



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**DERİVE EDİLMİŞ YÜKSEK VİSKOZİTELİ HİYALÜRONİK ASİD'İN
SPİNAL EPİDURAL FİBROZİS ÜZERİNE
ETKİSİ: DENEYSEL ÇALIŞMA**

Dr. Semra IŞIK

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2013



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DERİVE EDİLMİŞ YÜKSEK VİSKOZİTELİ HİYALÜRONİK ASİD'İN
SPİNAL EPİDURAL FİBROZİS ÜZERİNE
ETKİSİ: DENEYSEL ÇALIŞMA

Dr. Semra IŞIK

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. Şeref DOĞAN

Bursa-2013

İÇİNDEKİLER

Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iv
Giriş.....	1
Gereç ve Yöntem.....	5
Cerrahi prosedür	5
Histopatolojik değerlendirme	7
Biyokimyasal analiz.....	9
İstatistiksel inceleme	10
Bulgular	12
Histopatolojik değerlendirme	12
Biyokimyasal analiz.....	19
Tartışma ve Sonuç	21
Kaynaklar	29
Ekler.....	36
Teşekkür.....	37
Özgeçmiş.....	38

ÖZET

Epidural fibrozis; epidural mesafe ile birlikte sinir köklerinin fibroblastik invazyona uğramasıdır. Bu yoğun fibröz doku, cerrahi sonrası bel ağrısı, radiküler ağrı semptomlarına neden olmasının yanı sıra, sonradan gerekebilecek bir operasyonda intraspinal yapıların diseksiyonunu da zorlaştırmaktadır.

Epidural fibrozis gelişimini önlemek için, cerrahi teknikler ve çeşitli tıbbi tedaviler uygulanmıştır. Bir glikozaminoglikan olan hiyalüronik asid oligomerlerinin oto-çapraz bağlanması ile elde edilen derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asidin; obstetrik, jinekolojik ve abdominal cerrahide yapışıklık ve sikatris oluşumunun engellenmesi ile yara iyileşmesinin erken fazlarında rolü olduğu gösterilmiştir.

Oluşturduğumuz deneysel laminektomi - diskektomi modeli ile derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asidin epidural fibrozisi önlemede histopatolojik ve biyokimyasal etkilerinin incelenmesi ve araştırılması amaçlandı.

Çalışmamıza 60 adet, Sprague-Dawley dişi sıçan alındı. Ancak cerrahi sırasında dural yaralanma meydana gelen 3 denek ile hematom gelişen 1 denek çalışma dışı bırakıldı. Son değerlendirme 56 denek ile yapıldı. Denekler; 1. grup (Sham grubu, n=14); laminektomi ve diskektomi yapıp mesafeye herhangi bir madde uygulanmayan, 2. grup (Kontrol grubu, n=14); laminektomi ve diskektomi yapıp mesafeye topikal % 0,9 NaCl uygulanan, 3. grup [Hiyalüronik asid (HA) deney grubu, n=14], laminektomi ve diskektomi yapıp operasyon sahasına topikal hiyalüronik asid uygulanan ile 4. grup [Derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asid (HA gel) deney grubu, n=14]; laminektomi ve diskektomi yapıp operasyon sahasına topikal derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asid uygulanan grup olarak dört gruba ayrıldı. Tüm denekler 4. haftanın sonunda dekapite edilip epidural fibröz dokunun biyokimyasal ve histopatolojik incelemeleri yapıldı. Sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asidin uygulandığı grupta sham ve kontrol grubuna oranla epidural fibrozis, dural adezyon, fibroblast hücre yoğunluğu ile doku hidrokspolin düzeylerinin belirgin olarak az olduğu izlendi ($p < 0,05$). Grup 3 ve 4 arasında ise histopatolojik skorlara ve biyokimyasal değerlere bakıldığında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0,05$).

Sonuç olarak; derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asidin laminektomi sonrası gelişen epidural fibrozis ile oluşan fibrotik doku yoğunluğunun azaltılmasında olumlu etkileri gözlenmiştir. Bu çalışmanın öncülüğünde yapılacak daha ileri deneysel ve klinik çalışmalar ile elde edilecek sonuçların klinik pratikte uygulama alanları bulması ile epidural fibrozisin önlenmesinde önemli yol alınacağı kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asid, epidural fibrozis, hidrokspolin, hiyalüronik asid, laminektomi.

SUMMARY

Effects of Crosslinked High Molecular Weight Hyaluronic Acid on Epidural Fibrosis: Experimental Research

Epidural fibrosis is fibroblastic invasion of nerve roots into the epidural space. Formation of dense fibrous tissue causes lumbar and radicular pain. In addition to radicular symptoms, scar tissue may cause problems during redo surgery.

Several surgical techniques and medical treatments have been extensively studied to prevent epidural fibrosis development. Crosslinked high molecular weight hyaluronic acid, a glucosaminoglycan which is obtained by auto-crosslinking of hyaluronic acid oligomers, has been shown to play a role in prevention of fibrosis and scar formation, therefore early phases of wound healing in obstetrics, gynecology and abdominopelvic surgery.

By this laminectomy – discectomy model we aimed to investigate effects of crosslinked high molecular weight hyaluronic acid on prevention of epidural fibrosis, by using histopathological and biochemical parameters.

A total of 60 adult female Sprague-Dawley rats were used in this study. However, 4 rats were excluded due to peroperative dural tear or hematoma formation. The final evaluation was done by 56 rats. They were divided into four groups; group 1 (Sham group, n=14); underwent laminectomy and discectomy, and was not given any treatment, group 2 (Control group, n=14); were laminectomized and discectomized, and 0.9 % NaCl was applied on the surgical area, group 3 [Hyaluronic acid (HA) group, n=14]; hyaluronic acid was applied to surgical area after identical surgical procedure, group 4 [crosslinked high molecular weight hyaluronic acid (HA gel) group, n=14]; underwent laminectomy and discectomy, and crosslinked high molecular weight hyaluronic acid was applied to surgical area. All rats were decapitated after 4 weeks and groups were evaluated

histopathologically and biochemically. Results were statistically compared with Mann-Whitney U test.

Compared with sham and control groups, significantly less epidural fibrosis, dural adhesion, fibroblast cell density, and tissue hydroxyprolin concentrations were observed in the group treated with topical crosslinked high molecular weight hyaluronic acid ($p < 0.05$). There were no significant differences in any histopathological parameters and biochemical values between Group 3 and 4 ($p > 0.05$).

In conclusion, positive effects of crosslinked high molecular weight hyaluronic acid in prevention of epidural fibrosis and reduction of fibrotic tissue density were observed. The efficacy of this agent should also be supported with further experimental and clinical studies.

Key words: Crosslinked high molecular weight hyaluronic acid, epidural fibrosis, hydroxyprolin, hyaluronic acid, laminectomy.

GİRİŞ

Spinal cerrahi sonrası bel ve bacak ağrısı gibi şikayetlerin devam etmesi veya artış göstermesi 'Başarısız Bel Cerrahisi Sendromu (BBCS)' olarak tanımlanmaktadır. BBCS hastalarının % 6-24'ünde semptomların nedeninin epidural fibrozis olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (1, 2). Epidural fibrozis, epidural mesafede fibroz doku gelişmesidir, ilk kez 1948 yılında Key ve Ford tarafından tanımlanmıştır (3).

Spinal cerrahi sonra görülen başarısızlık sebepleri 3 grupta incelenmektedir (4, 5);

Grup 1: Uygun olmayan veya yetersiz tanı konulan olgular (6 - 8).

Grup 2: Doğru tanı konulan fakat uygun olmayan veya yetersiz tedavinin uygulandığı olgular (6, 9 - 11). Rezidüel disk parçası kalması, aynı seviyede rekürren disk herniasyonu olması, başka bir seviyede disk herniasyonu olması, psödomeningosel, epidural hematoma gelişmesi, segmental instabilite, lomber spinal stenoz bu grupta değerlendirilebilir.

Grup 3: Doğru tanı konulan, belirtilerin geçtiği bir dönemin olduğu ve ardından ağrı sendromunun tekrarladığı olgular (5, 10, 12). Bunlar; disk herniasyonu veya cerrahi sonrası kalıcı sinir kökü yaralanmasının olduğu, epidural fibrozis, adeziv araknoidit, diskitis geliştiği durumlar, bel ağrısı yapan; paraspinal kas spazmı, miyofasiyal sendrom, tetik noktaları gibi diğer nedenler ile hastanın motivasyon eksikliği, sekonder kazançlar, psikolojik problemler, ilaç bağımlılığı gibi anatomik olmayan faktörlerdir.

Ağrının postoperatif ne zaman başladığı mutlaka bilinmelidir. Ağrısız dönemin süresi etyoloji hakkında bize bir takım bilgiler verebilir. Ağrısız dönem 1-6 ay arası sürüyor ve semptomlar yavaş yavaş belirginleşiyor ise öncelikle epidural fibrozis akla gelmelidir (13).

Epidural fibrozis gelişimini önlemede cerrahi teknikler ve çeşitli tıbbi tedaviler uygulanmıştır. Daha küçük insizyonla minimal invaziv cerrahi ve kas diseksiyonu, cerrahi esnasında manipülasyonların sınırlandırılması ve uygun hemostazın sağlanmasının epidural fibrozis miktarını azalttığı belirtilmiştir

(14). Eldivenlerdeki pudra ve pamuk lifleri gibi yabancı materyal ve toksinlerin bölgeden peroperatif serum fizyolojik irrigasyonu ile uzaklaştırılması fibrozis oluşumunu azaltmaktadır (15, 16).

Bununla birlikte değişik deneysel modellerde çeşitli materyal ve yöntemler kullanılmıştır: Bunlar:

1. *Biyolojik materyaller*: Serbest ya da pediküllü yağ grefti (17 - 21), dermis (22), ligamentum flavum (23), dura mater (24), amniyotik membran (25).

2. *Yumuşak nonbiyolojik materyaller*: Absorbe olabilen jelatin köpük sünger (26), spongostan (27), silastik membranlar (28), vicryl (poliglaktin 910) (29), polilaktik asit (30), hemostatik ajan (21, 31).

3. *Solid nonbiyolojik materyeller*: Politetraflüroetilen membran (3, 28), polimetilmetakrilat veya otojen laminar kemik grefti ile replasman (32).

4. *Visköz materyaller*: Karboksimetilsellüloz (33, 34), polietilen oksid (33, 34), sodyum hiyalüronik asit (21, 35), yüksek molekül ağırlıklı hiyalüronik asit (21, 35 - 38).

5. *Farmakolojik ve diğer tedavi metodları*: Steroidler; metilprednizolon, triamsinolon, ketoprofenin, deksametazon (39 - 42), antiinflamatuvar ilaçlar (26, 40), kolşisin (43), sitikolin (44), CO₂ laser (45), düşük doz radyasyon tedavisi (46).

Son yıllarda hiyalüronik asit (HA) yumuşak doku rejenerasyonunda umut vaat eden, potansiyel efektif bir biyomateryal olarak tanımlanmıştır. HA tüm omurgalıların yumuşak dokularında, ekstrasellüler matrikste doğal olarak bulunan, tekrarlayıcı D-glukuronik asit ve N-asetil glukozamin ünitelerinin β -4 bağlarıyla bağlanmasından oluşmuş bir heteropolisakkarittir (39, 47) (Şekil-1). HA in vivo ortamda oksidasyon veya hiyalüronidazlar tarafından parçalanıp birçok metabolik yol aracılığı ile tamamen rezorbe olmaktadır. Embriyonik gelişim, doku organizasyonu, yara iyileşmesi ve anjiyogenezis gibi birçok biyolojik olayda düzenleyici rol oynamaktadır. Yüksek derecede biyoyumludur ve yabancı cisim reaksiyonuna yol açmaz (48 - 50). Ayrıca birçok kaynaktan elde edilebilir ve klinik kullanım için büyük miktarlarda üretilebilir (48, 51). Egzojen HA'in fetal fibroblast proliferasyonunu belirgin düzeyde

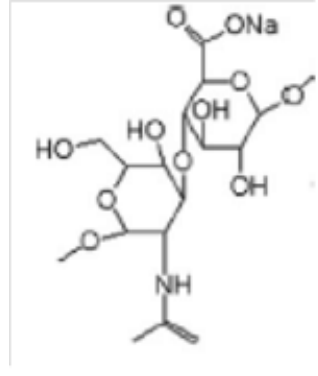
engellediği raporlanmıştır. Veriler yara iyileşmesinin ilk aşamalarında ekstrasellüler alanda göreceli olarak yüksek doz HA konsantrasyonunun, ekstrasellüler matriks ve kollajen birikimini kısmen sınırlayabildiğini göstermiştir (52 - 54). Bu da HA'in fibrozis ve sikatris oluşumunun engellenmesi ile yara iyileşmesinin erken fazlarında rolü olduğunu akla getirmektedir. Bundan dolayı HA oftalmik cerrahide bir vizkoelastik biyomateryal olarak, ortopedide eklem hastalıklarının tedavisinde, jinekolojide, abdominal ve pelvik cerrahi ile kozmetikte çeşitli medikal amaçlar için kullanılmıştır (52).

