu gözlenmiştir. ( $p<0.05$ ) (Şekil 20 B)



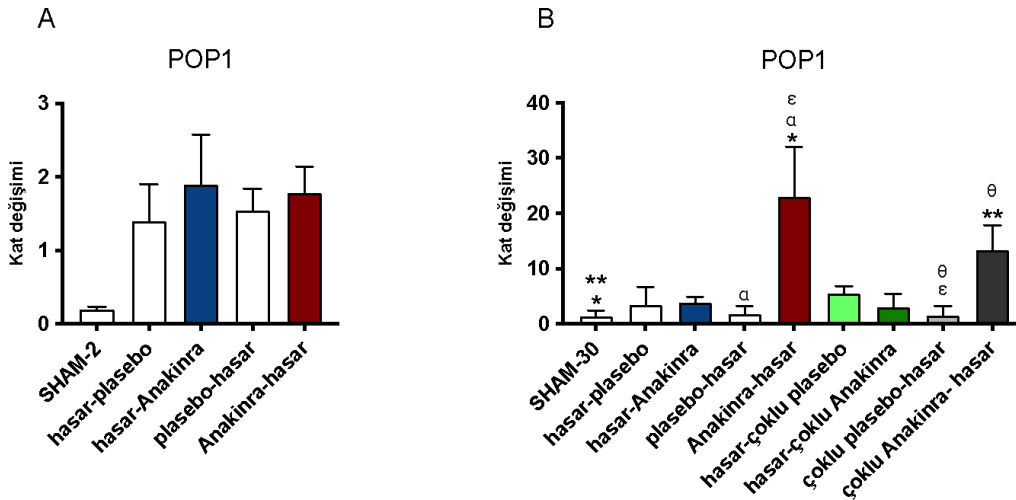
Şekil 20: caspase -1 gen ekspresyon seviyeleri

**Şekil 20:** Gruplardaki sinir hasarı oluşumundan 2 gün (A) ve 30 gün (B) sonraki Caspase 1 gen ekspresyon düzeylerinin incelenmesi Hasar sonrası verilen tek doz Anakinra (hasar-Anakinra) sağlıklı kontrole göre 5.88 kat, çoklu doz Anakinra (hasar-çoklu Anakinra) ise 5.4 kat Caspase 1 gen ekspresyonunununu azaltmıştır. (\*,  $\varphi$   $p<0.05$ )

#### 4.5. Gruplardaki POP1 Gen Ekspresyon Seviyeleri

İnflamazom regülatörlerinden olan POP1'in gen ekspresyon düzeylerinin sinir hasarı oluşumundan sonraki etkileri incelendiğinde kısa dönemde (sinir hasarından 2 gün sonra) POP1 düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. ( $p>0.05$ )(Şekil 21 A)

Sinir hasarı oluşturulan ve plasebo uygulanan gruplar ile sağlıklı grup arasında POP1 gen ekspresyonu açısından anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Sinir hasarından önce verilen Anakinra'in (Anakinra-hasar) sağlıklı kontrol grubuna göre POP1 gen ekspresyonunu 23 kat yukarı yönlü regüle ettiği saptanmıştır. Benzer şekilde sinir hasarından önce çoklu verilen Anakinra (Anakinra-hasar) sağlıklı kontrollere göre POP1 düzeylerini 13.4 kat yukarı yönlü regüle ettiği gözlenmiştir. Hasar öncesi verilen Anakinra, hasar öncesi verilen tek doz plasebo (plasebo-hasar) ve çoklu doz plasebo (çoklu plasebo-hasar) grubuna göre anlamlı oranda daha fazla POP1 gen ekspresyon düzeyine sahiptir. Hasar öncesinde Çoklu olarak verilen Anakinra (çoklu Anakinra-hasar), çoklu plasebo uygulanan gruba (çoklu plasebo-hasar) göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek POP1 genini eksprese etmiştir. ( $p<0.05$ ) (Şekil 21 B)



Şekil 21: POP1 gen ekspresyon seviyeleri

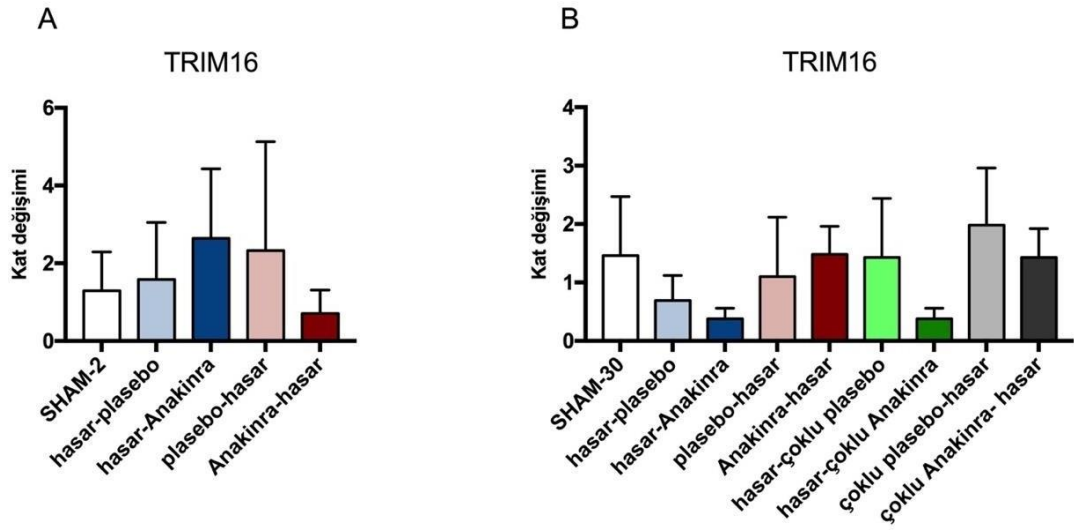
**Şekil 21:** Gruplardaki sinir hasarı oluşumundan 2 gün (A) ve 30 gün (B) sonraki Caspase 1 gen ekspresyon düzeylerinin incelenmesi A) Gruplarda kısa dönem incelemede anlamlı fark bulunmamıştır. B) Uzun dönem incelemede sinir hasarı grupları ile sağlıklı kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Anakinra-hasar grubu sağlıklı kontrole göre 23 kat çoklu Anakinra- hasar grubu ise 13.4 kat daha fazla POP1 eksprese etmiştir. Anakinra-hasar grubundaki POP1 ekspresyonu plasebo-hasar ve çoklu plasebo-hasar gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksektir. Çoklu anakinra-hasar grubundaki POP1 düzeyleri de çoklu plasebo-hasar grubuna göre anlamlı oranda daha yüksek olarak saptanmıştır.

(\*,\*\*,  $\alpha$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$   $p < 0.05$ )

#### **4.6. Gruplardaki TRIM16 Gen Ekspresyon Seviyeleri**

Sinir hasarının kısa ve uzun dönem etkileri inflamazomların başka bir regülatörü olan TRIM16 gen düzeyleri için incelenmiştir. Sinir hasarından 2 gün sonra hiçbir grupta birbirleri ile veya sağlıklı grup arasında TRIM16 ekspresyonu açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Anakinra uygulaması da gruplar arasında anlamlı bir farka neden olmamıştır. ( $p > 0.05$ )(Şekil 22 A)

Sinir hasarından 30 gün sonrası yapılan analizlerde ise benzer sonuçlar gözlenmiştir. Sinir hasarı oluşumunun TRIM16 ekspresyonu üzerine anlamlı bir etkisi saptanmamıştır. İlave olarak Anakinra uygulaması da sağlıklı gruplar veya hasar oluşturulan gruplar ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farka neden olmamıştır. Çoklu doz Anakinra uygulaması da benzer şekilde TRIM16 üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmamıştır. ( $p > 0.05$ )(Şekil 22 B)