Hiyalüronik asid içeren bariyer filmlerin spinal cerrahi sonrası epidural fibrozisi engellemede ve yapışıklıkları azaltmada etkili olabileceği iddia edilmiştir (35, 36). Ancak HA'in oda havasında suda hızla çözünür olması ve dokularda kalıcı olamaması nedeniyle klinik uygulamada yaygınlık kazanamamıştır.

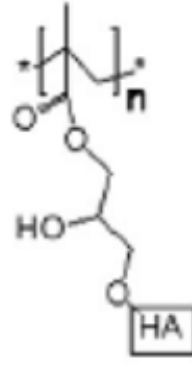
Derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asid (Hyalobarrier®, HA gel), saf hiyalüronik asid oligomerlerinin herhangi bir kimyasal maddeye maruz bırakılmadan, doğal yapıya ters düşmeyecek ve yan etki oluşturmayacak şekilde oto-çapraz bağlanması ile elde edilir, ortalama molekül ağırlığı 6000 kDa'dur (55, 56), HA'e göre viskozitesi daha düşük ve dokuda kalma zamanı daha uzundur (7 gün) (57 - 59) (şekil-1). Bu HA derivesinin Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF- α) ve -beta (TNF- β)'nin kuvvetli bir inhibitörü olduğu gösterilmiştir (57, 60). Osteoartritte eklem içi enjeksiyonlar sonrası enflamasyona yol açmadan kıkırdak dejenerasyonunu ve ağrıyı azaltmada (56, 59, 60); laparotomik, laparoskopik, histeroskopik abdominopelvik cerrahiler sonrası dokuları korumada ve yapışıklıkların engellenmesinde oldukça etkin bulunmuştur (55).

HA gel, obstetri, jinekoloji ve ortopedide yaygın olarak kullanılmasına rağmen, literatürde spinal cerrahi sonrası epidural fibrozis üzerine etkinliğini araştıran bir çalışmaya rastlanmadı.

Bu deneysel çalışma ile HA gel'in postoperatif yapışıklıkların engellenmesi ve epidural fibrozis oluşumu üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı.



HA



HA gel

Şekil-1: Hiyalüronik asid (HA) ve derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asid (HA gel)'in moleküler yapıları.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 26.09.2012 tarih ve 2012-11/03 numaralı kararıyla onaylandı.

Çalışma, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi Laboratuvarında yapıldı. Çalışmamıza 12 haftalık 250-300 gr ağırlığında, toplam 56 adet, Sprague-Dawley dişi sıçan alındı. Denekler dört gruba ayrıldı:

Grup 1 (n=14) Sham grubu; Laminektomi ve diskektomi yapıp mesafeye herhangi bir madde uygulanmayan grup.

Grup 1a: 6 denek biyokimyasal analiz

Grup 1b: 8 denek histopatolojik analiz

Grup 2 (n=14) Kontrol grubu; Laminektomi ve diskektomi yapıp mesafeye topikal % 0,9 NaCl uygulanan grup.

Grup 2a: 6 denek biyokimyasal analiz

Grup 2b: 8 denek histopatolojik analiz

Grup 3 (n=14) Hiyalüronik asid (HA) deney grubu; Laminektomi ve diskektomi yapıp operasyon sahasına topikal hiyalüronik asid uygulanan grup.

Grup 3a: 6 denek biyokimyasal analiz

Grup 3b: 8 denek histopatolojik analiz

Grup 4 (n=14) Derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asid (HA gel) deney grubu; Laminektomi ve diskektomi yapıp operasyon sahasına topikal derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asid uygulanan grup.

Grup 4a: 6 denek biyokimyasal analiz

Grup 4b: 8 denek histopatolojik analiz

Cerrahi Prosedür

Profilaksi amacı ile operasyondan 30 dk önce her deneğe tek doz 20 mg/kg sefazolin sodyum (Cefozin, Bilim İlaç, İstanbul-Türkiye) intraperitoneal

olarak yapıldı. 70 mg/kg dozunda Ketamin hidroklorid (Ketalar, Parke-Davis, Eczacıbaşı, İstanbul) + 10 mg/kg dozunda Ksalazin hidroklorid (Rompun, Bayer, Türkiye) intramusküler olarak verilerek genel anestezi uygulandı. Denekler operasyon masasına prone pozisyonda tespitlendikten sonra operasyon sahası klorheksol (Klorheksol Scrub, Drogan, Türkiye) ile 10 dakika fırçalandı ve povidon iyot (Isosol, Merkez Lab., Türkiye) solüsyonu ile temizlenerek dezenfeksiyon uygulandı. Operasyon sahası steril örtüler ile kapatıldı. Orta hattın spinöz süreçleri üzerinden L4-L7 arası yaklaşık 4 cm.lik cilt insizyonu yapıldı. L5-6 seviyesi saptandı. Mesafenin paraspinoz kasları künt diseksiyon ile sıyrıldı. Seviyeye mikroskop altında (Opmi I, CARL ZEISS, Jena, Almanya) drill yardımıyla (Proxxon, Micromot 50/E, Föhren, Almanya) laminektomi yapıldı. Disk mesafesi bulunarak 22G anjiyotet ile anüler fenestrasyon (diskektomi) yapıldı. (Şekil-2). Kontrol grubunda (2. grup) uygulanan serum fizyolojik, HA grubunda (3. grup) uygulanan HA ile HA gel grubunda (4. grup) uygulanan HA gel, 0,1 ml dozlarında laminektomi defektini kapatacak şekilde operasyon sahasına uygulandı. Kanamalar bipolar, sargı ve spongostan gibi yardımcı maddeler kullanılarak durduruldu. Kanama kontrolü sonrası katlar anatomisine uygun (fasya 3/0 vicryl ve cilt stapler ile) kapatıldı.

Tüm denekler kendi kafeslerine alınarak bakımları yapıldı. Serbest yem ve su verilen denekler 4 hafta yaşatıldıktan sonra intraperitoneal yüksek doz (75-100 mg/kg) Tiyopental sodyum (Pentothal Sodium, Abbott, İtalya) verilerek sakrifiye edildi. Cilt, cilt altı, paravertebral kaslar ve operasyon sahası enfeksiyon açısından değerlendirildikten sonra, vertebral kolon laminektomi sahasını içine alacak şekilde blok olarak çıkarıldı. Operasyon esnasında durasında yırtık veya sinir kökünde yaralanma olan ve dekapitasyon sırasında enfeksiyon tespit edilen denekler çalışma dışı bırakıldı. Tüm deneklerin, laminektomi sonrası davranış testleri ve fonksiyon kayıplarının değerlendirilmesi için Basso Beattie Bresnahan (BBB) davranış değerlendirme skalası kullanıldı (63, 64).

Histopatolojik Değerlendirme

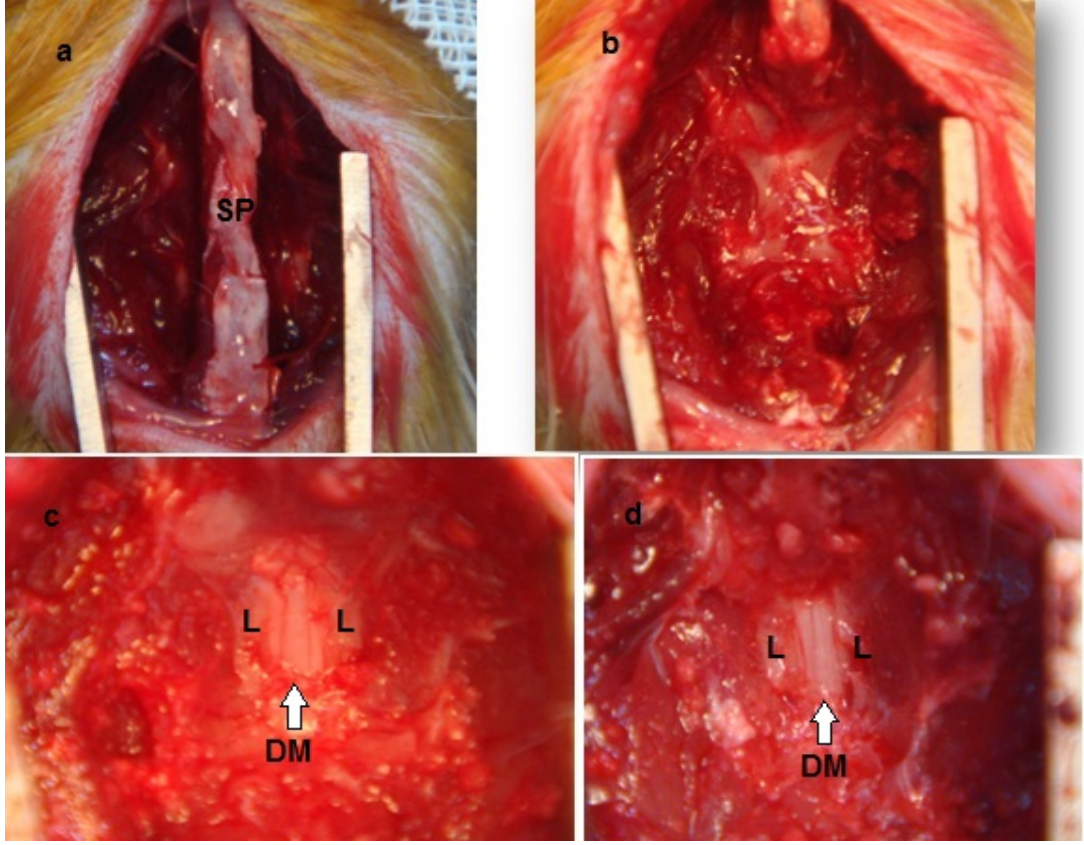
Histopatolojik değerlendirme Uludağ Üniversitesi Tıp Fakóltesi Patoloji Anabilim Dalı'nda, deney protokolünden bağımsız bir histopatolog tarafından yapıldı. Blok olarak çıkarılan vertebral kolon %10'luk tamponlu formalinde fikse edildi. Sonrasında 3 g¼n boyunca Decal (eęit miktarlarda %10 formik asit + %8 HCL) sol¼syonu içinde bekletilerek dekalsifikasyon uygulandı. Dekalsifikasyon iğlemi tamamlandıktan sonra laminektomi uygulanan b¼lgeden (ortadan, proksimal ve distal taraftan olmak üzere) spinal korda transvers ¼ adet 2 mm kalınlıkta ¼rnek alındı ve kasetlendi. Kasetler akarsuda 3 saat yıkandıktan sonra ototeknikonda rutin doku takip iğleminden geçirildi. Parafin bloklardan 3 mikronluk kalınlıkta mikrotom ile (Leica RM 2145, Wetzlar, Almanya) kesitler alınıp hematoksilin eozin (H&E) ve Masson Trichrome (MT) ile boyandı.

Her bir ¼rnek fibrozis yaygınlığı, dural adezyon derecesi, fibroblast h¼cre yoğunluğu, yabancı cisim reaksiyonu, gran¼lasyon dokusu, enflamasyon ve medulla spinalis retraksiyonu açısından ışık mikroskopunda histopatolog tarafından değerlendirildi.

Duradaki fibrozis ve adezyon derecesi He ve ark. (41) tarafından tanımlandığı gibi değerlendirildi (Tablo-1).

Epidural fibrozis miktarı, yabancı cisim reaksiyonu ve medulla spinalis retraksiyonu Topsakal ve ark.'nın (65) kullandığı derecelendirmeye g¼re yapıldı (Tablo-2).

Fibroblastların h¼cre yoğunluğuna g¼re histopatolojik evrelemesinde Hinton ve ark.'nın (68) tanımladıkları sınıflandırma kullanıldı. Fibroblastlar x400 b¼y¼tmede ve biri ortada, ikisi laminektomi kenarında olmak üzere 3 alanda sayılarak ortalama fibroblast sayımı yapıldı (Tablo-3).



Şekil-2: Laminektomi öncesi ve sonrasında operasyon sahası. **DM:** Dura mater (beyaz ok), **L:** Lamina, **SP:** Spinöz proçes.

Tablo-1: Histopatolojik değerlendirmede dural adezyonun evrelendirme kriterleri (41).

Evre 0	Dura materde fibröz doku yok
Evre 1	Fibröz doku ile dura mater arasında ince fibröz bant/bantlar var
Evre 2	Laminektomi defektinin 2/3'ünden az alanda yapışıklıklar var
Evre 3	Yaygın fibröz doku, laminektomi defektinin 2/3'ünden daha geniş alanda yapışıklıklar var ve/veya fibröz doku sinir köklerine ulaşıyor.

Tablo-2: Epidural fibrozis miktarı, yabancı cisim reaksiyonu ve medulla spinalis retraksiyonu evrelendirme kriterleri (65).

Evre 0	Yok
Evre 1	Orta
Evre 2	Orta - yüksek
Evre 3	Ciddi

Tablo-3: Hinton kriterlerine göre hücresel yoğunluk evrelendirme kriterleri (66).

Evre 1	100 fibroblastdan az
Evre 2	100 – 150 fibroblast arası
Evre 3	150'den fazla fibroblast

Biyokimyasal Analiz

Biyokimyasal analiz Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapıldı.

Doku hidroksiprolin miktarının ölçüm metodu bu maddenin kollajenden hidroliz edilip, Kloramin T ile okside olması ve sonra Erlich reaktifi ile reaksiyona girip renkli kromofor bileşikler oluşturması esasına dayanır.