şekil 22: TRIM16 gen ekspresyon seviyeleri

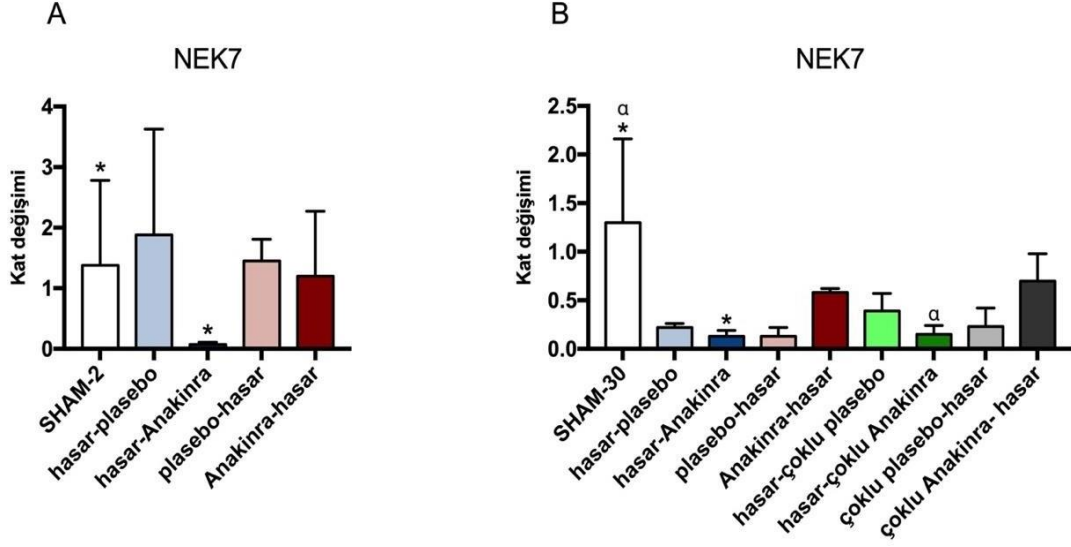
**şekil 22:** Gruplardaki sinir hasarı oluşumundan 2 gün (A) ve 30 gün (B) sonraki TRIM16 gen ekspresyon düzeylerinin incelenmesi A) sinir hasarı oluşturulan ve/veya Anakinra uygulanan gruplar ile sağlıklı grup arasında herhangi fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). B) Uzun dönem incelemede de benzer şekilde sinir hasarı sonrası sağlıklı gruba kıyasla anlamlı bir fark yoktur. ( $p>0.05$ ) Tek veya oklu Anakinra uygulaması da herhangi bir anlamlı farka neden olmamıştır ( $p>0.05$ )

#### 4.7. Gruplardaki NEK7 Gen Ekspresyon Seviyeleri

Sinir hasarının kısa ve uzun dönem etkileri bir diğer inflamazom regülatörü olan NEK7 gen ekspresyonu açısından incelenmiştir. Kısa dönem sonuçları incelendiğinde sinir hasarı gruplar ile sağlıklı grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ) Sinir hasarı sonrası verilen Anakinra 'in (hasar-Anakinra) sağlıklı kontrol grubuna göre 14.2 kat NEK7 gen ekspresyon düzeylerini aşağı yönlü regüle ettiği saptanmıştır. ( $p<0.05$ )(şekil 23 A)

Uzun dönem sonundaki analizlerde ise NEK7'nin sağlıklı kontrol grubuna göre sinir hasarı oluşturulan gruplarda (hasar-plasebo) 4.55 kat ve (plasebo-hasar) 7.69 kat aşağı yönlü regüle olduğu saptanmıştır. Sinir hasarı sonrası verilen Anakinra 'nın (hasar-Anakinra) sağlıklı kontrol grubuna göre 7.69 kat NEK7 gen ekspresyon düzeylerini aşağı yönlü regüle ettiği gözlenmiştir. Sinir hasarı sonrasında verilen oklu

Anakinra'nın (hasar- çoklu Anakinra) da sağlıklı kontrol grubuna göre 7.4 kat NEK7 gen ekspresyonunu azalttığı saptanmıştır. ( $p < 0.05$ ) (Şekil 23 B)



Şekil 23: NEK7 gen ekspresyon seviyeleri

**Şekil 23:** Gruplardaki sinir hasarı oluşumundan 2 gün (A) ve 30 gün (B) sonraki NEK7 gen ekspresyon düzeylerinin incelenmesi A) hasardan sonra uygulanan Anakinra sağlıklı kontrole göre 14.2 kat NEK7 ekspresyonunu azaltmıştır. ( $* p < 0.05$ ) B) 30 gün sonunda NEK7'yi Anakinra'nin hasardan sonra uygulaması sağlıklı kontrol grubuna göre 7.69 kat aşağı yönlü regüle etmiştir. Hasar sonrası çoklu doz Anakinra uygulaması da 7.4 kat NEK7'yi aşağı yönlü regüle etmiştir. ( $*, \alpha p < 0.05$ )



## 5. TARTIŞMA

Alveolaris inferior siniri (NAI) oral ve maksillofasiyal cerrahi prosedürlerinde oldukça önemli bir sinir olup alt çene dudak ve dişlere his sağlamaktadır(127). Mental sinir alveoler sinirin terminal dalı olup bir kısım mandibular dişe, yanak ve vestibüler gingivaya his sağlamaktadır. NAI'nın Oral ve maksillofasial prosedürler esnasında oldukça fazla hasara uğradığı bildirilmiştir. (128) Özellikle 3.moların çekimleri esnasında %43.5'a varan bir hasar literatürde rapor edilmiştir (129). Son yıllarda oldukça yaygınlaşan dental implant uygulamalarıyla birlikte de nörovasküler komplikasyon sayısında artış gözlenmiştir (130). NAI hasarı sonrası hastaların konforunu bozan ağrı, soğuk ve sıcak hassasiyeti ve konuşma zorluğu gibi problemler (124) hasta ve hekim üzerinde psikolojik olumsuz sonuçlara yer açabileceğinden (131) sinir hasarının karmaşık yolaklarının ayrıntılı şekilde incelenmesi ve tedavisine yönelik prosedürlerin geliştirilmesi oldukça önem arz etmektedir.

Literatürde daha önce NAI yaralanmalarının tedavisinde çeşitli tedavi protokolleri önerilmiştir. Mikrocerrahi işlemler ciddi sinir yaralanmalarını takiben uygulandığında oldukça etkili bulunmuştur. Medikasyon, fizyoterapi ve manyetik alan tedavilerinin düşük ve orta düzeydeki sinir yaralanmalarında kullanımı önerilse (5) de bu tekniklerin hiçbirinin nöral rehabilitasyonda tatmin edici sonuçlar sağlamadığı bildirilmiştir(10). Bu nedenle sinir yaralanmalarındaki biyolojik mekanizmanın tam olarak anlaşılması spesifik tedavi prosedürlerinin önünü açabilecektir (132).

Daha önceki çalışmalarda sinir hasarının inflamatuvar cevap ile ilişkili olabileceği iddia edilmiştir. Özellikle inflamatuvar sürecin temel bir belirleyicisi olan IL-1 $\beta$ 'nin ekspresyonunun spinal kord hasarı, siyatik ve parsiyel siyatik sinir hasarı gibi oldukça önemli sinir yaralanmaları sonrasında önemli oranda artış gösterdiği saptanmıştır (133–135). IL-1 $\beta$ 'nin modülasyonunda görev alan inflamazomlardan olan NLRP3'ün de siyatik sinir hasarı sonrası aktive olduğu saptanmıştır. İlave olarak inflamazomun bir parçası olan ASC'nin ve inflamazomun hedef yapısı olan IL-1 $\beta$ 'nin da siyatik sinir hasarını takiben gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı oranda bir artış olduğu rapor edilmiştir (136). Oldukça ciddi bir hasar olan travmatik beyin hasarları sonrasında da IL-1 $\beta$  düzeyinde hasardan 6 saat sonra başlayıp 24-30 gün arasında normale dönen önemli oranda bir artış rapor edilmiştir (125). Travmatik beyin hasarlarında IL-1 $\beta$  düzeylerindeki bu artışın hasarın şiddetinden bağımsız olduğu

bildirilmiştir(137). IL-1 $\beta$ 'nın kontrolünde Anakinra ® gibi IL-1 reseptör antagonistleri (IL-1RA) kullanılmaktadır ve IL-1 $\beta$ 'nin rol oynadığı birçok hastalığın tedavisinde olumlu sonuçlar bildirilmiştir (138). Literatürde travmatik beyin hasarı sonrası ortaya çıkan olumsuz etkilerin Anakinra sayesinde normale döndüğü *in-vivo* bir çalışmada bildirilmiştir (125). Bu çalışmada buradan yola çıkarak öncelikle inflamazomların ve inflamazom regülatörlerinin mental sinir yaralanmaları üzerindeki kısa ve uzun dönem etkileri gen düzeyinde incelenmiştir. İlave olarak ortaya çıkabilecek olumsuz etkilere karşı da IL-1 reseptör antagonisti olan Anakinra 'nın sinir hasarı öncesinde veya sonrasında verilmesiyle oluşan etkileri 7 farklı inflamazom bağlantılı gen olan NLRP3, ASC, Caspase 1, TRIM16, POP1, NEK7 ve IL-1 $\beta$  üzerinde incelenmiştir.

Çalışmamızda NLRP3 inflamazomunun gen ekspresyon düzeyleri incelendiğinde kısa dönemde gen ekspresyon düzeyleri arasında fark olmamasına karşı, 30 günlük dönem incelenmesinde sinir hasarı sonrasında sağlıklı gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır. Literatürde daha öncesinde alveoler sinir yaralanmalarında inflamazomları inceleyen bir çalışma olmadığı için bu çalışma bu alanda yapılan ilk çalışma olup NLRP3 inflamazomunun alveoler sinir yaralanmalarıyla ilişkili olduğunu göstermektedir. Hasar oluşturulan grupta uzun dönemde (30 gün sonu) NLRP3 inflamazomun gen ekspresyonu hala sağlıklı gruptaki seviyelere inememiştir. IL-1 RA olan Anakinra' nın sinir hasarından 24 saat öncesinde veya sonrasında uygulandığındaki etkileri incelendiğinde ise sinir hasarından 24 saat sonra tek doz olarak uygulanan Anakinra 30 gün sonunda NLRP3 düzeylerini sağlıklı kontrol grubu düzeylerine getirmeyi başarmıştır. İlave olarak hasardan hemen sonra çoklu doz olarak uygulanan Anakinra'da hasar sonrası anormal şekilde yükselen NLRP3 ekspresyonunu sağlıklı grup düzeyine çekebilmiştir. Sinir hasarından 24 saat öncesinde verilen tek veya çoklu doz Anakinra ise NLRP3 düzeylerinin sağlıklı gruptaki normal sınırlara indirilmesinde başarısız olmuştur. Aksine NLRP3 düzeylerinde yukarı yönlü bir artışa neden olmuştur. Sonuç olarak NLRP3 ün 30 günlük sinir hasarı sonrasında gen düzeyindeki artışı sinir hasarı sonrasında tek doz veya çoklu olarak verilen Anakinra enjeksiyonu ile normal sınırlara çekilebileceği

gösterilmiştir. Dolayısıyla, NLRP3 inflamazomunun alveoler sinir yaralanmalarında bir rolü olabileceği ve Anakinra'nın bu rolü modüle ettiği düşünülmektedir.

İnflamazomların modüle ettiği yapı olan IL-1 $\beta$  'nin gen ekspresyon seviyeleri çalışmamızda incelenmiştir. Sinir hasarı sonrası 2.günde IL-1 $\beta$  gen ekspresyon düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre aşağı yönlü regüle olmasına rağmen gruplar arasında fark oluşmamıştır. Anakinra'in hasar öncesi veya sonrasında uygulanması ise 2.günün sonunda benzer şekilde anlamlı bir farka neden olmamıştır. Sinir hasarı sonrası 30. Gün incelemesinde ise sağlıklı grup ile hasar grupları arasında benzer şekilde anlamlı fark oluşmamıştır. Anakinra'in hasardan önce uygulanması ise sağlıklı gruba ve Anakinra'in hasardan önce uygulanmasına kıyasla anlamlı oranda yukarı yönlü bir regülasyona neden olduğu gözlenmiştir. Öncelikle, hasar sonrası IL-1 $\beta$  gen ekspresyon düzeylerinin yükselmemesinin nedenlerinden birisi protein düzeylerinde olmuş olabilecek bir artış ile açıklanabilir. Bu çalışmada protein düzeyleri incelenmediğinden ötürü bir kıyaslama yapılamamış bu durum çalışmanın bir limitasyonu olarak kabul edilmiştir. Uzun dönemde sinir hasarına Anakinra'in etkileri incelendiğinde ise hasardan hemen önce Anakinra verilmesi NLRP3'e ilave olarak IL-1 $\beta$  gen ekspresyon düzeylerinin anlamlı oranda yükselmesine sebep olduğu için beklenenin aksine olumsuz bir etki oluşturabileceği düşünülebilir. İlave olarak, hasar öncesi Anakinra verilmesi hasar sonrası tek veya çoklu doz Anakinra verilmesine kıyasla IL-1 $\beta$  gen ekspresyon düzeylerinin anlamlı oranda artmasına neden olmuştur. Bu nedenle sinir hasarından hemen önce Anakinra uygulamasının IL-1 $\beta$  gen düzeyinde faydalı olmayacağı sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda inflamazom bölümlerinden olan ASC gen ekspresyon düzeyleri de sinyal yolağının aydınlatılması açısından önem taşıdığından incelenmiştir. ASC düzeyleri sinir hasarı sonrası hem kısa dönem incelemede hem uzun dönem incelemede sağlıklı gruba kıyasla aşağı yönlü regüle olmuş gibi görünse de anlamlı bir fark saptanamamıştır. Benzer şekilde hasar öncesi veya sonrasında tekli veya çoklu Anakinra uygulamasının da ASC düzeyleri üzerine herhangi bir etkisi saptanamamıştır. Bu durum ASC'nin proteine dönüşmesinden kaynaklanabileceği gibi sinir hasarının inflamazom partından sadece NLRP3 ü hedef almasıyla da açıklanabilir. İlerleyen çalışmalar bu durumun aydınlatılmasında fayda sağlayabilecektir. Caspase-1 inflamazom kompleksinin başka bir parçası olup bu

çalışmada analiz edilen genlerden birisidir. ASC ile benzer şekilde kısa ve uzun dönemde sinir hasarı sonrası her ne kadar aşağı yönlü regülasyon gözlenirse de istatistiksel olarak fark oluşmadığı saptanmıştır. Uzun dönem sonuçlarında sinir hasarı öncesi verilen tek doz veya çoklu doz Anakinra'nın sağlıklı gruba kıyasla Caspase-1 düzeylerini aşağı yönlü regüle ettiği gözlenmiştir. Öncelikle, hasar sonrası Caspase-1'de ki farklılığa ulaşmamanın nedeni sinir hasarının sadece NLRP3 hedef alması veya protein aşamasına dönüşmesinden kaynaklanabileceği olabilir. Ayrıca sinir hasarı sonrası 2 ile 30 günlük dönem arasında veya sonrasında bir farklılık oluşsa bile bizim çalışmamızda sadece 2 zaman dilimi incelemesi olduğu için farklılık saptanamamış olabilir. Bu konuda yapılacak ilerleyen çalışmaların bu duruma açıklık sağlayacağı düşünülmektedir.

Çalışmamızda inflamazomun regülatör yapılarından biri olan POP1 gen ekspresyon düzeyleri incelenmiştir. POP1 inflamazomun negatif bir regülatörü olup azalması durumunda NLRP3 inflamazomunun arttığı bildirilmiştir. Çalışmamızda kısa dönemde POP1 düzeyleri arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Uzun dönemde ise sinir hasarı sonrası 30. Gün sonunda sağlıklı gruplara göre her ne kadar bir değişim gözlenirse de Anakinra'nın tek veya çoklu doz olarak hasar öncesi verilmesi durumunda sağlıklı kontrol grubuna göre POP1 gen ekspresyonunda anlamlı bir artışa neden olduğu gözlenmiştir. Bu artış, sinir hasarı oluşturulan hasar gruplarına göre de anlamlı oranda yüksek olarak saptanmıştır. Tek başına hasar oluşumu ise sağlıklı grup ile herhangi bir farka neden olmamıştır. Bu durumun daha detaylı açıklanması protein analizleri ve daha fazla zaman dilimini inceleyen çalışmaların varlığıyla açıklanabileceği gibi, sinir hasarının POP1 yolağını etkilemeden farklı bir regülatör üzerinden ilerlemesinden de kaynaklanabilir. TRIM ailesi inflamazomun başka bir negatif regülatörü olup TRIM16 bu ailenin bir üyesidir. TRIM16'nın azalması veya yokluğunun NLRP3'ün artmasına neden olduğu literatürde bildirilmiştir. Çalışmamızda TRIM16'nın kısa ve uzun dönemde sinir hasarı sonrası gen düzeyinde bir farklılığa ulaşmadığı saptanmıştır. Anakinra uygulaması da sinir hasarına kısa ve uzun dönemde bir etki oluşturmadığı gözlenmiştir. Buradan yola çıkarak TRIM16'nın sinir hasarı sonrası mekanizmada rol oynamayacağı düşünülebilir ancak çalışmadaki zaman dilimlerinin artırılması ve protein analizlerinin de ilerleyen çalışmalar ile sağlanması bu konudaki bilgiyi artıracaktır.