Her bir deneğin lezyon seviyesinin medulla spinalisleri ve epidural dokusu 0,4x0,4x0,5 cm boyutlarında olacak şekilde çıkartılarak, 10 ml % 0,9 NaCl solüsyonu ile yıkandıktan sonra filtre kağıt ile kurutuldu. Her bir doku örneği ayrı ayrı Eppendorf tüplerinin içine konup alüminyum folyo ile sarılarak -20 °C'de derin dondurucuda korumaya alındı.

Kollajenden hidroliz: Doku hidroksiprolin analizi öncesi dondurulmuş dokular çözülerek 100 mg doku tartıldı. 100 mg doku 1/1 oranında distile su ve 1 N HCl asit kullanılarak hidroliz edildi.

Reaktifler

Asetat-sitrat tamponu (pH: 6) hazırlanması: 14,25 gr sodyum asetat trihidrat, 12,44 gr trisodyum sitrat 2H₂O ve 1,375 gr sitrik asit monohidrat tartıldı, üzerine 98,75 ml izopropil alkol eklendikten sonra total hacim 250 ml olacak şekilde distile su ile tamamlandı. HCl ile pH: 6'ya ayarlandı.

Erlich reaktifi hazırlanması: 10 gr paradiaminobenzaldehit, 11 ml % 60'luk perklorik asit ile karıştırılıp, kahverengi bir şişede saklandı.

Kloramin-T çözeltisi hazırlanması: % 20'lik (w/v) Kloramin-T çözeltisi hazırlandı (0,2 gr kloratamin-T tartılarak 1ml distile suda çözüldü).

Çalışma çözeltileri

Çalışma çözeltisi 1: % 0,67'lik asetat-sitrat tamponu ile tamponlanmış Kloramin T çözeltisi olacak şekilde hazırlandı (0,67 ml %20'lik kloratamin-T çözeltisinden alınarak 100 ml'ye asetat sitrat tamponu ile tamamlandı).

Çalışma çözeltisi 2: Üç kısım Erlich reaktifi + 8 kısım izopropil alkol olacak şekilde hazırlandı.

Hidroksiprolin (4-Hidroksi-L-Prolin) standartların hazırlanışı:

Stok standarttan değişen derişimlerde standartlar hazırlandı; stok standart: 1,6 µgr

Standart 1: 1,2 µgr (0,9 ml stok standart + 0,3 ml % 50'lik izopropil alkol)

Standart 2: 0,8 µgr (0,6 ml stok standart + 0,6 ml % 50'lik izopropil alkol)

Standart 3: 0,6 µgr (0,45 ml stok standart + 0,75 ml % 50'lik izopropil alkol)

Standart 4: 0,4 µgr (0,3 ml stok standart + 0,9 ml % 50'lik izopropil alkol)

Standartlar numune gibi çalışıldı.

Hidroksiprolin analizinin yapılması: Dokuların 1N HCl ile hidrolizi sonrası hidrolizatlardan 25 µl alınarak liyofilizatör ile suyu uçuruldu. Sonrasında 1,2 ml %50'lik izopropil alkol eklendi ve karıştırıldı. 0,2 ml kloratamin-T içeren çalışma çözeltisi 1 konularak 10 dk beklendi. 10 dk'nın sonunda Erlich içeren çalışma çözeltisi 2 eklendi. 90°C su banyosunda 50 dk inkübasyon yapıldı.

Dilüsyon faktör hesaplanması

$$1000/25=40 \text{ (dilüsyon faktörü)}$$

Absorbans spektrofotometre (Schimadzu, Kyoto, Japonya) kullanılarak 560 nm'de distile suya karşı okundu. Okunan absorbanslar dilüsyon katsayısı ile çarpılarak sonuçlar $\mu\text{mol/gram}$ doku başına verildi.

İstatistiksel İnceleme

Çalışmanın analizleri SPSS 13.0 (Chicago, IL. ABD) programında yapıldı. Gruplar arasında fibrozis yaygınlığı, dural adezyon derecesi, fibroblast hücre yoğunluğu, yabancı cisim reaksiyonu, ve medulla spinalis retraksiyonu için elde edilen değerler için medyan, minimum ve maksimum değerleri verildi. Hidroksiprolin seviyeleri için two-tailed Wilcoxon Mann-Whitney U testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis testi ile yapılarak, subgrup analizlerde gruplar ikişerli olarak Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Çalışmada $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamıza 60 adet sıçan alındı. Ancak cerrahi sırasında dural yaralanma meydana gelen 3 denek ile hematom gelişen 1 denek çalışma dışı bırakıldı. Son değerlendirme 56 denek ile yapıldı.

Tüm deneklerin BBB davranış değerlendirmelerinde postoperatif nörolojik defisit gözlenmedi. Tedavi ve kontrol grubu deneklerin hiçbirinde anestezi ve cerrahi işleme ait mortalite ve morbidite gözlenmedi. Ayrıca tedavi grubu deneklerin hiçbirinde kullanılan HA ve HA gel'e ait komplikasyon gözlenmedi.

Deneklerin 4. haftanın sonunda dekapite edilmesini takiben vertebral kolonları blok olarak çıkartılmadan önce cilt, cilt altı ve kasları enfeksiyon açısından değerlendirildi. Hiçbir denekte yara yerinde enfeksiyon bulgusu saptanmadı.

Histopatolojik Değerlendirme

Çıkartılan vertebral kolonun 3 gün dekalsifiye edilmesinden sonra alınan histolojik kesitlerin tümüne Hematoksilen Eozin (H&E) ve Masson Trichrome (MT) boyası uygulandı. Değerlendirmeler HE, MT ile elde edilen 3 mikronluk kesitlerde yapıldı. Epidural fibrozis miktarı, dural yapışıklık derecesi, fibroblast yoğunluğu, yabancı cisim reaksiyonu, granülasyon dokusu, enflamasyon ve medulla spinalis retraksiyonu ile ilgili gruplara ait değerlendirme sonuçları Tablo-4'de, grupların histopatolojik puanlarının ortalama değerlerinin karşılaştırılmalı grafiği şekil-3'de verilmiştir.

Tüm deneklerde makroskobik olarak değişik derecelerde epidural fibrozis olduğu gözlemlendi. Epidural fibrozis sham ve kontrol gruplarında yoğun, tedavi grubundakilerde ise daha az olarak gözlemlendi ($p < 0,004$). Sham ve kontrol grubundaki (Grup 1 ve 2) deneklerin epidural fibrozis dokusunun paraspinal adalelerin altından spinal kanala ve duraya doğru uzanım gösterdiği ve yapışık olduğu saptandı (Şekil-4 ve 5). Grup 1 ve 2'nin

sonuçları arasında anlamlı fark saptanmadı. Tedavi grubundaki (Grup 3 ve 4) deneklerin ise medulla spinalis çevresindeki dura mater ile çevre adale tabakası ve sinir kökleri arasında boşluklar tespit edildi (Şekil-6 ve 7). HA'in kullanıldığı (Grup 3) deneklerden elde edilen kesitlerde sham grubuna göre epidural fibrozisin, granülasyon dokusunun, fibroblast sayısının daha az olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (sırasıyla $p < 0,005 - 0,021 - 0,007$). Fibroblast hücre yoğunluğu, epidural fibrozis ve dural adezyon ile ilgili değerlerin HA'in verildiği grupta kontrol grubuna kıyasla daha düşük ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (sırasıyla $p < 0,028 - 0,007 - 0,003$).

HA gel'in kullanıldığı grup ile sham grubu arasında granülasyon dokusu, fibroblast hücre yoğunluğu ve epidural fibrozisin daha az saptandığı ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (sırasıyla $p < 0,038 - 0,001 - 0,038$). HA gel'in verildiği grup ile kontrol grubu kıyaslandığında ise enflamasyonun, yabancı cisim reaksiyonunun, dural adezyonun ve fibroblast hücre yoğunluğunun daha düşük ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (sırasıyla $p < 0,05 - 0,025 - 0,005 - 0,005$). Tüm histopatolojik parametreler karşılaştırıldığında HA'in kullanıldığı (Grup 3) deneklerden elde edilen sonuçlarla, HA gel'in kullanıldığı (Grup 4) deneklerden elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0,05$).

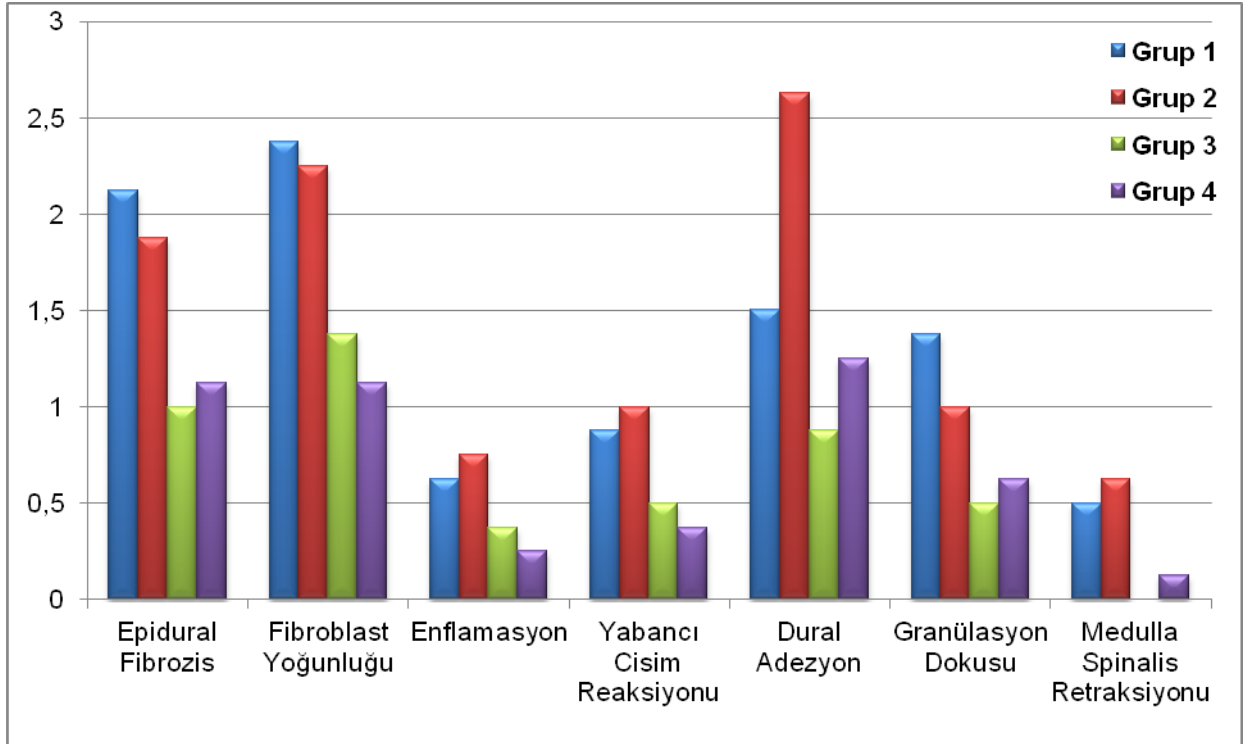
Sham grubundaki deneklerin 1'inde evre 1 (12,5%), 5'inde evre 2 (%62,5), 2'sinde evre 3 fibrozis (%25) saptanırken, dural adezyon 3'ünde evre 0 (%37,5), 1'inde evre 1 (%12,5), 1'inde evre 2 (%12,5), 3'ünde evre 3 (%37,5) görüldü (Tablo-1 ve 2). Sham grubunda yoğun sikatris dokusu Şekil-4'de gösterilmiştir.

Kontrol grubundaki deneklerin 1'inde evre 1 (%12,5), 7'sinde evre 2 (%87,5) epidural fibrozis saptanırken, dural adezyon 1'inde evre 1 (%12,5), 1'inde evre 2 (%12,5), 6'sında evre 3 (%75) olarak tespit edildi (Tablo- ve 2) (Şekil-5).

HA'in uygulandığı gruptaki deneklerin 1'inde evre 0 (%12,5), 6'sında evre 1 (%75), 1'inde evre 2 (%12,5) epidural fibrozis görülürken, 4'ünde evre

0 (%50), 1'inde evre 1 (%12,5), 3'ünde evre 2 (%37,5) dural adezyon saptandı (Tablo-1 ve 2) (Şekil-6).

HA gel uygulanan gruptaki deneklerin 2'sinde evre 0 (%25), 3'ünde evre 1 (%37,5), 3'ünde evre 2 (%37,5) epidural fibrozis saptanırken, dural adezyon 1'inde evre 0 (%12,5), 3'ünde evre 1 (%37,5), 4'ünde evre 2 (% 50) olarak tespit edildi (Tablo-1 ve 2) (Şekil-7).

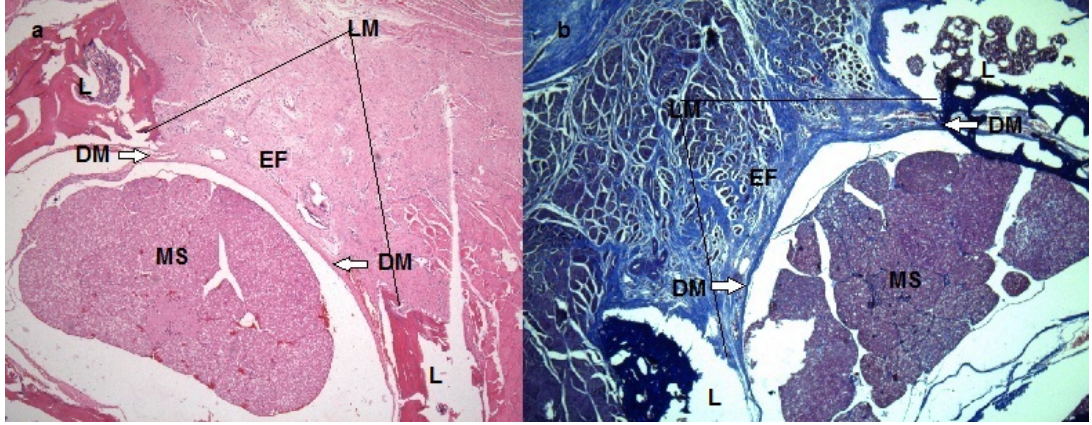


Şekil-3: Grupların histopatolojik puanlarının ortalama değerlerinin karşılaştırılmalı grafiği. **Grup 1:** Sham grubu, **Grup 2:** Kontrol grubu, **Grup 3:** HA grubu, **Grup 4:** HA gel grubu.

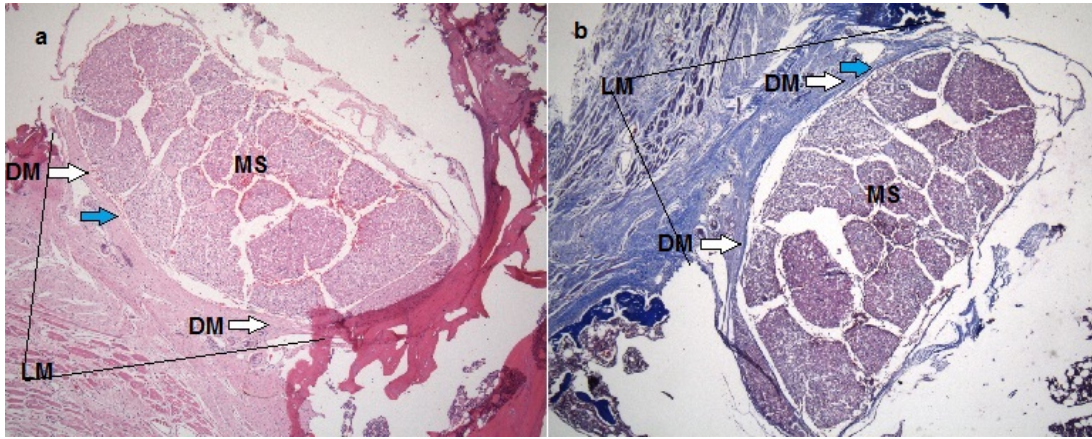
Tüm parametrelerin ortalama değerleri karşılaştırıldığında grup 3 (HA grubu) ve grup 4'teki (HA gel grubu) değerlerin grup 1 (sham grubu) ile grup 2'ye (kontrol grubu) oranla az olduğu izlendi. Grup 1 ve 3 arasında sırasıyla $p < 0,005 - 0,007 - 0,233 - 0,282 - 0,382 - 0,021 - 0,005$. Grup 1 ve 4 arasında sırasıyla $p < 0,038 - 0,001 - 0,233 - 0,118 - 0,079 - 0,038 - 0,039$. Grup 2 ve 3 arasında sırasıyla $p < 0,007 - 0,028 - 0,233 - 0,076 - 0,003 - 0,234 - 0,047$. Grup 2 ve 4 arasında sırasıyla $p < 0,083 - 0,005 - 0,086 - 0,025 - 0,005 - 0,382 - 0,195$. Grup 1 ile 2 arasında ve Grup 3 ile 4 arasında belirgin farklılık olmadığı saptandı ($p > 0,05$).

Tablo-4: Epidural fibrozis miktarı, dural yapışıklık derecesi, fibroblast yoğunluğu, yabancı cisim reaksiyonu, granülasyon dokusu, enflamasyon ve medulla spinalis retraksiyonu ile ilgili gruplara ait değerlendirme sonuçları. **HA:** Hiyalüronik asid, **HA gel:** Derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asid.

Grup	Epidural Fibrozis	Medulla Spinalis Retraksiyonu	Enflamasyon	Yabancı cisim reaksiyonu	Dural adezyon	Granülasyon dokusu	Fibroblast yoğunluğu
Sham							
1	2	2	0	1	3	1	2
2	1	1	1	1	3	1	2
3	2	1	0	1	0	2	2
4	3	0	1	1	1	2	3
5	3	0	1	1	0	2	3
6	2	0	1	1	0	1	3
7	2	0	0	1	2	1	2
8	2	0	1	0	3	1	2
Kontrol							
1	2	0	1	1	3	1	2
2	2	1	1	1	3	0	1
3	2	0	1	1	3	2	2
4	2	2	1	1	2	1	3
5	1	1	0	1	3	0	2
6	2	0	0	1	3	1	2
7	2	1	1	1	3	2	3
8	2	0	1	1	1	1	3
HA							
1	1	0	1	1	2	1	2
2	2	0	0	1	1	0	2
3	0	0	0	0	0	0	1
4	1	0	0	0	0	0	1
5	1	0	0	0	0	1	1
6	1	0	1	1	0	1	1
7	1	0	0	0	2	0	2
8	1	0	1	1	2	1	1
HA gel							
1	2	0	0	0	1	1	1
2	2	1	1	1	2	0	2
3	0	0	1	0	1	1	1
4	1	0	0	0	1	1	1
5	2	0	0	0	1	0	1
6	0	0	0	1	2	1	1
7	1	0	0	0	0	0	1
8	1	0	0	1	2	1	1



Şekil-4: Grup 1’de Evre 3 epidural fibrozis ve dural adezyon a) HE ve b) MTx40. Laminektomi sahasından kemik doku altına uzanan yoğun epidural fibrozis ve yapışıklar görülüyor., **DM:** Dura mater (beyaz ok), **EF:** Epidural fibrozis.**L:** Lamina, **LM:** Laminektomi mesafesi. **MS:** Medulla spinalis



Şekil-5: Grup 2’de Evre 3 epidural fibrozis ve dural adezyon a) HE ve b) MTx40. Sikatriks dokusu, laminektomi sahasında yoğun epidural yapışıklar ile ciddi medulla spinalis retraksiyonu (mavi ok) görülüyor. **DM:** Dura mater (beyaz ok), **EF:** Epidural fibrozis, **LM:** Laminektomi mesafesi, **MS:** Medulla spinalis.

Mikroskobik fibroblast sayısı gruplarda ortalama fibroblast sayısına göre belirlendi (Tablo-5). Fibroblast hücre sayımı, sham grubundakilerin 5’inde evre 2 (% 62,5), 3’ünde evre 3 (%37,5), kontrol grubundakilerin 1’inde evre 1 (%12,5), 4’ünde evre 2 (%50), 3’ünde evre 3(%37,5) olarak tespit edildi (Şekil-8; a ve b).

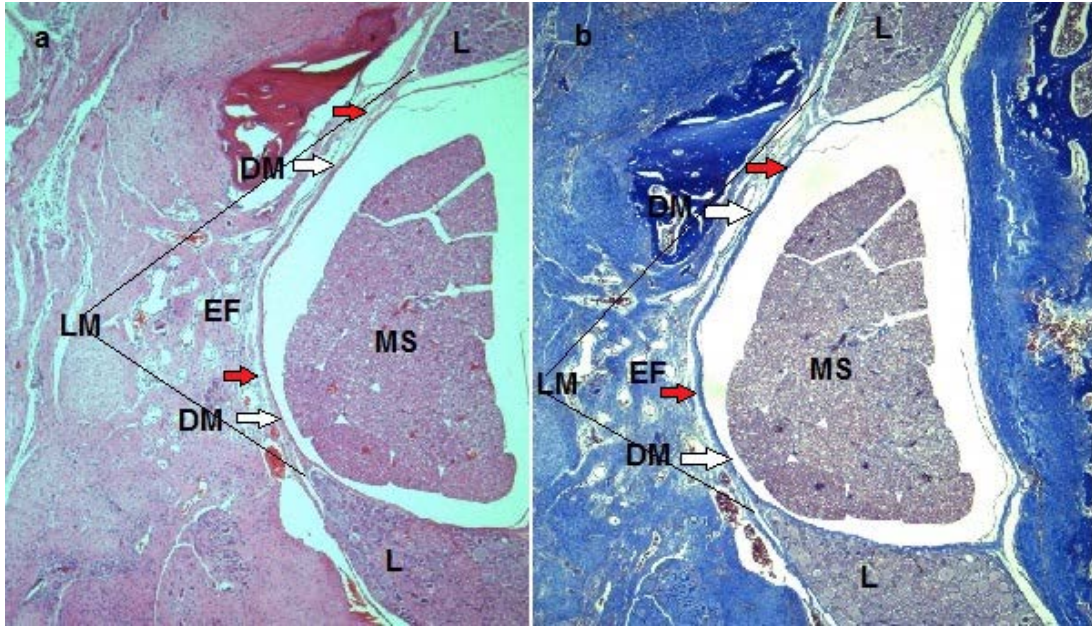
Buna karşılık HA ve HA gel tedavi gruplarındaki deneklerde evre 3 hiç görülmezken; HA grubunda 5’inde evre 1 (%62,5), 3’ünde evre 2 (%37,5),

HA gel grubu deneklerinin 7'sinde evre 1 (%87,5) ve 1'inde de evre 2 (%12,5) düzeyine uyan fibroblast hücreleri sayıldı (Tablo-5). Buna göre fibroblast yoğunluğu açısından tedavi gruplarındaki deneklerin sham ve kontrol gruplarına göre daha az yoğunlukta olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.005$) (Şekil-8; c ve d).

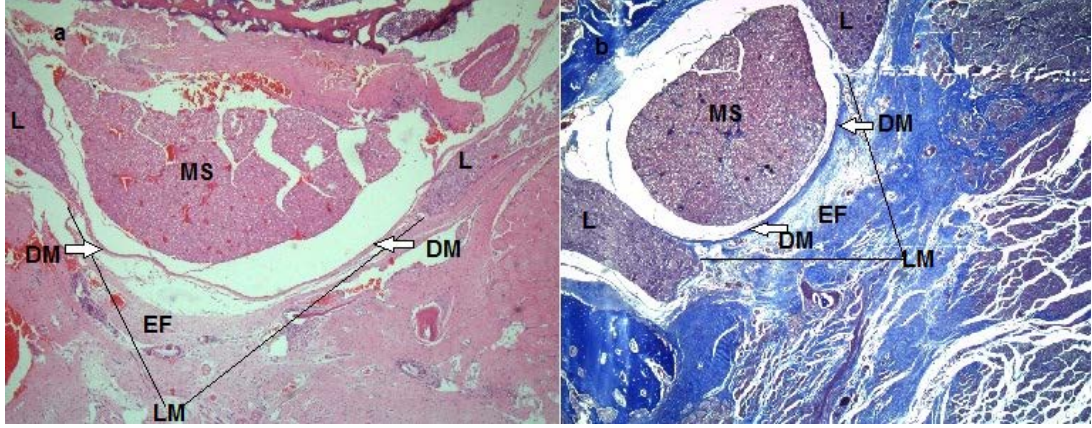
Tablo-5: Mikroskopik fibroblast sayısının gruplara göre dağılımı.

Evre	Sham (n=8)	Kontrol(n=8)	HA (n=8)	HA gel (n=8)
Evre 1		1	5	7
Evre 2	5	4	3	1
Evre 3	3	3		

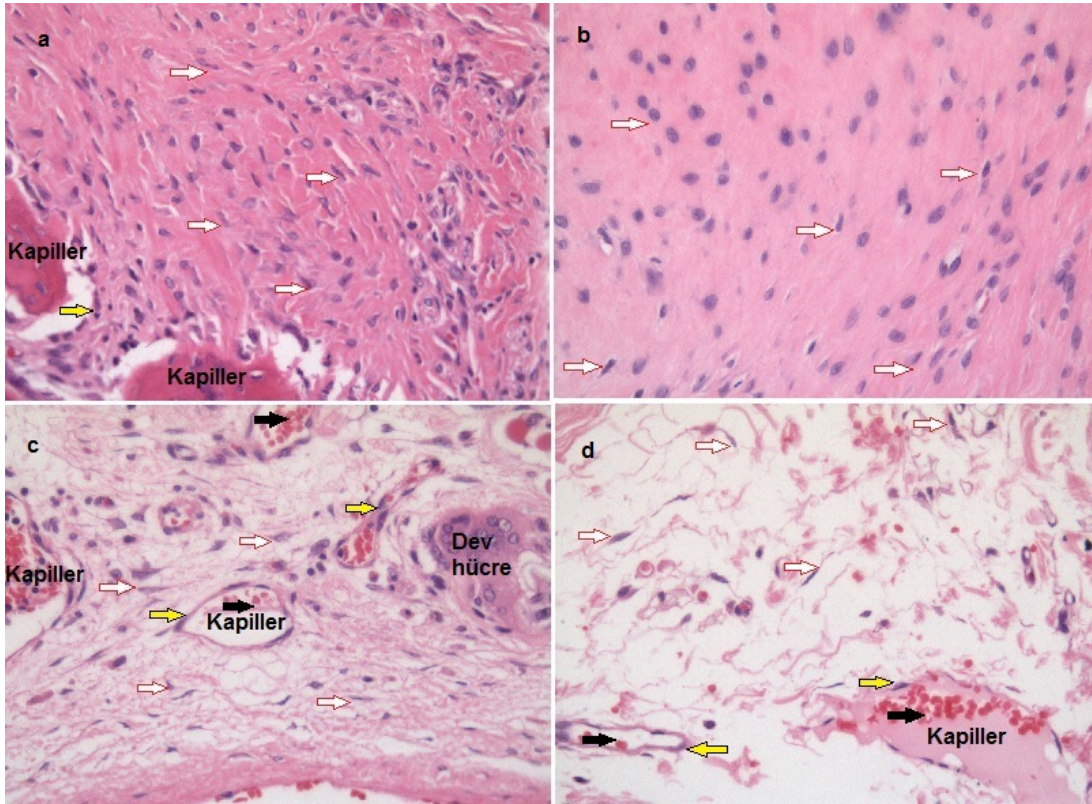
HA: Hiyalüronik asid, **HA gel:** Derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asid.