Çalışmamızda incelenen başka bir inflamazom regülatörü NEK7 olup, NEK7 yokluğunun NLRP3'ü azalttığı dolayısıyla inflamazomun pozitif bir modülatörü olduğu literatürde bildirilmiştir. Çalışmamızın kısa dönem analizinde sinir hasarı sonrası sağlıklı kontrol grubuna göre bir fark saptanmadığı gözlenmiştir. Fakat Anakinra'nın sinir hasarı sonrasında uygulamasının NEK7 gen ekspresyonunu anlamlı düzeyde aşağı yönlü regüle ettiği bulunmuştur. Uzun dönem yapılan inceleme de ise benzer şekilde sinir hasarı sonrasında tek doz veya çoklu doz olarak verilen Anakinra'nın sağlıklı gruba göre anlamlı oranda düşük gen ekspresyonuna sahip olduğu saptanmıştır. Sinir hasarı sonrası 30. Günde gruptaki NLRP3 gen ekspresyon artışının NEK7 üzerinde de bir artışa sebep olabileceği düşünüleceğinden hasar sonrası NEK7 deki fark oluşmaması beklenmeyen bir sonuçtur. Bu durum NEK7 'nin proteine dönüşmüş olmasından ve NLRP3 ü yukarı yönlü regüle etmesiyle açıklanabilir. Ayrıca, NEK7 sinir hasarlarında NLRP3'ün regülasyonunda rol oynamıyor da olabilir. Konu ile ilgili yapılan ilk çalışma bizim mevcut çalışmamız olduğu için literatür ile bir kıyaslama yapmak mümkün olmamaktadır. İlerleyen çalışmalarda yapılacak olan protein analizleri ve aynı zamanda zaman dilimlerinin daha fazla genişletilmesi bu konunun daha fazla aydınlatılmasına neden olabilir. Literatürde inflamazomların optik sinir, siyatik sinir ve travmatik beyin hasarları gibi farklı sinir yaralanmaları üzerine etkilerini inceleyen birçok çalışma mevcuttur. Puyang ve ark. optik sinir hasarı sonrası NLRP3 protein ekspresyonunun hasardan 1 gün sonra anlamlı oranda yükseldiğini ve NLRP3 knockout farelerde sinir hücrelerindeki akson kaybının sağlıklı farelere göre daha az olduğunu bildirmişlerdir(139). Zhang ve ark. ve Quijun ve ark. optik sinir hasarı oluşturulan farelerde yaptıkları çalışma da NLRP3 gen ekspresyon seviyelerini incelemişlerdir(140,141). Sinir hasarı oluşturulan grupta hasardan 1, 3 ve 7 gün sonra NLRP3 gen ekspresyon seviyelerinin anlamlı düzeyde arttığını ancak 14. Günde sağlıklı grup ile benzer düzeylere gerilediğini bildirmişlerdir. Ayrıca NLRP3'ün optik sinir hasarının tedavisinde potansiyel terapötik bir hedef olabileceğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise NLRP3 gen ekspresyonu sinir hasarından 30 gün sonrasında sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak hala anlamlı derecede yüksektir.

Anakinra uygulaması ise bu yüksekliği kontrol altına almayı başarmıştır. Bahsi geçen çalışmalardaki yöntem ve uygulama ve takip süresi farklılığından ötürü tam bir kıyaslama yapmak olası olmamaktadır.

Travmatik beyin hasarı ile NLRP3 inflamazomunun ilişkisini literatürde birçok çalışma ile gösterilmiştir. Chen ve ark. travmatik beyin hasarı oluşan insan beyinlerinden elde edilen örneklerde NLRP3 ve IL-1 $\beta$  düzeylerinin anlamlı oranda yükseldiğini bildirmişlerdir(142). Nogradi ve ark. NLRP3 inflamazomunun travmatik beyin hasarındaki akut sinir hasarı ile ilişkili olduğunu gösteren fareler üzerindeki çalışmada NLRP3 inflamazomun blokajının nöroprotektif ve anti-inflamatuar etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir(143). Liu ve ark. sıçan beyinlerinde beyin hasarı sonrası NLRP3, Caspase-1 ve ASC gen ve protein ekspresyonunun hasardan 3 gün ve 7 gün sonra sağlıklı gruba göre anlamlı oranda yükseldiğini saptamışlardır. IL-1 $\beta$  sitokin seviyelerinin ise 3.günde yükseldiğini 7. Günde ise anlamlı farka ulaşmadığını bildirmişlerdir(144). Bizim çalışmamızda NLRP3 hasar sonrası sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak yüksek olup, Caspase-1, ASC ve IL-1 $\beta$  seviyeleri ise sağlıklı grup ile benzer olarak bulunmuştur.

Cui ve arkadaşlarının siyatik sinir hasarı oluşturulmuş farelerde inflamazom ve bağlantılı yapıların gen ekspresyon düzeylerini farklı zaman dilimlerinde inceledikleri çalışmalarında NLRP3 ve IL-1 $\beta$  gen ekspresyonunun hasardan 48 saat sonra hasardan 6 saat sonrasına göre anlamlı oranda azaldığını bildirmişlerdir (145). Caspase 1 ve ASC'nin gen ekspresyonunun hasardan 48 saat sonunda 6 saate göre anlamlı bir fark oluşturmadığını saptamışlardır. Molnar ve ark. siatik sinir hasarı oluşturulan farelerde hasardan 3 gün sonra NLRP3, IL-1 $\beta$ , Caspase-1 gen ekspresyonunda sağlıklı gruba kıyasla anlamlı oranda bir yükseliş saptamışken 21. Gün sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bildirmemişlerdir. Bu mevcut çalışmada da NLRP3 ve IL-1 $\beta$  gen ekspresyon seviyesi sinir hasarı oluşturulan grupta sağlıklı hasar oluşturulmayan gruba göre sonra aşağı yönlü regüle olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farka ulaşmamıştır. 30. Gün sonunda ise NLRP3 ekspresyonu anlamlı olarak sağlıklı gruba göre yüksek iken Caspase-1 ve IL-1 $\beta$  düzeyleri ise sağlıklı grup ile anlamlı farka ulaşmamıştır. Bu durumun bizim çalışmamız ile Liu ve Molnar ve ark. çalışmaları arasındaki üzerinde çalışılan hayvan, hasar oluşturulan bölge, incelenen zaman, sağlıklı kontrol grubunun varlığı/yokluğu gibi parametre farklılığından

kaynaklanabileceği düşünölmektedir. Bizim çalışmamızda ise sağlıklı gruba kıyasla 48 saat sonunda hasar almış bölge de hem ASC hem Caspase-1 için aşağı yönlü bir regölasyon olsa bile anlamlı bir fark saptanmamıştır. Yukarıda açıklanan nedenlerden ötürü her iki çalışmayı birbiriyle karşılamak yöntemsel farklılıklardan dolayı mümkün değildir.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

İlk defa in-vivo Rat modelinde mental sinir hasarlanması yapılarak NLRP3 inflamazom sistemi adaptör, efektör ve regülatör moleküllerini kodlayan genlerin ekspresyon düzeyleri bir yerde değerlendirilmiş ve sinir hasarlanması moleküler patogenezinde yerleri tartışılmıştır.

Çalışmada sinir hasarlanmasının moleküler mekanizması hem erken(2 gün) hem de geç (30) gün dönem sonuçları ile aynı zamanda hasar öncesi ve sonrası ilaç uygulanacak şekilde ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Deney grupları arasında 2 günlük erken dönemde NLRP3 gen ekspresyon düzeyleri sinir hasar grubunda Sham grubuna oranla artmış olmasına bakmayarak istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Deney grupları arasında 2 günlük erken dönemde Anakinra uygulaması Plasebo grubuna oranla NLRP3 gen ekspresyonunu azaltmıştır. Ancak bu down regülasyon istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Sinir Hasarlanması Uzun dönem deney gruplarında NLRP3 gen ekspresyonu anlamlı olarak 8-9 kat artmıştır.

Sinir Hasarlanması Uzun dönem deney gruplarında hem tek doz hem de çoklu doz uygulaması yapılan gruplarda NLRP3 gen ekspresyonu anlamlı olarak azaltmıştır.

Sinir hasarlanması geç dönem modelinde NLRP3 inflamazomu sensör molekülü olan NLRP3/CIAS1 geninin ekspresyonu yeterince yükselmekte ve doğal olarak adaptör ve efektör moleküllerinin de genlerinin ekspresyon düzeylerinin de artmasına neden olmaktadır.