Şekil-6: Grup 3'te Evre 1 epidural fibrozis ve dural adezyon a) HE ve b) MTx40. Fibrozis dokusu içinde yaygın boşluklar, fibröz doku ile dura mater arasında ince fibröz bantlar (kırmızı ok) görülüyor., **DM:** Dura mater (beyaz ok), **EF:** Epidural fibrozis, **L:** Lamina, **LM:** Laminektomi mesafesi, **MS:** Medulla spinalis.



Şekil-7: Grup 4'te Evre 1 epidural fibrozis ve Evre 0 dural adezyon a)HE ve b) MTx40. Laminektomi sahasında fibrozis dokusunun belirgin derecede az, dura mater ile fibrozis dokusu arasında dura mater boyunca boşluk olduğu görülüyor. **DM:** Dura mater (beyaz ok), **EF:** Epidural fibrozis, **L:** Lamina, **LM:** Laminektomi mesafesi. **MS:** Medulla spinalis.



Şekil-8: Gruplara göre fibroblast hücre yoğunluğu HEx400. a) Grup 1'de Evre 3 fibroblast hücre yoğunluğu, b) Grup 2'de Evre 3 fibroblast hücre yoğunluğu, c) Grup 3'de Evre 1 fibroblast hücre yoğunluğu ile fibrozis dokusunda boşluklar, d) Grup 4'de Evre 1 fibroblast hücre yoğunluğu (fibroblast < 50), fibrozis dokusunda büyük boşluklar izleniyor. Fibroblast (beyaz ok), eritrosit (siyah ok), kapiller endoteli (sarı ok).

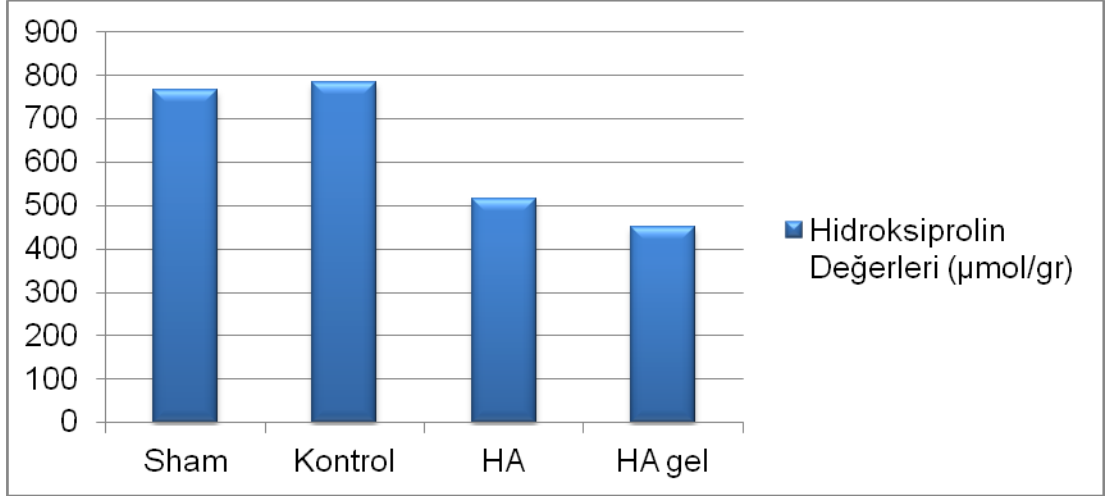
Biyokimyasal Analiz

Hidroksiprolin ortalama değeri, sham grubunda $766,6 \pm 51,6$ ($\mu\text{mol/gr}$), kontrol grubunda $783,3 \pm 183,4$ ($\mu\text{mol/gr}$) iken, HA grubunda $516,6 \pm 75,2$ ($\mu\text{mol/gr}$) ve HA gel grubunda $450,0 \pm 54,7$ ($\mu\text{mol/gr}$) olarak bulundu (Tablo-6). Dört grubun karşılaştırılmasında hidroksiprolin ortalama değerlerinin HA ve HA gel tedavi gruplarında daha düşük olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$). Grup 1 ile 2 arasında ($p < 0,93$) ve Grup 3 ile 4 ($p < 0,18$) arasında ise belirgin farklılık olmadığı saptandı ($p > 0,05$) (Şekil-9).

Tablo-6: Hidroksiprolin değerleri ($\mu\text{mol/gr}$ doku).

Denek (n)	Sham (n=6)	Kontrol (n=6)	HA (n=6)	HA gel (n=6)
1	800	1000	600	400
2	700	1000	500	500
3	800	800	600	500
4	800	600	500	500
5	800	600	500	400
6	700	700	400	400

HA: Hiyalüronik asid, **HA gel:** Derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asid.



Şekil-9: Grupların hidroksiprolin değerlerinin (µmol/gr doku) karşılaştırılmalı grafiği. **HA:** Hiyalüronik asid, **HA gel:** Derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asid.

Değerler karşılaştırıldığında HA grubu ve HA gel grubundaki değerlerin sham grubu ile kontrol grubuna oranla az olduğu görülmekte. Grup 1 ve 3 arasında $p < 0,002$, Grup 1 ve 4 arasında $p < 0,002$, Grup 2 ve 3 arasında $p < 0,009$, Grup 2 ve 4 arasında $p < 0,002$.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Omurganın dejeneratif, enflamatuvar, enfeksiyöz, metabolik, neoplastik, travmatik, konjenital, musküloskeletal, vasküler ve daha birçok hastalığı nedeniyle opere edilerek laminektomi uygulanan olgularda, geçmeyen veya tekrarlayan ağrılarının nedenleri üzerinde tartışmalar halen devam etmektedir. Litaratürde BBCS olarak tanımlanan klinik tablonun en önemli semptomu olan ağrının etiyolojik nedeni olarak en sık operasyon bölgesinde iyileşme sürecinin doğal bir sonucu olarak ortaya çıkan epidural/peridural/perinöral bölgedeki fibrozis dokusu gösterilmektedir (5, 8, 31, 67 - 69).

Miktarı değişmekle birlikte her olguda doğal sürecin bir sonucu olarak fibrozis dokusu oluştuğundan bu dokunun postoperatif ağrının etyolojisindeki yerinin ne olduğu tam bilinmemektedir (1). Bununla birlikte fibrozis dokusunun komşu dokular arasında yapışıklıklar yaptığı, yoğun fibrotik dokunun çevre anatomik yapıya bası oluşturduğu, sinir kökünün hareketlerini sınırladığı ve beslenmesini bozduğu, böylelikle sinir kökünün duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca değişik araştırmacılar tarafından, oluşan skar dokusu altında nöronal atrofi ve aksonal dejenerasyon olduğu rapor edilmiştir (1, 11, 34, 46, 70, 71). Literatürde, semptomlar ile epidural fibrozis arasında herhangi bir ilişki kurmanın güç olduğu da bildirilmiş ve ağrının kaynağı olarak farklı etkenler gösterilmiştir (10, 11, 72, 73).

Epidural fibrozisin geçmeyen bel ağrıları veya kötü klinik sonuçlardaki etkinliği konusunda bir konsensus sağlanamamış olmakla birlikte, oluşan fibrozis dokusunun ikinci operasyonu güçleştirdiği ve operasyona bağlı komplikasyonları arttırdığı bilinmektedir (5, 9). Epidural fibrozis nedeni ile opere edilen olgularda başarı oranı %30-37 arasında değişmekte olup, olguların % 10- 20'sinde ise kötüleşmeler rapor edilmiştir (74, 75). North ve ark. (76) geçmeyen bel ağrısı olan ve re-opere edilen hastalardan cerrahi müdahale gerektiren epidural fibrozisi olmayan ve ağırlıklı olarak radiküler ağrısı olanlarda iyi sonuçlar elde edildiğini, epidural fibrozisin kötü prognostik bir faktör olduğunu ve bu hastaların ortalama 2 ila 4 cerrahi geçirdiklerini, bu

operasyonlardaki başarı oranının da %34 olduğunu bildirmişlerdir. Braverman ve ark. (77) ise epidural fibrozis nedeni ile opere ettikleri olgularda başarı oranının sadece %30-35 olduğunu, olguların %10-20'sinde ise kötü sonuç tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Hayvan deneyleri ve klinik çalışmalar postoperatif epidural fibrozis oluşumunun patogeneğinde; kişisel değişkenlik, postoperatif hematoma varlığı, laminektomi teknikleri, vertebral kolondaki anatomik konum, çıkartılan kemik miktarı ile tür ve soy farklılıkları gibi birçok faktörün etkili olduğunu göstermiştir (2). Çalışmamızda diğer hayvan modellerine uygun olması açısından 12 haftalık, 250-300 gr ağırlığında, Sprague-Dawley dişi sıçanlarda oluşturduğumuz laminektomi ve diskektomi (anüler fenestrasyon) modeli kullanıldı.

Epidural fibrozis oluşumu doğal iyileşme sürecinin bir parçasıdır. Yoğun bir doku formasyonu, processus spinosus ve laminaya komşu kasın iyileşmesi için gereklidir. Epidural alanda kanama sonrası eritrositler ve trombositlerin parçalanması ile ortaya çıkan kemotaktik faktörler ile lomber processus spinosus ve laminanın alındığı yerdeki kaslardan kaynaklanan fibroblastik hücre göçü, laminektomi sonrası oluşan epidural fibrozisin kaynağıdır (2, 78). En önemli tamir hücrelerinden biri olan, paravertebral adele kaynaklı ya da kanla bölgeye taşınan fibroblastlar, inflamatuvar sitokinler ve büyüme faktörleri (TGF- β ve FGF) tarafından aktive edilerek vertebral laminanın lokal defektini onarmaya çalışır. Kollajen fibril üretimi ile fibroblastlar fibrositlere dönüşürken fibröz konnektif doku sikatriks dokusuna dönüşür. Bu adeziv epidural fibrozis dokusu genişleyerek vertebral kanaldaki dura veya sinir köklerine yapışabilir, uzun dönemde LaRocca ve Macnab tarafından (79) tanımlanan laminektomi membranına dönüşebilir. Sekonder oluşan bu membran, erekör kasların spinal kanal içine ilerlemesi, intraspinal hematoma oluşması ve epidural yağ dokusunun yıkımı sonucu meydana gelir. Aynı zamanda lomber vertebra cerrahisi sonrası bazı hastaların prognozunu kötü etkileyen spinal stenoza, dural kompresyona ve sinir kökü mobilitesinde kısıtlılığa yol açtığı bildirilmiştir (34, 80, 81).

Laminektomi sonrası oluşan fibrozis dokusunun değerlendirildiği

deneysel çalışmaların çoğunda fibrozis dokusunun posterior paraspinal kaslardan kaynaklandığı düşünüldüğünden diskektomi uygulanmamıştır (15, 31, 82, 83). Oysa anüler fenestrasyon sonucu epidural mesafeye çıkan nükleus pulpozusun inflamatojenik ve immünolojik kapasitesi ile mikrovasküler değişiklikler yapabilmesi sebebi ile epidural fibrozis ve ağrının etyolojisinde rol oynayabileceği bilinmektedir (67).

Çalışmamızda, kontrol seviyelerindeki fibrozis dokusunun paraspinoz kasların altında olan fibrozis dokusunun bir uzantısı şeklinde olduğu görüldü. Bu bulgu laminatomi veya laminektomi alanına konulacak ve fibrozisin ilerlemesine engel olacak bir maddenin laminektomi membranını engelleyebileceği şeklinde yorumlanabilir. Epidural mesafedeki fibrozis sadece paraspinoz adalelerin derin tabakalarından değil aynı zamanda diskin olduğu taraftan da durayı saracaktır. Bu sebeple kullanılacak maddenin cerrahi diseksiyon bölgesine nöral basıya sebep olmaksızın kolayca uygulanabilecek, dokusuyla çevre yapılara zarar vermeyecek bir materyal olması gerekmektedir.

Omurga cerrahisi sonrası oluşan epidural fibrozisi önlemek amacıyla günümüze kadar birçok çalışma yapılmış ve birçok madde kullanılmıştır (15, 84 - 87). Ancak laboratuvar sonuçlarının epidural fibrozisi önlediği bildirilen birçok madde veya yöntem klinik uygulamada aynı sonuçların elde edilememesi nedeniyle kullanım alanı bulamamıştır. Bu nedenlerle epidural fibrozisin önlenmesi bir klinik sorun olmaya devam etmektedir.

Minimal invaziv cerrahinin epidural fibrozisi azalttığı kabul görmektedir. Cerrahi sırasında sınırlı manüplasyon ve etkili hemostazın da epidural fibrozisi önleyebildiği rapor edilmiştir (14). Yabancı materyal ve toksinlerin bölgeden peroperatif serum fizyolojik irrigasyonuyla uzaklaştırılması fibrozis oluşumunu azaltmaktadır (15, 16).

Günümüze kadar epidural fibrozisin önlenmesi amacıyla kullanılan maddeler içerisinde ilk kullanılan ve en yaygın olan otojen yağ dokusudur. Bryant ve ark. (88) otojen serbest yağ greftlerini kullandıkları hastaların kısa ve uzun süreli takiplerinde bu dokunun iyi tolere edildiğini, revaskularize olmasıyla da epidural fibrozis dokusunun spinal kanala ilerlemesini

engellediği sonucuna varmışlardır. Bir diğer çalışmada ise serbest yağ greftlerinin epidural fibrozis dokusunu ve laminektomi membranını önleyici etkisi yanında, kullanımının kolay olduğu ve diğer materyallere göre daha kolay temin edildiği bildirilmiştir (39). Ancak LDH nedeniyle opere edilen hastalarda epidural fibrozisi önlemek için kullanılan serbest yağ dokusunun klinik olarak etkisiz olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (16, 18). Prusick ve ark. (19) serbest otojen yağ dokusu kullandıkları olgularda bu dokunun spinal kanala göç etmesiyle kauda equina sendromu geliştiğini bildirmişlerdir. Gelfoam ve otojen yağ greftlerinin epidural fibrozis oluşumunu engellemedeki etkinliğini karşılaştırmak amacıyla yapılan bir deneysel çalışmada, Gelfoam'ın fibrozisi engellemediği, yağ dokusunun ise yapışıklığın spinal kanala ilerlemesini engellediği bildirilmiştir (89). Akdemir ve ark. (90) vicryl mesh ve serbest yağ dokusu kullandıkları çalışmada, epidural fibrozisin serbest yağ dokusu grubunda vicryl mesh grubuna göre daha az görüldüğünü bildirerek epidural fibrozisi önlemek amacıyla bir alternatif olabileceğini ifade etmişlerdir.

Gerzsten ve ark. (46) deneysel laminektomi çalışması ile peroperatif düşük doz eksternal radyasyonun (700 cGy) epidural fibrozis oluşumunu azaltığını göstermişlerdir. Bu çalışmada, ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası radyoterapi uygulanması arasında fark olmadığı da saptanmıştır.

olak ve ark. (45) ise deneklere laminektomi sonrası CO₂ lazer irradyasyonu uygulayarak fibrozisin azaltılmasında histopatolojik ve biyokimyasal olarak etkin olduğunu ortaya koymuşlardır.

Epidural fibrozisin önlenmesi için yapılan bir klinik çalışmada ise sistemik nonsteroidlerden ketoprofenin etkisi araştırılarak postoperatif antienflamatuar hücre infiltrasyonu, sikatris formasyonu ile kemik rejenerasyonunun azaldığı, epidural fibrozis kalınlığında azalma olmasına rağmen dura yapışıklığının yaygınlığında azalma olmadığı görülmüştür (41). Foulkes ve ark. (42) laminektomi bölgesinin uzun etkili steroidlerle irrigasyonunun operasyon sonrası narkotik kullanımını ve hastanede kalış süresini azalttığını ve bu etkilerin steroidlerin antienflamatuar etkileri ve ağrı mediatörlerini baskılamalarından kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Kemaloğlu ve ark. (91) epidural fibrozisin önlenmesi için yaptıkları deneysel çalışmada topikal kullandıkları rekombinant doku plazminojen aktivatörünün (rt-PA) etkili ve güvenilir olduğunu belirterek rt-PA'lı trombolitik tedavinin spinal cerrahi sonrası araknoidit ve epidural fibrozisin önlenmesi üzerinde önemli rol oynayabileceğini bildirmişlerdir.

Doğan ve ark. (92) sıçanlarda oluşturdukları hemilaminektomi modelinde seprafilm ve Interceed TC7' nin epidural fibrozis oluşumunu ve yapışıklıkları belirgin derecede azalttığını bildirmişlerdir.

Kemoteropatik ajanlar olan Mitomisin C, 5-florourasil ve siklosporin A'nın sıçanlarda laminektomi sahasına lokal olarak uygulandığında epidural ve araknoid fibrozisi belirgin olarak azalttığını bildirilmiştir (82). Berker ve ark.'nın (83) çalışmasında, mitomisin-C ve pimekrolimus lokal olarak kullanılarak, her iki maddenin de sıçanlarda operasyon sonrası epidural fibrozisi ve dural yapışıklığı belirgin derecede azalttığını bulunmuştur. İntraselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve CD-18'e karşı antikörlerin kullanıldığı deneysel çalışmada, operasyon sahasına uygulanan anti-ICAM-1 ve anti-CD-18 antikörlerinin, sistemik IgG uygulanan ve tedavi verilmeyen sıçanlarla karşılaştırıldığında, adezyon derecesinde belirgin olarak azalma görüldüğü, IgG verilen grupla tedavi verilmeyen grup arasında fark görülmediği bildirilmiştir (93).

Bulut ve ark. (94) sıçanlarda laminektomi sonrası kullanılan serbest ve pedinküllü omentum greftlerinin epidural fibrozisi belirgin derecede azalttığını raporlamışlardır.

Tribolet ve ark. (95) ADCON-L uygulanan lomber diskektomi olgularında yapılan prospektif, çok merkezli, çift kör kontrollü çalışmada bu jelin postoperatif epidural fibrozisi önlediğini ve kontrol olgularına nazaran daha iyi klinik sonuçlar verdiğini bildirilmişlerdir. Einhaus ve ark.'nın (96) epidural fibrozisi önlemek amacıyla ADCON-L kullandığı deneysel çalışma sonunda, bu jelin klinik iyileşmeyi olumlu etkilediği ve epidural fibrozisi önlediğini belirtilmiştir.

Topikal uygulanan kolşisinin, cepea ekstresi-heparin ve allontoin karışımının, jelatin-trombin içeren hemostatik ajanın (FloSeal) lomber disk

cerrahisi sonrası epidural fibrozisi ve dural adezyonları önlemede etkili olduğu bildirilmiştir (31, 43, 97).

Farrokhi ve ark.'nın (98) yaptığı deneysel çalışmada, bir çok dokuda fibrozisi engellediği gösterilen metilen mavisi laminektomi bölgesine çeşitli dozlarda topikal olarak uygulanmış, düşük dozlarda metilen mavisinin epidural fibrozisi engellemede etkili olabileceği belirtilmiştir.

Yung ve ark. (99) bir antitümör ilaç olan ve laminektomi sonrası fibroblast proliferasyonu ile epidural adezyonu azalttığı kanıtlanmış olan hidroksikamptotekin (HCPT) ve lipozom kapsüllü hidroksikamptotekin (L-HCPT) ile sıçanlarda deneysel bir çalışma yapmış, L-HCPT'nin daha uzun yarılanma ömrü ve artmış çözünürlüğü sayesinde fibroblast proliferasyonunu engelleyerek dural adezyonu ve epidural fibrozisi azalttığını göstermişlerdir.

Bir diğer çalışmada Choi ve ark. (25) laminektomi sahasına insan amniyon zarını implante etmişler, enflamatuar reaksiyon ile fibroblast proliferasyonunun, sikatris dokusu ile direncinin büyük oranda azaldığını bildirmişlerdir.

HA tüm omurgalıların yumuşak dokularında, ekstrasellüler matrikste doğal olarak bulunan bir heteropolisakkarittir (38, 47), in vivo ortamda tamamen rezorbe edilir (Şekil-1). Embriyonik gelişim, doku organizasyonu, yara iyileşmesi ve anjiyogenezis gibi birçok biyolojik olayda düzenleyici rol oynar. Yara iyileşmesinin ilk aşamalarında ekstrasellüler alanda göreceli olarak yüksek doz HA konsantrasyonunun, ekstrasellüler matriks ve kollajen birikimini kısmen sınırlandırabildiğini belirtilmektedir (52 - 54). Bu nedenle birçok defa laminektomi sonrası epidural fibrozis üzerine sınırlayıcı etkisi araştırma konusu olmuştur.

Songer ve ark. (36) deneysel laminektomide epidural fibrozis üzerine HA ve gel foam'ın etkilerini araştırarak HA kullanıldığında subaraknoid aralık ile fibröz doku ve dura arasındaki mesafenin daha geniş, epidural fibröz dokudaki inflammatuar hücrelerin daha az olduğunu bildirmişlerdir. Kato ve ark. (35) sodyum HA solüsyonunu kullandıkları deneysel laminektomi modelinde HA'in adeta bir solid interpozisyonel membran bariyeri görevi görüp antiinflammatuar aktivite gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

HA içeren bariyer filmlerin spinal cerrahi sonrası epidural sikatrasi engellemede ve yapışıklıkları azaltmada etkili olabileceği çok çalışmada iddia edilmiştir. Ancak HA'in oda havasında suda çözünür olması ve dokularda kalıcı olamaması nedeniyle klinik uygulamada mekanik bariyer olarak kullanılması pratik olmamıştır.

Derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asid (HA gel) ise saf HA oligomerlerinden elde edilir (55, 56) (Şekil-1). Bu HA derivesinin TNF- α ve TNF- β 'nin kuvvetli bir inhibitörü olduğu gösterilmiştir (57, 60). HA gel'in, HA'e göre viskozitesi daha düşük olduğundan dokuda kalma zamanı daha uzundur, 7 gün içinde HA'in doğal parçalanma süreciyle yok olur (57, 58). Hidrolitik parçalanmayı geciktirici, dokuda daha uzun süre kalıcı etkiye sahip olan HA gel (52, 59, 62), jinekoloji, obstetri, ortopedi pratiğinde deneysel ve klinik çalışmalarla desteklenen yaygın kullanım alanı bulmasına rağmen epidural fibrozis üzerine etkinliği bugüne dek araştırılmamıştır.

Strand ve ark.'nın (58) semptomatik osteoartritli 379 hasta ile yaptığı çalışmada intraartiküler tek seferlik HA gel enjeksiyonunun kıkırdak dejenerasyonu ile ağrıyı anlamlı ölçüde azalttığını göstermişlerdir. De Wit ve ark.'nın (100) tavşanların yaralanmış ve cerrahi olarak tedavi edilmiş dijital fleksör tendonları üzerinde yaptıkları çalışmada, HA gel'in tendon iyileşme hızını belirgin olarak arttırdığı, ancak sikatris ve adezyon dokusu üzerine etkisi olmadığı rapor edilmiştir.

Mais ve ark. (55) laparoskopik ve histeroskopik jinekoloji operasyonları sonrası adezyonları engelleme üzerine HA gel'in etkinliğini araştırmışlar, laparoskopik miyomektomi sonrası intraperitoneal ile histeroskopi sonrası intrauterin yapışıklıkların önlendiğini göstermişlerdir.

Çalışmamızda HA gel uygulanan grupta (grup 4) fibrozisin ve fibroblast sayısının sham (grup 1) ve kontrol gruplarıyla (grup 2) kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede önlenmiş olması, HA gel kullanımının, spinal cerrahi sonrası gelişen epidural fibrozisi önlemede etkili olduğunu düşündürmektedir. Özellikle HA gel kullanılan olgularda fibroblast sayısının HA kullanılan olgulara göre önemli oranda azalması (ortalama fibroblast hücre yoğunluğu < 50), fibrozis dokusunun daha gevşek yapıda

oluşturduğunu göstermektedir.

Yara iyileşmesinin her aşamasında önemli rol oynayan, oluşan dokuda düzenleyici ve sağlamlaştırıcı fonksiyonu olan kollajenin dokudaki miktarının fibrozis doku miktarı ile ilişkili olduğu savunulmuştur (101, 102). Yara iyileşirken hidrokisprolin kollajen içinde hemen ortaya çıkar ve hızla artar (65). Miktarı, dokudaki fibroid dejenerasyon ve adhezyonun şiddetiyle doğru orantılıdır (101, 102).

Çalışmamızda, kollajen sentezi ve yara iyileşmesinin önemli bir parametresi olan dokudaki hidrokisprolin düzeyleri de araştırıldı. Sonuçlarımızda, HA ve HA gel uygulanan gruplarda sham ve kontrol gruplarına göre fibröz dokudaki hidrokisprolin miktarlarının azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak da anlamlı oranda olduğu tespit edildi ($p < 0,001$). Histopatolojik olarak HA grubu ile HA gel grubu arasında fark olmaması ve hidrokisprolin düzeyleri ile fibroblast sayısında iki grup arasında istatistiksel olarak fark saptanamamasına rağmen, HA gel uygulanan grupta fibroblast yoğunluğu ve hidrokisprolin düzeyleri HA uygulanan grupla kıyaslandığında daha düşük miktarda saptandı. Hidrokisprolin miktarının az olması fibroblast yoğunluğundaki azalma gibi dokuda fibroid dejenerasyonun az olduğunu göstermekte, bu da HA gel'in fibrotik dokunun çevre dokulara yaptığı bası ve dolayısıyla bası semptomlarını, ayrıca gerekebilecek ikinci bir cerrahi durumunda operasyon komplikasyonlarını azaltacağını düşündürmektedir.