Hem tekli hem de çoklu Anakinra uygulaması NLRP3 gen ekspresyonunu baskıladığı izlenmekte ve çoklu uygulamanın klinik olarak daha etkili olduğu gözlenmiştir.

Deney grupları arasında erken dönemde Il-1B gen ekspresyon düzeyleri sinir hasar grubunda Sham grubuna oranla artmış olmasına bakmayarak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

-Geç dönem hasarlanma modelinde farklı Anakinra uygulamalarının farklı sonuçları olmasına bakmayarak , genelde IL1B gen ekspresyonu baskılanmaktadır.



Tüm inflamazom sistemlerinin efektör molekölü olarak kabul edilen IL-1B molekölünün sinir hasarlanması mekanizmasının hem erken hem de geç döneminde hasarlayıcı bir etkiye sahip olduğu görölmektedir.

NLRP3 inflamazomunun en önemli adaptör molekölü sayılan ASC geninin ekspresyonu hem erken hem de geç dönem sinir hasarlanması modelinde anlamlı bir değişime uğramamıştır.

ASC gen ekspresyonu fazla etkilenmediğinden uygulanan Anakinra yaklaşımları da her hangi bir değişime sebep olmamaktadır.

ASC proteini çok konservatif bir yapı ve fonksiyona sahip olduğundan hiçbir mutasyona uğramamakta ve bunun sonucu olarak da gen ekspresyon düzeylerinin değişmediği literatür bilgisi ile uyumlu olmaktadır.

CASP1 enzimi inflamazom aktivasyonunu belirleyen en önemli moleküldür. Aktivasyon düzeyi genelde bu sistemin efektör molekölü olan IL-1B nin salınmasını ve hücrede işlenmesini sağlamaktadır.

Sinir hasarlanması erken dönemde CASP1 gen ekspresyon düzeyleri deney ve sağlıklı gruplar arasında farklılık göstermemektedir.

Sinir hasarlanması geç döneminde CASP1 gen ekspresyonu artmakta ve çoklu Anakinra uygulaması bu artışı en az 6 kat düşürmektedir.

NLRP3 inflamzom sisteminin doğal inhibitör regülatörlerinden biri olan POP1 molekölünü kodlayan gen ekspresyonu deney modellerinde anlamlı değişmemektedir. Ancak farklı uygulanan Anakinra gruplarında POP1 ekspresyonu diğer gruplara oranla çok anlamlı olarak artmaktadır. Bu veri Anakinranın NLRP3 inflamzomu üzerine inhibitör etki mekanizmasına, yeni farklı bir bakış açısı getirmektedir.

Anakinranın Doğal inhibitör regülatör gen ekspresyonunu arttırarak NLRP3 yolağına etki edebileceğini düşündürmektedir.

NLRP3 inflamzom yolağını ubiqütinasyon aracılığı ile kontrol edebilen doğal regülatör moleküllerden olan TRIM16 gen ekspresyon düzeyleri sağlıklı ve deney gruplarında sinir hasarlanmasının erken döneminde benzer bulunmuştur . Anakinra uygulanması da bu oranı değiştirmemiştir.

Sinir hasarlanması geç döneminde de TRIM16 gen ekspresyon değerleri kontrol plasebo ve Anakinra gruplarında birbirine benzer değerlerde bulunmuştur bu yüzden TRIM16'nın inhibisyon mekanizmasında yer almadığını düşünmekteyiz.

NEK7 gen ekspresyon düzeyleri sham ve deney gruplarında erken dönem sinir hasarlanmasında değişmemektedir. Bu dönemde Anakinra uygulanması NEK7 gen ekspresyon düzeylerini anlamlı olarak azaltmaktadır. Uzun dönem sinir hasarlanması modelinde ise NEK7 gen ekspresyon düzeyleri deney gruplarında anlamlı olarak azalmıştır. Bu gen ekspresyon düzeylerinin azalması Anakinra uygulanması ile daha da bariz şekilde izlenmektedir.

Deneyel sinir hasarlanmasının erken döneminde NLRP3 inflamazom sisteminin farklı moleküllerinin gen ekspresyon düzeylerinin sham ve kontrol gruplarında farklı olmasına bakmayarak istatistiksel anlamlı olmaması gen ekspresyonunun protein miktarına yansımaları için belli bir zamana ihtiyaç duyduğunu düşündürmektedir.

Sinir dokusunda İnflamazom moleküllerinin artışlarının gösterilmesi, sinir hasarlanması modelinde inflamazom aktivasyonu sonrası oluşan inflmasyona bağlı sistemik bulguların ( ağrı, şişlik, ateş, akut faz reaktanları yüksekliği) yanı sıra loklal sinir dokusu hasarlanmasında da İNLRP3 enflamazom moleküllerinin yerinin olduğunu düşündürmektedir.

Bir çok herediter otoinflamtuvar hastalıkların kişiselleştirilmiş hedef tedavisinde yer alan Anakinra molekülünün sinir hasarlanması erken ve geç dönemlerinde farklı derecede inflamazom molekülleri üzerine anlamlı etkili olduğunu gösterdiğimizden, bu molekülün cerrahi pratiğimizde rastalanan sinir hasarlanmalarının patojenik tedavisinde kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

## KAYNAKÇA

1. Terzis, J.K., D.D. Sun, and P.K. Thanos, Historical and basic science review: past, present, and future of nerve repair. *J Reconstr Microsurg*, 1997. 13(3): p. 215-25.
2. TM., B., Nerve repair and grafting. *Green's Operative Hand Surgery*. 1999, New York: Churchill Livingstone.
3. Albay, C., et al., Cyanocobalamin and cholecalciferol synergistically improve functional and histopathological nerve healing in experimental rat model. *Idegyogy Sz*, 2020. 73(3-4): p. 113-120.
4. Robert, R.C., P. Bacchetti, and M.A. Pogrel, Frequency of trigeminal nerve injuries following third molar removal. *J Oral Maxillofac Surg*, 2005. 63(6): p. 732-5; discussion 736.
5. Pogrel, M.A. and L.B. Kaban, Injuries to the inferior alveolar and lingual nerves. *J Calif Dent Assoc*, 1993. 21(1): p. 50-4.
6. Sanchez, M., et al., Platelet-rich plasma, a source of autologous growth factors and biomimetic scaffold for peripheral nerve regeneration. *Expert Opin Biol Ther*, 2017. 17(2): p. 197-212.
7. Fenrich, K. and T. Gordon, Canadian Association of Neuroscience review: axonal regeneration in the peripheral and central nervous systems--current issues and advances. *Can J Neurol Sci*, 2004. 31(2): p. 142-56.
8. Hakimiha N, Dehghan MM, Manaheji H, et al. Recovery of inferior alveolar nerve by photobiomodulation therapy using two laser wavelengths: A behavioral and immunological study in rat. *Journal of Photochemistry and photobiology. B, Biology*. 2020 Mar;204:111785.
9. Pogrel, M. A. (2017). "Nerve damage in dentistry." *Gen Dent* 65(2): 34-41.
10. M F G, M M, S H, Khan WS. Peripheral nerve injury: principles for repair and regeneration. *Open Orthop J*. 2014 Jun 27;8:199-203. .
11. Kubiak CA, Kung TA, Brown DL, Cederna PS, Kemp SWP. State-of-the-Art Techniques in Treating Peripheral Nerve Injury. *Plast Reconstr Surg*. 2018 Mar;141(3):702-710.
12. Rath, G.P., *Handbook of Trigeminal Neuralgia*. 2019. 11-23.
13. Kamel, H.A. and J. Toland, Trigeminal nerve anatomy: illustrated using examples of abnormalities. *AJR Am J Roentgenol*, 2001. 176(1): p. 247-51.
14. van der Wal, J.E., G.B. Snow, and I. van der Waal, Intraoral adenoid cystic carcinoma. The presence of perineural spread in relation to site, size, local extension, and metastatic spread in 22 cases. *Cancer*, 1990. 66(9): p. 2031-3.

15. Nurmikko, T.J. and P.R. Eldridge, Trigeminal neuralgia--pathophysiology, diagnosis and current treatment. *Br J Anaesth*, 2001. 87(1): p. 117-32.
16. Miyazaki, Y., et al., Microsurgical anatomy of the cavernous sinus. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 1994. 34(3): p. 150-63.
17. Kamel, H.A. and J. Toland, Trigeminal nerve anatomy: illustrated using examples of abnormalities. *AJR Am J Roentgenol*, 2001. 176(1): p. 247-51.
18. Moore K L, D.A.F., *Clinically Oriented Anatomy*. 1999.
19. Moore K L, D.A.F., *Clinically Oriented Anatomy*. 1999.
20. G., G.k.F., *Sistematik Anatomi*. 2003: Gü neş Ofset, İZMİR.
21. Arıncı K, E.A., *Anatomi*. 2001: Ö ncü Basımevi ANKARA.
22. F., D., *Nö roanatomı*, in *Fonksiyonel Nö roloji*. 2000, Nobel Tıp Kitabevi: Adana.
23. Nurmikko, T.J. and P.R. Eldridge, Trigeminal neuralgia--pathophysiology, diagnosis and current treatment. *Br J Anaesth*, 2001. 87(1): p. 117-32.
24. Woolfall, P. and A. Coulthard, Pictorial review: Trigeminal nerve: anatomy and pathology. *Br J Radiol*, 2001. 74(881): p. 458-67.
25. Shankland, W.E., 2nd, The trigeminal nerve. Part IV: the mandibular division. *Cranio*, 2001. 19(3): p. 153-61.
26. Gudmundsson, K., A.L. Rhoton, Jr., and J.G. Rushton, Detailed anatomy of the intracranial portion of the trigeminal nerve. *J Neurosurg*, 1971. 35(5): p. 592-600.
27. Dağıştanlı, A., *Panoramik Radyografilerde Foramen Mentalenin Lokalizasyonunun İncelenmesi*. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 2003.
28. Gupta, T., Localization of important facial foramina encountered in maxillo-facial surgery. *Clin Anat*, 2008. 21(7): p. 633-40.
29. Santini, A. and M. Land, A comparison of the position of the mental foramen in Chinese and British mandibles. *Acta Anat (Basel)*, 1990. 137(3): p. 208-12.
30. Direk, F., et al., Mental foramen and lingual vascular canals of mandible on MDCT images: anatomical study and review of the literature. *Anat Sci Int*, 2018. 93(2): p. 244-253.
31. Hyman LH. *Comparative vertebrate anatomy*. Chicago: University of Chicago Press, 1944.
32. Nicholson ML: A study of the position of the mandibular foramen in the adult human mandible. *Anat Rec* 1985; 212:110-112.
33. Shankland WE. The trigeminal nerve. Part IV: the mandibular division. *CRANIO* 19(3): 153-161.
34. Brash JC, Jamieson EB. *Cunningham's textnook of anatomy (8th ed.)*. London: Oxford University Press, 1947.

35. Riesenfeld, A., Multiple infraorbital, ethmoidal, and mental foramina in the races of man. *Am J Phys Anthropol*, 1956. 14(1): p. 85-100.
36. Sawyer, D.R., M.L. Kiely, and M.A. Pyle, The frequency of accessory mental foramina in four ethnic groups. *Arch Oral Biol*, 1998. 43(5): p. 417-20.
37. Singh R, S.A., Study of position, shape, size and incidence of mental foramen and accessory mental foramen in Indian adult human skulls. *Int J Morphol* 2010. 28(4): p. 1141–1146.
38. Kalender, A., K. Orhan, and U. Aksoy, Evaluation of the mental foramen and accessory mental foramen in Turkish patients using cone-beam computed tomography images .
39. Goregen M, M.O., Ersoy I, Bayrakdar IS, Akgül H M, The assessment of accessory mental foramina using cone-beam computed tomography. *Turk J Med Sci*, 2013: p. 479–483.
40. Bagheri S, Meyer R, Cho S. A retrospective review of microsurgical repair of 186 inferior alveolar nerve injuries. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2010; 68(9): e27-e28. .
41. Greenstein G, Tarnow D. The mental foramen and nerve: clinical and anatomical factors related to dental implant placement: a literature review . *Journal of Periodontology* 2006; 77(12): 1933-1943.
42. Ziccardi, V.B. and L.A. Assael, Mechanisms of trigeminal nerve injuries. *Atlas Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, 2001. 9(2): p. 1-11.
43. Filo, K., et al., The inferior alveolar nerve's loop at the mental foramen and its implications for surgery. *J Am Dent Assoc*, 2014. 145(3): p. 260-9.
44. Pogrel MA, Bryan J, Regezi J. Nerve Damage Associated: With Inferior Alveolar Nerve Blocks. *The Journal of the American Dental Association* 1995; 126(8): 1150-1155.
45. Krafft TC, Hickel R. Clinical investigation into the incidence of direct damage to the lingual nerve caused by local anaesthesia. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery* 1994; 22(5): 294-296.
46. Wang, T.M., et al., A clinical and anatomical study of the location of the mental foramen in adult Chinese mandibles. *Acta Anat (Basel)*, 1986. 126(1): p. 29-33.
47. Kutuk, N., et al., Reliability of panoramic radiography in determination of neurosensory disturbances related to dental implant placement in posterior mandible. *Implant Dent*, 2014. 23(6): p. 648-52.
48. L., Y., Neurosensory disturbance after bilateral sagittal split osteotomy, in University of Oulu. 2002.
49. Şirin Y, S.S., Bilateral Sagittal Split Osteotomi Ve Distraksiyon Osteogenezi Yö ntemleri İ le Yapılan Alt Çenenin İ lerletilmesi Girişimlerinde Oluşan İ nferior Alveolar Sinir

- Hasarlarının İncelenmesi. Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry, 2012. 46: p. 71-81.
50. Harris M, H.N., Ortognatik cerrahinin temelleri. Acil durumlar ve komplikasyonlar. 2010, İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi. 444-74.
  51. Dworkin, S.F., et al., Epidemiology of signs and symptoms in temporomandibular disorders: clinical signs in cases and controls. J Am Dent Assoc, 1990. 120(3): p. 273-81.
  52. Karas, N.D., S.B. Boyd, and D.P. Sinn, Recovery of neurosensory function following orthognathic surgery. J Oral Maxillofac Surg, 1990. 48(2): p. 124-34.
  53. Al-Bishri, A., et al., Incidence of neurosensory disturbance after sagittal split osteotomy alone or combined with genioplasty. Br J Oral Maxillofac Surg, 2004. 42(2): p. 105-11.
  54. Van Sickels, J.E., et al., Effects of age, amount of advancement, and genioplasty on neurosensory disturbance after a bilateral sagittal split osteotomy. J Oral Maxillofac Surg, 2002. 60(9): p. 1012-7.
  55. Thygesen, T.H., et al., Risk factors affecting somatosensory function after sagittal split osteotomy. J Oral Maxillofac Surg, 2008. 66(3): p. 469-74.
  56. McLeod NMH, Bowe DC. Nerve injury associated with orthognathic surgery. Part 2: inferior alveolar nerve. British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 2016; 54(4): 366-371.
  57. Renton T, Hankins M, Sproate C, McGurk M. A randomised controlled clinical trial to compare the incidence of injury to the inferior alveolar nerve as a result of coronectomy and removal of mandibular third molars. British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 2005; 43(1): 7-12.
  58. Pogrel MA, Goldman KE. Lingual flap retraction for third molar removal. Journal of oral and maxillofacial surgery 2004; 62(9): 1125-1130.
  59. Moose SM. Surgical correction of mandibular prognathism by intra-oral sub- condylar osteotomy. British Journal of Oral Surgery 1963; 1: 172-176.
  60. Kryshchalskyj B, Weinberg S. An assessment for auriculotemporal syndrome following temporomandibular joint surgery through the preauricular approach. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 1989; 47(1): 3-6.
  61. Dolwick MF, Kretschmar DP. Morbidity associated with the preauricular and perimeatal approaches to the temporomandibular joint. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 1982; 40(11): 699-700.
  62. Nellestam P, Eriksson, L. Preauricular approach to the temporomandibular joint: a postoperative follow-up on nerve

- function, hemorrhage and esthetics. *Swedish dental Journal* 1997; 21(1-2): 19-24.
63. Weinberg S, Kryshtalskyj B. Facial nerve function following temporomandibular joint surgery using the preauricular approach. *Journal of oral and maxillofacial surgery* 1992; 50(10): 1048-1051.
  64. Yamamoto MK, D'Avila RP, de Cerqueira Lu JG. Evaluation of surgical retreatment of mandibular fractures. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 2013; 41(1): 42-46.
  65. Downie JJ, Devlin MF, Carton ATM, Hislop WS. Prospective study of morbidity associated with open reduction and internal fixation of the fractured condyle by the transparotid approach. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2009; 47(5): 370-373.
  66. Lydiatt, D.D., Litigation and the lingual nerve. *J Oral Maxillofac Surg*, 2003. 61(2): p. 197-200; discussion 200.
  67. Vora AR, Loescher AR, Craig GT, Boissonade FM, Robinson PP. A light microscopical study on the structure of traumatic neuromas of the human lingual nerve. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2005; 99(4): 395-403.
  68. Seddon HJ. Three types of nerve injury. *Brain* 1943; 66: 237-288.
  69. Terzis JK, Smith KL. Repair and Grafting of the Peripheral Nerve: Plastic Surgery. McCarthy JG (ed), WB Saunders, Philadelphia.1990: p630- 697.
  70. Dvali L, Mackinnon S. Peripheral nerve repair and transfers. In: McCarthy JG, Galiano RD, Boutros SG. (eds), *Current therapy in plastic surgery*. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2006: 568-573.
  71. Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus*, 2004; 16: 1-7.
  72. Stoll G, Müller HW. Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. *Brain Pathology* 1999; 9: 313-325.
  73. Robinson LR. Traumatic injury to peripheral nerves. *Muscle and Nerve*, 2000; 23: 863-873.
  74. Fernandez E, Pallini R, Lauretti L, Scogna A. Neurosurgery of the peripheral nervous system: injuries, degeneration and regeneration of the peripheral nerves. *Surg Neurol* 1997; 48: 446-447.
  75. Brushart TM. Nerve repair and grafting, *Green's Operative Hand Surgery*. Green DP (ed), Churchill Livingstone. New York, 1999: p1381-1403.
  76. Maggi SP, Lowe JB, Mackinnon SE. Pathophysiology of nerve injury. *Clin Plast Surg*. 2003; 30(2): 109–126.
  77. Shyu BC, Danielsen N, Andersson SA, Dahlin LB. Effects of sympathetic stimulation on C-fibre response after peripheral

- nerve compression: an experimental study in the rabbit common peroneal nerve. *Acta Physiol Scand* 1990; 140: 237-243.
78. Seckel BR. Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve*. 1990; 13:785–800.
  79. B Lundborg G. Nerve regeneration and repair. A review. *Acta Orthop Scand*.1987; 58:145–169.
  80. Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain*. 1951; 74:491-516.
  81. Achauer BM, Eriksson E. *Plastic Surgery*, St. Louis, Mosby 2000; 1: 79-83.
  82. Geuna S, Raimondo S, Ronchi G, Di Scipio, F, Tos P, Czaja K, Fornaro M. Histology of the peripheral nerve and changes occurring during nerve regeneration. *International review of neurobiology* 2009; 87: 27-46.
  83. Santo Neto, H., et al., Axonal regeneration through muscle autografts submitted to local anaesthetic pretreatment. *Br J Plast Surg*, 1998. 51(7): p. 555-60.
  84. R.S., S., *Clinical Neuroanatomy for Medical Students*. 1980, Boston: Little Brown and Company.
  85. C., E., *Santral ve Periferik EMG Kitabı*. 2006, İzmir: Meta Basım.
  86. Sezer, A., et al., Neuroprotective effects of agmatine in experimental peripheral nerve injury in rats: a prospective randomized and placebo-controlled trial. *Turk Neurosurg*, 2014. 24(2): p. 196-201.
  87. Lundborg, G., Nerve regeneration and repair. A review. *Acta Orthop Scand*, 1987. 58(2): p. 145-69.
  88. Burnett, M.G. and E.L. Zager, Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus*, 2004. 16(5): p. E1.
  89. Maggi, S.P., J.B. Lowe, 3rd, and S.E. Mackinnon, Pathophysiology of nerve injury. *Clin Plast Surg*, 2003. 30(2): p. 109-26.
  90. Lundborg, G., A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *J Hand Surg Am*, 2000. 25(3): p. 391-414.
  91. Terzis JK, S.K., *Repair and Grafting of the Peripheral Nerve: Plastic Surgery*. 1990, Philadelphia: WB Saunders. 630-697.
  92. Chiu, D.T., et al., Neurotropism revisited. *Neurol Res*, 2004. 26(4): p. 381-7.
  93. LB., D., The biology of nerve injury and repair. *J Am Soc Surg Hand*, 2004. 4(3): p. 143-155.
  94. Reichert, F., A. Saada, and S. Rotshenker, Peripheral nerve injury induces Schwann cells to express two macrophage phenotypes: phagocytosis and the galactose-specific lectin MAC-2. *J Neurosci*, 1994. 14(5 Pt 2): p. 3231-45.



95. Bunge, R.P., The role of the Schwann cell in trophic support and regeneration. *J Neurol*, 1994. 242(1 Suppl 1): p. S19-21.
96. Lowe, G. D. (2001). "The relationship between infection, inflammation, and cardiovascular disease: an overview." *Ann Periodontol* 6(1): 1-8.
97. Chen, G. Y. and G. Nunez (2010). "Sterile inflammation: sensing and reacting to damage." *Nat Rev Immunol* 10(12): 826-837.
98. Takeuchi, O. and S. Akira (2010). "Pattern recognition receptors and inflammation." *Cell* 140(6): 805-820.
99. Bauernfeind, F., A. Ablasser, E. Bartok, S. Kim, J. Schmid-Burgk, T. Cavlar and V. Hornung (2011). "Inflammasomes: current understanding and open questions." *Cell Mol Life Sci* 68(5): 765-783.
100. Martinon, F., K. Burns and J. Tschopp (2002). "The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta." *Mol Cell* 10(2): 417-426.
101. Schroder, K. and J. Tschopp (2010). "The inflammasomes." *Cell* 140(6): 821-832.
102. Manji, G. A., L. Wang, B. J. Geddes, M. Brown, S. Merriam, A. Al-Garawi, S. Mak, J. M. Lora, M. Briskin, M. Jurman, J. Cao, P. S. DiStefano and J. Bertin (2002). "PYPAF1, a PYRIN-containing Apaf1-like protein that assembles with ASC and regulates activation of NF-kappa B." *J Biol Chem* 277(13): 11570-11575.
103. Fernandes-Alnemri, T., J. Wu, J. W. Yu, P. Datta, B. Miller, W. Jankowski, S. Rosenberg, J. Zhang and E. S. Alnemri (2007). "The pyroptosome: a supramolecular assembly of ASC dimers mediating inflammatory cell death via caspase-1 activation." *Cell Death Differ* 14(9): 1590-1604.
104. Le, H. T. and J. A. Harton (2013). "Pyrin- and CARD-only Proteins as Regulators of NLR Functions." *Front Immunol* 4: 275.
105. Pineau, I. and S. Lacroix (2007). "Proinflammatory cytokine synthesis in the injured mouse spinal cord: multiphasic expression pattern and identification of the cell types involved." *J Comp Neurol* 500(2): 267-285.
106. da Silva, K. A., A. F. Paszcuk, G. F. Passos, E. S. Silva, A. F. Bento, F. C. Meotti and J. B. Calixto (2011). "Activation of cannabinoid receptors by the pentacyclic triterpene alpha,beta-amyrin inhibits inflammatory and neuropathic persistent pain in mice." *Pain* 152(8): 1872-1887.

107. Nadeau, S., M. Filali, J. Zhang, B. J. Kerr, S. Rivest, D. Soulet, Y. Iwakura, J. P. de Rivero Vaccari, R. W. Keane and S. Lacroix (2011). "Functional recovery after peripheral nerve injury is dependent on the pro-inflammatory cytokines IL-1beta and TNF: implications for neuropathic pain." *J Neurosci* 31(35): 12533-12542.
108. Cui, M., J. Liang, D. Xu, L. Zhao, X. Zhang, L. Zhang, S. Ren, D. Liu, X. Niu, Y. J. Zang and B. Zhang (2020). "NLRP3 inflammasome is involved in nerve recovery after sciatic nerve injury." *Int Immunopharmacol* 84: 106492.
109. Perez-Polo, J. R., H. C. Rea, K. M. Johnson, M. A. Parsley, G. C. Unabia, G. Y. Xu, D. Prough, D. S. DeWitt, A. A. Paulucci-Holthausen, K. Werrbach-Perez and C. E. Hulsebosch (2016). "Inflammatory cytokine receptor blockade in a rodent model of mild traumatic brain injury." *J Neurosci Res* 94(1): 27-38.
110. Perez-Polo, J. R., H. C. Rea, K. M. Johnson, M. A. Parsley, G. C. Unabia, G. Xu, S. K. Infante, D. S. Dewitt and C. E. Hulsebosch (2013). "Inflammatory consequences in a rodent model of mild traumatic brain injury." *J Neurotrauma* 30(9): 727-740.
111. Spulber, S., T. Bartfai and M. Schultzberg (2009). "IL-1/IL-1ra balance in the brain revisited - evidence from transgenic mouse models." *Brain Behav Immun* 23(5): 573-579.
112. So, A., T. De Smedt, S. Revaz and J. Tschopp (2007). "A pilot study of IL-1 inhibition by anakinra in acute gout." *Arthritis Res Ther* 9(2): R28.
113. Clausen, F., A. Hanell, M. Bjork, L. Hillered, A. K. Mir, H. Gram and N. Marklund (2009). "Neutralization of interleukin-1beta modifies the inflammatory response and improves histological and cognitive outcome following traumatic brain injury in mice." *Eur J Neurosci* 30(3): 385-396.
114. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2022 Jul 1;14(7):a041061. doi: 10.1101/cshperspect.a041061.
115. *Mol Aspects Med.* 2022 Jun 10;88:101100. doi: 10.1016/j.mam.2022.101100. Online ahead of print. The human inflammasomes.
116. *Int J Mol Sci.* 2022 Jul 23;23(15):8129. doi: 10.3390/ijms23158129. Inflammasomes-New Contributors to Blood Diseases.
117. *Mol Neurodegener.* 2022 Jan 9;17(1):4. doi: 10.1186/s13024-021-00506-8. The role of inflammasomes in vascular cognitive impairment.
118. Hoffman HM, Broderick L. The role of the inflammasome in patients with autoinflammatory diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2016 Jul;138(1):3-14.
119. *Trends Cell Biol.* 2021 Nov;31(11):924-939. doi: 10.1016/j.tcb.2021.06.010. Epub 2021 Jul 17. Cell biology of inflammasome activation.

120. Semin Cancer Biol. 2022 Aug;83:399-412. doi: 10.1016/j.semcancer.2020.09.013. Epub 2020 Oct 9.
121. Curr Osteoporos Rep. 2022 Jun;20(3):170-185. doi: 10.1007/s11914-022-00729-8. Epub 2022 May 14.
122. Front Immunol. 2022 May 30;13:863774. doi: 10.3389/fimmu.2022.863774. eCollection 2022.
123. Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and Functions of Inflammasomes. Cell. 2014 May;157(5):1013–22.
124. Hakimiha, N., M. M. Dehghan, H. Manaheji, J. Zaringhalam, S. Farzad-Mohajeri, R. Fekrazad and N. Moslemi (2020). “Recovery of inferior alveolar nerve by photobiomodulation therapy using two laser wavelengths: A behavioral and immunological study in rat.” J Photochem Photobiol B 204: 111785.
125. Perez-Polo, J. R., H. C. Rea, K. M. Johnson, M. A. Parsley, G. C. Unabia, G. Y. Xu, D. Prough, D. S. DeWitt, A. A. Paulucci-Holthauzen, K. Werrbach-Perez and C. E. Hulsebosch (2016). “Inflammatory cytokine receptor blockade in a rodent model of mild traumatic brain injury.” J Neurosci Res 94(1): 27-38.
126. Helmy, A., M. R. Guilfoyle, K. L. Carpenter, J. D. Pickard, D. K. Menon and P. J. Hutchinson (2014). “Recombinant human interleukin-1 receptor antagonist in severe traumatic brain injury: a phase II randomized control trial.” J Cereb Blood Flow Metab 34(5): 845-851.
127. Iwanaga, J., P. J. Choi, M. Vetter, M. Patel, S. Kikuta, R. J. Oskouian and R. S. Tubbs (2018). “Anatomical Study of the Lingual Nerve and Inferior Alveolar Nerve in the Pterygomandibular Space: Complications of the Inferior Alveolar Nerve Block.” Cureus 10(8): e3109.
128. Pogrel, M. A. (2017). “Nerve damage in dentistry.” Gen Dent 65(2): 34-41.
129. Rizzo S., L. M., Zampetti P (2009). “Nerve damage resulting from oral surgery and medical legal implications.” Journal of Osseointegration 3(1): 86-94.
130. Jacobs, R., M. Quirynen and M. M. Bornstein (2014). “Neurovascular disturbances after implant surgery.” Periodontol 2000 66(1): 188-202.
131. Zuniga, J. R. (2015). “Sensory outcomes after reconstruction of lingual and inferior alveolar nerve discontinuities using processed nerve allograft--a case series.” J Oral Maxillofac Surg 73(4): 734-744.
132. Kubiak, C. A., T. A. Kung, D. L. Brown, P. S. Cederna and S. W. P. Kemp (2018). “State-of-the-Art Techniques in Treating Peripheral Nerve Injury.” Plast Reconstr Surg 141(3): 702-710.

133. Pineau, I. and S. Lacroix (2007). "Proinflammatory cytokine synthesis in the injured mouse spinal cord: multiphasic expression pattern and identification of the cell types involved." *J Comp Neurol* 500(2): 267-285.
134. da Silva, K. A., A. F. Paszcuk, G. F. Passos, E. S. Silva, A. F. Bento, F. C. Meotti and J. B. Calixto (2011). "Activation of cannabinoid receptors by the pentacyclic triterpene alpha,beta-amyrin inhibits inflammatory and neuropathic persistent pain in mice." *Pain* 152(8): 1872-1887.
135. Nadeau, S., M. Filali, J. Zhang, B. J. Kerr, S. Rivest, D. Soulet, Y. Iwakura, J. P. de Rivero Vaccari, R. W. Keane and S. Lacroix (2011). "Functional recovery after peripheral nerve injury is dependent on the pro-inflammatory cytokines IL-1beta and TNF: implications for neuropathic pain." *J Neurosci* 31(35): 12533-12542.
136. Cui, M., J. Liang, D. Xu, L. Zhao, X. Zhang, L. Zhang, S. Ren, D. Liu, X. Niu, Y. J. Zang and B. Zhang (2020). "NLRP3 inflammasome is involved in nerve recovery after sciatic nerve injury." *Int Immunopharmacol* 84: 106492.
137. Clausen, F., A. Hanell, M. Bjork, L. Hillered, A. K. Mir, H. Gram and N. Marklund (2009). "Neutralization of interleukin-1beta modifies the inflammatory response and improves histological and cognitive outcome following traumatic brain injury in mice." *Eur J Neurosci* 30(3): 385-396.
138. Spulber, S., T. Bartfai and M. Schultzberg (2009). "IL-1/IL-1ra balance in the brain revisited - evidence from transgenic mouse models." *Brain Behav Immun* 23(5): 573-579.
139. Puyang Z, Feng L, Chen H, Liang P, Troy JB, Liu X. Retinal Ganglion Cell Loss is Delayed Following Optic Nerve Crush in NLRP3 Knockout Mice. *Sci Rep*. 2016 Aug 19;6(1):20998.
140. Qijun Z, Huan Z, Ling G, Kaijian C, Wei L, Shuxing J, et al. The levels and significance of inflammasomes in the mouse retina following optic nerve crush. *Int Immunopharmacol*. 2019 Jun;71:313–20.
141. Zhang Z, Liu W, Huang Y, Luo L, Cai X, Liu Y, et al. NLRP3 Deficiency Attenuates Secondary Degeneration of Visual Cortical Neurons Following Optic Nerve Injury. *Neurosci Bull*. 2020 Mar 26;36(3):277–88.
142. Chen Y, Meng J, Xu Q, Long T, Bi F, Chang C, et al. Rapamycin improves the neuroprotection effect of inhibition of NLRP3 inflammasome activation after TBI. *Brain Res*. 2019 May;1710:163–72.
143. Nógrádi B, Nyúl-Tóth Á, Kozma M, Molnár K, Patai R, Siklós L, et al. Upregulation of Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-, LRR- and Pyrin Domain-Containing Protein 3 in Motoneurons Following Peripheral Nerve Injury in Mice. *Front Pharmacol*. 2020 Nov 26;11.

144. Liu HD, Li W, Chen ZR, Hu YC, Zhang DD, Shen W, et al. Expression of the NLRP3 Inflammasome in Cerebral Cortex After Traumatic Brain Injury in a Rat Model. *Neurochem Res.* 2013 Oct 28;38(10):2072–83.
145. Cui M, Liang J, Xu D, Zhao L, Zhang X, Zhang L, et al. NLRP3 inflammasome is involved in nerve recovery after sciatic nerve injury. *Int Immunopharmacol.* 2020 Jul;84:106492.

Ek1: Ege Üniveritesi Deney Hayvanları Merkezi Etik Onay Formu