Sonuç olarak; HA gel ile elde edilen sonuçlar epidural fibrozisin ve oluşan fibrotik doku yoğunluğunun azaltılması açısından yüz güldürücüdür. Bu çalışmanın öncülüğü ile yapılacak daha ileri deneysel ve klinik çalışmalar ile elde edilecek sonuçların klinik pratikte uygulama alanları bulması ile epidural fibrozisin önlenmesinde önemli yol alınacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Ross JS, Robertson JT, Frederickson RC, et al. Association between peridural scar recurrent radicular pain after lumbar discectomy: Magnetic resonance evaluation. ADCON-L European Study Group. *Neurosurgery* 1996; 38: 855-61.
2. Kasimcan MO, Bakar B, Aktas S, Alhan A, Yilmaz M. Effectiveness of the biophysical barriers on the peridural fibrosis of a postlaminectomy rat model: an experimental research. *Injury* 2011; 42: 778-81.
3. Llado A, Sologastua E, Guimera J, Marin M. Expanded polytetrafluoroethylene membrane for the prevention of peridural fibrosis after spinal surgery: a clinical study. *Eur Spine J* 1999; 8: 144-50.
4. Fritsch EW, Heisel J, Rupp S. The failed back surgery syndrome. Reasons, intraoperative findings and long term results. A report of 182 operative treatments. *Spine* 1996; 21: 626-33.
5. North RB, Campbell JN, Jans CS, et al. Failed back surgery syndrome: 5-year follow-up in 102 patients undergoing repeat operation. *Neurosurgery* 1991; 28: 685-91.
6. Long DM, Filtzer DL, BenDebba M, Hendler NH. Clinical features of the failed-back syndrome. *J Neurosurg* 1988; 69: 61-71.
7. Puolakka K, Ylinen J, Neva MH, Kautiainen H, Häkkinen A. Risk factors for back pain-related loss of working time after surgery for lumbar disc herniation: a 5-year follow-up study. *Eur Spine J*. 2008; 17: 386-92.
8. Carrol SE, Wiesel SW. Neurologic complications and lumbar laminectomy. A standardized approach to the multiply-operated lumbar spine. *Clin Orthop Relat Res* 1992; 284: 14-23.
9. Davis RA. A long-term outcome analysis of 984 surgically treated herniated lumbar disc. *J Neurosurg* 1994; 80: 415-21.
10. Ragap A, deShazo RD. Management of back pain in patients with previous back surgery. *Am J Med*. 2008;121: 272-8.
11. Ross JS, Zepp R, Modic MT. The postoperative lumbar spine: enhanced MR evaluation of the intervertebral disk. *AJNR Am J Neuroradiol* 1996; 17: 323-31.
12. Jönsson BO, Strömqvist B. Repeated decompression of lumbar nerve roots. A prospective two-year evaluation. *J Bone Joint Surg* 1993;75-B: 894-7.
13. Lawson KJ, Malycky JL, Berry JL, Steffee AD. Lamina repair and replacement to control laminectomy membrane formation in dogs. *Spine* 1991; 16: 222-6.
14. Touliatos AS, Soucacos PN, Beris AE. Post-discectomy perineural fibrosis: comparison of conventional versus microsurgical techniques. *Microsurgery* 1992; 13: 192-4.
15. Alkalay RN, Kim DH, Urry DW, et al. Prevention of postlaminectomy epidural fibrosis using bioelastic materials. *Spine* 2003; 28: 1659-65.
16. Temel SG, Ozturk C, Temiz A, Ersozlu S, Aydinli A. A new material for prevention of epidural fibrosis after laminectomy. *J Spinal Disord Tech* 2006; 19: 270-5.

17. Barbera J, Gonzalez J, Esquerdo J, Broseta J, Barcia-Salorio JL. Prophylaxis of the laminectomy membrane. An experimental study in dogs. *J Neurosurg* 1978; 49: 419-24.
18. Görgülü A, Şimşek O, Çobanoğlu S, Imer M, Parsak T. The effect of epidural free fat graft on the outcome of lumbar disc surgery. *Neurosurg Rev* 2004; 27: 181-4.
19. Prusick VR, Lint DS, Bruder J. Cauda Equina Syndrome as a complication of free epidural fat grafting. *J Bone Joint Surg* 1988; 70-A: 1256-58.
20. Martin-Ferrer S. Failure of autologous fat grafts to prevent postoperative epidural fibrosis in surgery of the lumbar spine. *Neurosurg* 1989; 24: 718-21.
21. Songer MN, Rauschnig W, Carson EW, Pandit SM. Analysis of peridural scar formation and prevention after lumbar laminotomy and discectomy in dogs. *Spine* 1995; 20: 571-80.
22. Boot DA, Hughes SP. The prevention of adhesions after laminectomy. Adverse results of zenoderm implantations into laminectomy sites in rabbits. *Clin Orthop* 1987; 215: 296-302.
23. Ozer AF, Oktenoglu T, Sasani M, et al. Preserving the ligamentum flavum in lumbar discectomy: a new technique that prevents scar tissue formation in the first 6 months postsurgery. *Neurosurgery* 200; 59: 126-33; discussion 126-33.
24. Park YK, Tator CH. Prevention of arachnoiditis and postoperative tethering of the spinal cord with Gore-Tex surgical membrane: an experimental study with rats. *Neurosurgery* 1998; 42: 813-24.
25. Choi HJ, Kim KB, Kwon YM. Effect of amniotic membrane to reduce postlaminectomy epidural adhesion on a rat model. *J Korean Neurosurg Soc* 2011; 49: 323-8.
26. Jacobs RR, McClain O, Neff J. Control of postlaminectomy scar formation: an experimental and clinical study. *Spine* 1980; 5: 220-9.
27. Lee JY, Ebel H, Friese M, Schillinger G, Schröder R, Klug N. Influence of TachoComb in comparison to local hemostyptic agents on epidural fibrosis in a rat laminectomy model. *Minim Invasive Neurosurg* 2003; 46: 106-9.
28. DiFazio FA, Nichols JB, Pope MH, Frymoyer JW. The use of expanded polytetrafluoroethylene as an interpositional membrane after lumbar laminectomy. *Spine (Phila Pa 1976)* 1995; 20: 986-91.
29. Nussbaum CE, Mc Donald JV, Baggs RB. Use of vicryl (polyglactin 910) mesh to limit epidural scar formation after laminectomy. *Neurosurg* 1990; 26: 649-54.
30. Liu LM, Song YM, Duan H, Ding YL, Lu B. Effect of polylactic acid glue in preventing epidural scar adhesion after laminectomy in rabbits. *Chin J Traumatol* 2006; 9: 146-51.
31. Doğulu F, Durdağ E, Cemil B, Kurt G, Özgün G. The role of FloSeal in reducing epidural fibrosis in a rat laminectomy model. *Neurol Neurochir Pol* 2009; 43: 346-51.
32. Lawson KJ, Malycky JL, Berry JL, Steffee AD. Lamina repair and replacement to control laminectomy membrane formation in dogs. *Spine (Phila Pa 1976)* 1991; 16: 222-6.

33. diZerega GS, Cortese S, Rodgers KE, et al. A modern biomaterial for adhesion prevention. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2007; 81: 239-50.
34. Rodgers KE, Robertson JT, Espinoza T, et al. Reduction of epidural fibrosis in lumbar surgery with Oxiplex adhesion barriers of carboxymethylcellulose and polyethylene oxide. *Spine J* 2003; 3: 277-84.
35. Kato T, Haro H, Komori H, Shinomiya K. Evaluation of hyaluronic acid sheet for the prevention of postlaminectomy adhesions *Spine J* 2005; 5: 479-88.
36. Songer MN, Ghosh L, Spencer DL. Effects of sodium hyaluronate on peridural fibrosis after lumbar laminotomy and discectomy. *Spine* 1990; 15: 550-4.
37. Akeson WH, Massie JB, Huang B, et al. Topical high-molecular-weight hyaluronan and a roofing barrier sheet equally inhibit postlaminectomy fibrosis. *Spine J* 2005; 5: 180-90.
38. Massie JB, Schimizzi AL, Huang B, Kim CW, Garfin SR, Akeson WH. Topical high molecular weight hyaluronan reduces radicular pain post laminectomy in a rat model. *Spine J* 2005; 5: 494-502.
39. Pospiech J, Pajonk F, Stolke D. Epidural scar tissue formation after spinal surgery: an experimental study. *Eur Spine* 1995; 4: 213-9.
40. Cekinmez M, Sen O, Atalay B, et al. Effects of methyl prednisolone acetate, fibrin glue and combination of methyl prednisolone acetate and fibrin glue in prevention of epidural fibrosis in a rat model. *Neurol Res* 2010; 32: 700-5.
41. He Y, Revel M, Loty BA. A quantitative model of post-laminectomy scar formation effects of a nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Spine* 1995; 20: 557-63.
42. Foulkes GD, Robinson JS. Intraoperative dexamethasone irrigation in lumbar microdiscectomy. *Clin Orthop Relat Res* 1990; 261: 224-8.
43. Özdemir O, Çalışaneller T, Sönmez E, Kıyıcı H, Caner H, Altınörs N. Topical use of colchicine to prevent spinal epidural fibrosis in rats. *Neurol Res* 2010; 32: 1117-20.
44. Savran M, Bekar A, Cansev M, Tolunay S, Ulus IH, Taskapilioglu MO. Prevention of epidural fibrosis in rats by local or systemic administration of citicoline. *Turk Neurosurg* 2012; 22: 634-40.
45. Colak A, Bavbek M, Aydin NE, Renda N, Açıköz B. Effect of CO₂ laser on spinal epidural fibrosis. *Acta Neurochir* 1996; 138: 162-6.
46. Gerszten PC, Moossy JJ, Flickinger JC, Gerszten K, Kalend A, Martínez AJ. Inhibition of peridural fibrosis after laminectomy using low-dose external beam radiation in a dog model. *Neurosurgery* 2000; 46: 1478-85.
47. Amara FM, Entwistle J, Kuschak TI, Turley EA, Wright JA. Transforming growth factor-beta1 stimulates multiple protein interactions at a unique cis-element in the 3'-untranslated region of the hyaluronan receptor RHAMM mRNA. *J Biol Chem* 1996; 271: 79-84.
48. Ibrahim S, Kothapalli CR, Kang QK, Ramamurthi A. Characterization of glycidyl methacrylate - Crosslinked hyaluronan hydrogel scaffolds incorporating elastogenic hyaluronan oligomers. *Acta Biomaterialia* 2011; 7: 653-65.
49. Chen WY, Abatangelo G. Functions of hyaluronan in wound repair.

Wound Repair Regen 1999; 7: 79–89.

50. Shu XZ, Ghosh K, Liu Y, et al. Attachment and spreading of fibroblasts on an RGD peptide-modified injectable hyaluronan hydrogel. *J Biomed Mater Res A* 2004; 68: 365-75.
51. Lapcık L Jr, Lapcık L, De Smedt S, Demeester J, Chabreck P. Hyaluronan: preparation, structure, properties, and applications. *Chem Rev* 1998; 98: 2663-84.
52. Shih HN, Fang JF, Chen JH, et al. Reduction in Experimental Peridural Adhesion with the Use of a Crosslinked Hyaluronate/Collagen Membrane. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2004; 71: 421-8.
53. Longaker MT, Chiu ES, Adzick NS, Stern M, Harrison MR, Stern R. Studies in fetal wound healing. A prolonged presence of hyaluronic acid characterizes fetal wound fluid. *Ann Surg* 1991; 213: 292-6.
54. Huang-Lee LL, Wu JH, Nimni ME. Effects of hyaluronan on collagen fibrillar matrix contraction by fibroblasts. *J Biomed Mater Res* 1994; 28: 123-32.
55. Mais V, Cirronis MG, Peiretti M, Ferrucci G, Cossu E, Melis GB. Efficacy of auto-crosslinked hyaluronan gel for adhesion prevention in laparoscopy and hysteroscopy: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;160: 1-5.
56. Renier D, Bellato P, Bellini D, Pavesio A, Pressato D, Borrione A. Pharmacokinetic behaviour of ACP gel, an autocrosslinked hyaluronan derivative, after intraperitoneal administration. *Biomaterials* 2005; 26: 5368-74.
57. Cencetti C, Bellini D, Longinotti C, Martinelli A, Matricardi P. Preparation and characterization of a new gellan gum and sulphated hyaluronic acid hydrogel designed for epidural scar prevention. *J Mater Sci: Mater Med* 2011; 22: 263-71.
58. Strand V, Baraf HS, Lavin PT, Lim S, Hosokawa H. A multicenter, randomized controlled trial comparing a single intra-articular injection of Gel-200, a new cross-linked formulation of hyaluronic acid, to phosphate buffered saline for treatment of osteoarthritis of the knee *Osteoarthritis Cartilage* 2012; 20: 350-6.
59. Park SN, Park JC, Kim HO, Song MJ, Suh H. Characterization of porous collagen/hyaluronic acid scaffold modified by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide cross-linking. *Biomaterials* 2002; 23: 1205-12.
60. Chang NS, Intrieri C, Mattison J, Armand G. Synthetic polysulfated hyaluronic acid is a potent inhibitor for tumor necrosis factor production. *J Leukoc Biol* 1994; 55: 778-84.
61. Yoshioka K, Miyamoto K, Abe R, Takahashi K, Minamisawa Y, Maruyama H. Effects of intra-articular injection of cross-linked hyaluronate hydrogel (Gel-200) on the anterior cruciate ligament (ACL) transection induced arthritis in rabbits. *Osteoarthritis Cartilage* 2006; 14: 49-50.
62. Tomihata K, Ikada Y. Crosslinking of hyaluronic acid with water-soluble carbodiimide. *J Biomed Mater Res* 1997; 37: 243-51.
63. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma* 1995; 12:

1- 21.

- 64.** Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device versus transection. *Exp Neurol* 1996; 139: 244-56.
- 65.** Topsakal C, Akpolat N, Erol FS, et al. Seprafilm superior to Gore-Tex in the prevention of peridural fibrosis. *J Neurosurg* 2004; 101: 295-302.
- 66.** Hinton JL Jr, Warejcka DJ, Mei Y, et al. Inhibition of epidural scar formation after lumbar laminectomy in the rat. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1995; 20: 564-70; discussion 579-80.
- 67.** Robertson JT. Role of peridural fibrosis in the failed back: A review: *Eur Spine J* 1996; 5: 2-6.
- 68.** Liu S, Boutrand JP, Tadie M: Use of collagen-based sealant to prevent in vivo epidural adhesions in an adult rat laminectomy model. *J Neurosurg* 2001; 94: 61-7.
- 69.** Hoyland JA, Freemont AJ, Denton J, Thomas AMC, McMillan JJ, Jayson MIV. Retained surgical swab debris in post-laminectomy arachnoiditis and peridural fibrosis. *J Bone Joint Surg (Br)* 1988; 70-B: 659-62.
- 70.** Lipetz JS. Pathophysiology of inflammatory, degenerative, and compressive radiculopathies. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 2002; 13: 439-49.
- 71.** Petrie JL, Ross JS. Use of ADCON-L to inhibit postoperative peridural fibrosis and related symptoms following lumbar disc surgery: a preliminary report. *Eur Spine J* 1996; 5: 10-7.
- 72.** Coskun E, Süzer T, Topuz O, Zencir M, Pakdemirli E, Tahta K. Relationships between epidural fibrosis, pain, disability, and psychological factors after lumbar disc surgery. *Eur Spine J* 2000; 9: 218-23.
- 73.** Vogelsang JP, Finkenstaedt M, Vogelsang M, Markakis E. Recurrent pain after lumbar discectomy: the diagnostic value of peridural scar on MRI. *Eur Spine J* 1999; 8: 475-9.
- 74.** Caner H, Atalay B. Başarısız bel cerrahisi sendromu. Zileli M, Özer AF (eds). *Omurlilik ve omurga cerrahisi*. Cilt 1. 2. Baskı. İzmir: Meta Basım, 2002; 789-95.
- 75.** Samy AM, Hardy RW. Epidural fibrosis and the failed back surgery syndrome: history and physical findings. *Neurol Res* 1999; 21: 55-8.
- 76.** North RB, Campbell JN, James CS, et al. Failed back surgery syndrome: 5-year followup in 102 patients undergoing repeated operation. *Neurosurgery* 1991; 28: 685-91.
- 77.** Braverman DL, Slipman CW, Lendrow DA. Using Gabapentin to treat failed back surgery syndrome caused by epidural fibrosis: a report of two cases. *Arch Phys Med Rehabil* 2001; 82: 691-3.
- 78.** Einhaus SL, Robertson JT, Dohan Jr FC, Wujek JR, Ahmad S. Reduction of peridural fibrosis after lumbar laminotomy and discectomy in dogs by a resorbable gel (ADCON-L). *Spine (Phila Pa 1976)* 1997; 22: 1440-7.
- 79.** LaRocca H, Macnab J. The laminectomy membrane. Studies in its evolution, characteristics, effects and prophylaxis in dogs. *J Bone Joint Surg Br* 1974 Aug;56B,3: 545-50.
- 80.** Jayson MIV: Vascular damage, fibrosis, and chronic inflammation in mechanical back pain problems. *Sem Arthrit and Rheum* 1989; 18: Suppl 2:

73-6.

- 81.** Epstein NE, Schwall G. Thoracic spinal stenosis. Diagnostic and treatment challenges. *J Spinal Disord* 1994; 7: 259-69.
- 82.** Yildiz KH, Gezen F, Is M, Cukur S, Dosoglu M. Mitomycin C, 5-fluorouracil, and cyclosporin A prevent epidural fibrosis in an experimental laminectomy model. *Eur Spine J* 2007; 16: 1525-30.
- 83.** Cemil B, Tun K, Kaptanoglu E, et al. Use of pimecrolimus to prevent epidural fibrosis in a postlaminectomy rat model. *J Neurosurg Spine* 2009; 11: 758-63.
- 84.** Ivanic GM, Pink TP, Homann NC, Scheitza W, Goyal S. The post-discectomy syndrome aetiology, diagnosis, treatment, prevention. *Arch Orthop Trauma Surg* 2001; 121: 494-500.
- 85.** Epter RS, Helm S, Hayek SM, Benyamin RM, Smith HS, Abdi S. Systematic review of percutaneous adhesiolysis and management of chronic low back pain in post lumbar surgery syndrome. *Pain Physician* 2009; 12: 361-78.
- 86.** Boyacı S, Bekar A, Kocaeli H, Doygun M, Tolunay Ş. Bel cerrahisi sonrası peridural fibrozisin önlenmesinde Adcon-L'nin etkinliği. *Türk Nöroşirürji Dergisi* 2000; 10: 102-8.
- 87.** Kuivila TE, Berry JL, Bell GR, Steffee AD. Heparinized materials for control of the laminectomy membrane in experimental laminectomies in dogs. *Clin Ortho Rel Res* 1988; 236: 166-73.
- 88.** Bryant MS, Bremer AM, Nyugen TQ. Autogeneic fat transplants in the epidural space in routine lumbar spine: MR imaging assesment. *AJNR* 1988; 9: 169-78.
- 89.** Keller JT, Dunsker SB, Mewhorter JM, Ongkiko CM, Saunders MC, Mayfield FH. The fate of autogenous grafts to the spinal dura. *J Neurosurg* 1978; 49: 412- 8.
- 90.** Akdemir H, Paşaoğlu A, Selçuklu A, Öztürk F, Kurtsoy A. Prevention of adhesions after laminectomy: an experimental study in dogs. *Res Exp Med (Berl)* 1993; 193: 39-46.
- 91.** Kemaloğlu S, Ozkan U, Yılmaz F, et al. Prevention of spinal epidural fibrosis by recombinant tissue plasminogen activator in rats. *Spinal Cord* 2003; 41: 427-31.
- 92.** Dogan S, Taskapilioglu O, Sahin S, Korfali E. The effects of seprafilm and interceed TC7 on epidural fibrosis in a rat hemilaminectomy model. *Neurosurgery Q* 2009; 19: 190-5.
- 93.** Sabuncuoğlu H, Bavbek M, Sabuncuoğlu B, et al. Attenuation of postlaminectomy epidural fibrosis with monoclonal antibodies against intercellular adhesion molecule-1 and CD-18. *Spine J* 2007; 7: 459-65.
- 94.** Bulut G, Dogan S, Doygun M. Spinal cerrahi sonrası epidural fibrozisin önlenmesinde omentum greftinin etkinliği: deneysel çalışma. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2007; 3: 115-21.
- 95.** de Tribolet N, Porchet F, Lutz TW, et al. Clinical assesment of a novel antiadhesion barrier gel: prospective, randomized, multicenter, clinical trial of ADCON-L to inhibit postoperative peridural fibrosis and related symptoms after lumbar discectomy. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*. 1998; 27: 111-20.

- 96.** Einhaus SL, Robertson JT, Dohan FC Jr, Wujek JR, Ahmad S. Reduction of peridural fibrosis after lumbar laminotomy and discectomy in dogs by a resorbable gel (ADCON-L). *Spine* 1997; 22: 1440-6; discussion 1446-7.
- 97.** Temiz C, Temiz P, Sayin M, Ucar K. Effect of cepea extract-heparin and allantoin mixture on epidural fibrosis in a rat hemilaminectomy model. *Turk Neurosurg* 2009; 19: 387-92.
- 98.** Farrokhi MR, Vasei M, Fareghbal S, Farrokhi N. The effect of methylene blue on peridural fibrosis formation after laminectomy in rats: an experimental novel study. *Spine J* 2011; 11: 147-52.
- 99.** Yang J, Ni B, Liu J, Zhu L, Zhou W. Application of liposome-encapsulated hydroxycamptothecin in the prevention of epidural scar formation in New Zealand white rabbits. *Spine J* 2011; 11: 218-23.
- 100.** de Wit T, de Putter D, Tra WM, et al. Auto-crosslinked hyaluronic acid gel accelerates healing of rabbit flexor tendons in vivo. *J Orthop Res.* 2009; 27: 408-15.
- 101.** van Dijk BG, Potier E, Ito K. Long-term culture of bovine nucleus pulposus explants in a native environment *Spine J* 2013 pii: S1529-9430;01522-7.
- 102.** Lee CK, Alexander H. Prevention of postlaminectomy scar formation. *Spine* 1984; 9: 305-12.

EKLER

EK-1: Kısaltmalar:

BBB	: Basso Beattie Bresnahan
BBCS	: Başarısız Bel Cerrahisi Sendromu
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
ELISA	: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
HA	: Hiyalüronik Asid
HA gel	: Derive Edilmiş Yüksek Moleküler Ağırlıklı Hiyalüronik Asid
HCPT	: Hidroksikamptotekin
HE	: Hematoksilen Eozin
HMW HA	: Yüksek Moleküler Ağırlıklı Hiyalüronik Asid
L-HCPT	: Lipozom kapsüllü hidroksikamptotekin
LDH	: Lomber Disk Hernisi
MT	: Masson Trichrome
rt-PA	: Rekombinant Doku Plazminojen Aktivatörü
SF	: Serum Fizyolojik
TGF	: Transforme Edici Büyüme Faktörü
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktör- α
TNF-β	: Tümör Nekroz Faktör - β
t-PA	: Doku Plazminojen Aktivatörü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yapılıp tez haline getirilmesinde bana yol gösteren, nöroşirürji ihtisasım boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım sayın hocam Doç. Dr. Şeref Doğan'a, nöroşirürjiyi seçmemde büyük payı olan sayın hocam Prof. Dr. Kaya Aksoy'a, nöroşirürjiyi sevmemde ve nöroşirürjiyen olmamda sonsuz katkısı ve desteği olan değerli hocam Prof. Dr. Ender Korfalı'ya, mesleki ve kişisel gelişimimde sayısız etkileri bulunan hocalarım, sayın Prof. Dr. Selçuk Yılmazlar'a, Prof. Dr. Ahmet Bekar'a, Doç. Dr. Hasan Kocaeli'ye; daima her konuda desteğini gördüğüm, tecrübeleriyle değerli katkılarını esirgemeyen sayın hocam Yrd. Doç. Dr. M. Özgür Taşkapılıoğlu'na, ihtisas eğitimim süresince iyisiyle kötüsüyle birçok anıyı paylaştığım, birçok şey öğrendiğim ve birlikte çalışmaktan onur duyduğum asistan arkadaşlarım Dr. Faruk Abaş, Dr. Başak Topkoru, Dr. Alper Türkkkan, Dr. Mehmet Savran, Dr. Turgut Kuytu, Dr. Ulaş Aktaş, Dr. Tolga Kaplan, Dr. Tuğba Moralı Güler, Dr. Pınar Eser, Dr. Elif Başaran Gündoğdu, Dr. Ahmet Karaoğlu, Dr. Duygu Baykal'a, yıllardır gösterdikleri yakınlıklarından dolayı tüm klinik, poliklinik, ameliyathane, acil servis ve yoğun bakım hemşire, personel ve tıbbi sekreterlerine, tez çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen veteriner hekim Deniz Bağdaş ve veteriner hekim Faruk Küçükyıldız'a, Vildan Öztaş'a, dostluğu ve güveni için Neslihan Zor Tunalı'ya, hiçbir zaman bana olan inancını kaybetmeyen, her zaman ve koşulda yanımda olan aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

Nisan 1981'de, Bulgaristan'ın Kırcaali şehrinde doğdum. İlk öğrenimimin ilk iki yılını Kırcaali'de, sonraki üç yılını Bursa 1. Murat İlkokulu'nda tamamladım. 1992 yılında Bursa Nilüfer Milli Piyango Anadolu Lisesi'nde başladığım orta öğrenimimi 1999 yılında tamamladım. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 2005 yılında mezun oldum. 2006 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım.