



T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

**SIÇAN LAMİNEKTOMİ MODELİNDE HALOFUGİNONUN
EPİDURAL FİBROZİS ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Tülay ASLAN

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2022



T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

**SIÇAN LAMİNEKTOMİ MODELİNDE HALOFUGİNONUN
EPİDURAL FİBROZİS ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Tülay ASLAN

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Halil Kamil ÖGE

ANKARA

2022

TEŞEKKÜR

Nöroşirürji eğitimim süresince bilgi, birikim ve desteğini esirgemeyen, bu çalışmanın planlanması, uygulanması ve sonuçlandırılmasında büyük emeği geçen, benim için büyük bir ilham kaynağı olan ve öğrencisi olmaktan büyük mutluluk duyduğum değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Halil Kamil Öge'ye saygı ve sevgilerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca bilimsel, mesleki ve sosyal deneyimlerini benimle paylaşan, cerrahi prensip ve mesleki özgüvenimin oluşmasında büyük emeği olan, köklü geçmişi ve birikimi ile yolumuzu aydınlatan değerli Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı ailesine, Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mustafa Berker'e, değerli öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Mustafa Servet İnci'ye, Sayın Prof. Dr. Burçak Bilginer'e, Sayın Prof. Dr. Melike Mut Aşkun'a, Sayın Doç. Dr. Ahmet İlkay Işıkkay'a, Uzm. Dr. Dicle Karakaya'ya ve Uzm. Dr. Şahin Hanalioğlu'na teşekkürlerimi borç bilirim.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesi için gerekli altyapı ve desteği sağlayan Sayın Prof. Dr. Hakan Sabuncuoğlu'na, Sayın Prof. Dr. Mehmet Ali Onur'a, Sayın Prof. Dr. Fatma Sevda Müftüoğlu'na, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Esin Akbay Çetin'e, Sayın Araş. Gör. Dr. İlker Levent Erdem'e, Sayın Alp Yiğit Özdemir'e ve Sayın Setenay Akman'a şükranlarımı sunarım.

Tezin istatistik değerlendirmelerini yapan KKTC Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. İlker Etikan'a teşekkürü ayrıca bir borç bilirim.

Uzmanlık eğitimimin yoğun, yorucu ve zor zamanlarında desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, bana sonsuz sabır gösteren, haklarını asla ödeyemeyeceğim değerli aileme minnettarım.

Tezimi, doğru yönlendirmeleri sayesinde bu günlere gelmemde en önemli paya sahip olan, kardeşi olmaktan gurur ve onur duyduğum değerli ağabeyim Barış Aslan'a ithaf ediyorum.

ÖZET

Aslan T. Sıçan laminektomi modelinde halofuginonun epidural fibrozis üzerine etkisinin incelenmesi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirurji Anabilim Dalı, Ankara, 2022. Bel ağrısı toplumun %80'inin hayatında en az bir defa karşılaştığı, hastaneye başvuruların önemli bir kısmını oluşturan, yaşam kalitesini düşüren, iş gücü kaybına neden olan önemli bir sağlık problemidir. Bel ağrılarının en sık nedeni olan lomber disk hernisi medikal ve/veya cerrahi tedavi gerektirir. Spinal cerrahi sonrası bel ve bacak ağrısı gibi yakınmaların devam ettiği başarısız bel cerrahisi sendromunun en sık sebebi epidural fibrozistir. Nöral doku etrafında skar dokusuna neden olup bası yapar ve sinir köklerinin beslenmesini bozarak radiküler ağrıya yol açar. Günümüzde epidural fibrozisi engellemeye veya azaltmaya yönelik birçok çalışma yapılmasına rağmen kesin çözüm bulunamamıştır. Halofuginon, *Dichroa febrifuga* bitkisinden elde edilen februfigin isimli alkaloidin analogudur. Veteriner hekimlerin antiprotozoon olarak kullandığı bu ilacın in vivo ve in vitro çalışmalarda oral ve/veya sistemik yoldan uygulandığında tip 1 kollajen sentezini inhibe ettiği ve antifibrotik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, sıçanlarda oluşturulan lomber laminektomi modelinde lokal olarak uygulanan Halofuginon'un antifibrotik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada, 3 ayrı grup ve her grupta 7 adet Wistar Albino erkek sıçan (n=7) olacak şekilde toplam 21 adet sıçan kullanılmıştır. 7'si laminektomi yapılan kontrol grubu, 7'si laminektomi sahasına hidrojel yerleştirilen grup ve 7'si laminektomi sahasına Halofuginon yüklü hidrojel yerleştirilen grup olarak ayrılmıştır. Post-operatif 21. günde sakrifiye edilen sıçanların laminektomi sahasının 1 cm altından ve üstünden olacak şekilde spinal kolon, vertebral kolon, paravertebral kaslar ve fasyayı içeren dokuları alınmıştır. Serum fizyolojik ile yıkanıp bir hafta boyunca formaldehit solüsyonunda bekletilmiş ve dekalsifikasyon sonrası dehidrate edilip parafin bloklara alınmıştır. Seri kesitler elde edildikten sonra hematoksilin-eozin (HE) ile Masson'un trikrom boyası ile boyanıp epidural fibrozis alanı ve fibrozisin adezyon derecesi analiz edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarında öne çıkan noktalar ise kontrol grubunda yoğun fibrozis ile aktif fibroblastların olduğu, hidrojel grubunda mekanik bir bariyer oluşturarak fibrozis oluşumuna engel olabilecek membranöz bir yapının olduğu ve hidrojel ile Halofuginon grubunda da fibröz dokunun dağılımının düşük olması yanı sıra bazı

bölgelerde dikkati çeken vasküler yapılarda genişleme ile aktif osteoblastların varlığı mevcuttu. Bunun yanında her üç grupta da infiltratif iltihabi hücre görülmedi, yabancı cisim reaksiyonu oluşmadı ve laminektomi alanını doldurabilecek yeni kemik oluşumu gözlenmedi. Her üç grup istatistiksel olarak milimetre kare cinsinden epidural fibrozis alanı değerlendirildiğinde anlamlı bir farkın olmadığı saptandı. Fibrozis adezyon derecesi açısından ise kontrol grubu ile hidrojel ile Halofuginon grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: Lomber laminektomi, sıçan, epidural fibrozis, Halofuginon

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (HÜBAP) (Proje numarası: THD-2021-19672) tarafından desteklenmiştir.

ABSTRACT

Aslan T. Investigation of the effect of halofuginone on epidural fibrosis in a rat laminectomy model, Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Neurosurgery, Ankara, 2022. Low back pain is an important health problem encountered by 80% of the society at least once in their life, constituting an important part of hospital admissions, reducing the quality of life and causing loss of workforce. Lumbar disc herniation, which is the most common cause of low back pain, requires medical and/or surgical treatment. Epidural fibrosis is the most common cause of unsuccessful back surgery syndrome, in which complaints such as low back and leg pain continues after spinal surgery. It causes scar tissue around the neural tissue and compresses it and causes radicular pain by disrupting the nutrition of the nerve roots. Today, although many studies have been conducted to prevent or reduce epidural fibrosis, no definitive solution has been found. Halofuginone is an analogue of the alkaloid februfigin obtained from the plant *Dichroa febrifuga*. This drug, which is used by veterinarians as an antiprotozoan, has been shown to inhibit type 1 collagen synthesis and have an antifibrotic effect when administered orally and/or systemically in in vivo and in vitro studies. In this study, it was aimed to investigate the antifibrotic effect of locally applied Halofuginone in the lumbar laminectomy model created in rats. In the study, a total of 21 rats were used in 3 separate groups and 7 Wistar Albino male rats (n=7) in each group. Seven of them were divided into the control group that underwent laminectomy, 7 of them were divided into the group in which hydrogel was placed in the laminectomy area, and 7 of them were divided into the group in which Halofuginone-loaded hydrogel was placed in the laminectomy area. Tissues including spinal column, vertebral column, paravertebral muscles and fascia were taken from rats sacrificed on the post-operative 21st day, 1 cm above and below the laminectomy site. They were washed with saline, kept in formaldehyde solution for a week, and after decalcification, they were dehydrated and taken into paraffin blocks. After the serial sections were obtained, the area of epidural fibrosis and the degree of adhesion of the fibrosis were analyzed by staining with hematoxylin-eosin (HE) and Masson's trichrome stain. The prominent points in the results of the study are that there are intense fibrosis and active fibroblasts in the control group, a membranous structure that can prevent fibrosis formation by forming a mechanical barrier in the hydrogel

group, and the low distribution of fibrous tissue in the hydrogel and Halofuginone groups, as well as the enlargement of the vascular structures in some regions. active osteoblasts were present. In addition, there was no infiltrative inflammatory cell, no foreign body reaction, and no new bone formation that could fill the laminectomy area was observed in all three groups. When the epidural fibrosis area in square millimeters was evaluated statistically in all three groups, it was determined that there was no significant difference. In terms of the degree of fibrosis adhesion, it was found statistically significant between the control group and the hydrogel + Halofuginone groups.

Keywords: Lumbar laminectomy, rat, epidural fibrosis, Halofuginone

Supported by HÜBAP (Project number: THD-2021-19672).

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XIII

1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Omurga Anatomisi.....	3
2.2 Lomber Bölge Cerrahisi – Laminektomi	13
2.3 Başarısız Bel Cerrahisi Sendromu.....	16
2.4 İnflamasyon.....	18
2.4.1 Akut inflamasyon.....	19
2.4.2 Kronik inflamasyon.....	23
2.4.3 Doku onarımı.....	24
2.4.4 Rejenerasyon.....	25
2.4.5 Skar (fibrozis) ile onarım.....	25
2.5 Yara iyileşmesi.....	28
2.6 Epidural Fibrozis.....	29
2.7 Halofuginon.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1 Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları.....	31
3.2 Halofuginon Antifibrotik Doz Tayini.....	31
3.2.1 Deneysel tasarım.....	32
3.2.2 MTT analizi.....	32
3.2.3 Sonuç.....	33
3.3 Hidrojellerin Hazırlanması.....	33

3.3.1 Boş Hidrojellerin Hazırlanması.....	33
3.3.2 Halofuginon Yüklü Hidrojellerin Hazırlanması.....	34
3.4 Deney Grupları.....	35
3.5 Cerrahi Teknik.....	35
3.5.1 Preoperatif Hazırlık.....	36
3.5.2 Deney Aşaması.....	38
3.5.3 Postoperatif Takip.....	41
3.5.4 Sakrifikasyon.....	41
3.6 Histolojik Değerlendirme ve Analiz.....	42
3.7 İstatistiksel Değerlendirme	43
4.BULGULAR.....	43
4.1 Kontrol grubu.....	43
4.2 Hidrojel grubu.....	47
4.3 Hidrojel ile Halofuginon grubu.....	50
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	58
7. KAYNAKLAR.....	61

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1: Vertebral kolon A. Anterior görünüm B. Posterior görünüm.....4	
C.Lateralden görünüm	
Şekil 2: L2 vertebra, superior görünüm.....5	
Şekil 3: T12 vertebranın lateralden görünümü.....5	
Şekil 4: L3 ve L4 vertebra, posterior görünüm.....6	
Şekil 5: Lomber vertebralar, sol lateral görünüm.....7	
Şekil 6: Omurganın Ligamentleri.....8	
Şekil 7: Ligamentum flavum.....9	
Şekil 8: İntervertebral disk.....10	
Şekil 9: İntervertebral disk, anulus fibrozus, nucleus pulposus, vertebral.....10	
end plate, apofizer halka	
Şekil 10: İntervertebral disk ile omurga ligamentlerinin ilişkisi11	
Şekil 11: Vertebranın arteriyel dolaşımı.....11	
Şekil 12: Vertebranın venöz dolaşımı.....12	
Şekil 13: A) Normal posterior vertebral ark B) Hemilaminektomi.....14	
C) Laminektomi	
Şekil 14: Laminektomi.....14	
Şekil 15: Lökositlerin damar lümeninden dokuya geçişi, adezyon.....21	
molekülleri ile sitokinlerin aracılık ve kontrol ettiği çok aşamalı süreç	
Şekil 16: Akut inflamasyonun sonuçları: rezolusyon, fibrozis ile iyileşme.....22	
veya kronik inflamasyon	
Şekil 17: Doku onarım mekanizmaları: rejenerasyon ve skar oluşumu.....24	
Şekil 18: Fibrozis mekanizmaları.....26	
Şekil 19: Skar oluşumu ile onarım adımları (A) Hemostatik tıkaç ve.....26	
inflamasyon. (B) Epitel hücrelerinin çoğalması; anjiyogenez, çoğalan	
fibroblastlar ile granülasyon dokusunun oluşumu. (C) Fibröz skar	
oluşturmak için yeniden şekillenme.	
Şekil 20: Halofuginonun Moleküler Yapısı.....30	

Şekil 21: Halofuginon'un antifibrotik doz tayininde hücre canlılık yüzdesini.....33	
gösteren grafik	
Şekil 22: Deneyde kullanılan cerrahi aletler.....36	
Şekil 23: Deneyin yapıldığı ameliyat masası.....37	
Şekil 24: Deneyin yapıldığı laboratuvar düzeni.....37	
Şekil 25: Deney pozisyonu ve cerrahi saha hazırlığı.....39	
Şekil 26: Bilateral paravertebral adele diseksiyonu sonrası lomber.....39	
vertebraların görünümü	
Şekil 27: Lomber laminektomi sonrası spinal kordun görünümü.....40	
Şekil 28: Laminektomi sahasına hidrojel yerleştirilmesi.....40	
Şekil 29: Kas ve fasyanın ipek dikiş ile kapatılması.....41	
Şekil 30: Kontrol grubunda hematoksilen-eozin ile boyamada laminektomi44	
alanında fibröz doku (F) varlığı izlenmektedir. Medulla spinalis (M).	
Şekil 31: Kontrol grubunda hematoksilen-eozin boyamada beyaz oklar.....44	
fibröz doku (F) adezyonunu göstermektedir. Medulla spinalis (M).	
Şekil 32: Kontrol grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada Medulla.....45	
spinalis (M) ve fibrozis (F) görülmektedir.	
Şekil 33: Kontrol grubunda hematoksilen-eozin ile boyamada beyaz oklar.....45	
spinöz kısımda fibröz doku adezyonunu göstermektedir.	
Şekil 34: Kontrol grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada Medulla.....46	
spinalis ve etrafında oluşmuş fibrozis içerisinde aktif fibroblastlar	
beyaz oklarla gösterilmiştir.	
Şekil 35: Kontrol grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada fibrozis.....46	
dokusu içinde aktif fibroblastlar beyaz oklarla gösterilmiştir.	
Şekil 36: Hidrojel grubunda Masson'un trikrom boyası le boyamada.....47	
Medulla spinalis (M) ve etrafında fibröz bantlar beyaz oklarla	
gösterilmiştir.	
Şekil 37: Hidrojel grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada.....48	
fibröz doku (F) izlenmektedir.	
Şekil 38: Hidrojel grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada.....48	
Medulla spinalis (M) ve etrafındaki fibröz bantlar beyaz oklarla	
gösterilmiştir.	

Şekil 39: Hidrojel grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada.....	49
Medulla spinalis (M) etrafında fibröz bantlar ve hidrojelin oluşturduğu bariyer görülmektedir. Üstteki resimde fibrozis dokusu (F) görülmektedir.	
Şekil 40: Hidrojel grubunda hematoksilin-eozin ile boyamada.....	49
Medulla spinalis (M) ve etrafındaki fibröz bantlar beyaz oklarla gösterilmiştir.	
Şekil 41: Hidrojel grubunda hematoksilin-eozin ile boyamada.....	50
Medulla spinalis (M) ve etrafındaki fibröz doku adezyonu beyaz oklarla gösterilmiştir.	
Şekil 42: Hidrojel ile Halofuginone grubunda Masson'un trikrom.....	51
boyası ile boyamada paravertebral kaslar (PK) ve Medulla spinalis (M) ile yeni kemik oluşumu üçgen ok ile gösterilmiştir.	
Şekil 43: Hidrojel ile Halofuginone grubunda Masson'un trikrom boyası.....	51
ile boyamada paravertebral kaslar (PK) ve fibrozis (F) varlığı gösterilmiştir.	
Şekil 44: Hidrojel ile Halofuginone grubunda Masson'un trikrom boyası.....	52
ile boyamada fibröz doku adezyonu beyaz oklarla gösterilmiştir.	
Şekil 45: Hidrojel ile Halofuginone grubunda Masson'un trikrom boyası.....	52
ile boyamada beyaz oklarla gösterilen damarlanmada artış ve kollajen fibriller (KF) gösterilmiştir.	
Şekil 46: Hidrojel ile Halofuginone grubunda hematoksilin-eozin.....	53
boyamada Medulla spinalis (M) etrafında ince kollajen fibriller beyaz oklarla gösterilmiştir.	
Şekil 47: Hidrojel ile Halofuginone grubunda hematoksilin-eozin.....	53
boyamada Medulla spinalis (M) etrafında kollajen fibriller beyaz oklarla gösterilmiştir.	
Şekil 48: Hidrojel ile Halofuginone grubunda hematoksilin-eozin.....	54
boyamada Medulla spinalis etrafında vaskülerize membranöz doku (*) ve kollajen fibriller beyaz oklarla gösterilmiştir.	
Şekil 49 Hidrojel ile Halofuginone grubunda hematoksilin-eozin.....	54
boyamada Medulla spinalis (M) etrafında kollajen fibriller beyaz oklarla gösterilmiştir.	

TABLOLAR

Sayfa

Tablo 1 Başarısız bel cerrahisi sendromu nedenlerinin zamana göre.....	17
Sınıflandırılması	
Tablo 2 Yara iyileşmesinde görevli büyüme faktörleri ve sitokinler.....	28
Tablo 2 Ölçülen fibrozis alanının gruplara göre dağılımı (mm ²).....	55
Tablo 4 Fibrozis alanlarının gruplara göre tanımlayıcı istatistikleri tablosu.....	55
Tablo 5 Kruskal-Wallis testi sonuçları.....	55
Tablo 6 Fibrozisin adezyon derecesinin gruplara göre dağılımı.....	56
Tablo 7 Grupların evrelere göre karşılaştırılması.....	56
Tablo 8 Ki-kare testi sonuçları.....	56
Tablo 9 Gruplar arası ki-kare testi sonuçları.....	57
Tablo 10 Evrelerin gruplara göre dağılımı.....	57

1. GİRİŞ

Hastaneye başvuru sebeplerinden ikinci sırada gelen bel ağrısı, toplumun en az %80'inin karşılaştığı, iş gücü kaybına sebep olan, yaşam kalitesini önemli derecede etkileyen, oldukça yüksek tedavi maliyeti ile de dikkat çeken önemli bir sağlık problemidir (42, 43). Bel ağrısının en sık sebeplerinden biri lomber disk hernisidir ve bunların %5-15'i cerrahi tedavi gerektirir (44-48). Spinal cerrahi sonrası bel ve bacak ağrısı gibi şikayetlerin devam etmesi ile tanımlanan başarısız bel cerrahisi sendromunun sıklığı %15'tir (19, 20, 40, 49).

Epidural fibrozis, başarısız bel cerrahisi sendromunun önemli sebeplerinden biridir. Nöral doku etrafında oluşan skar dokusunun neden olduğu hasar ve radiküler ağrı yaşam kalitesinde ciddi azalmaya, iş gücünde azalmaya analjezik kullanımında artmaya ve yeniden ameliyat olmaya kadar giden bir süreçte neden olabilmektedir. Ayrıca epidural fibrozis yeniden opere edilmesi gereken durumlarda komplikasyonlara yol açabilmekte ve dural yırtıkların meydana gelmesi, ameliyat süresinin uzaması ve enfeksiyon riskinin artması gibi durumlar ortaya çıkabilmektedir.

Epidural fibrozisin önlenmesinde birçok klinik ve deneysel çalışma yapılmıştır. Yağ grefti (50, 71), steroid (51), vikril meş (52, 60), fibrin yapıştırıcı (53, 54, 64), ADCON-L (55-59, 70), metil akrilat (61), ürokinaz (62), temozolamid (63), hiperbarik oksijen tedavisi (65), mitomycin-C (66-69), 5-fluorouracil (69, 70), siklosporin A (69), sodyum hyaluronat (72), gelfoam (73), gore-tex (74) ve buna benzer daha birçok madde ve yöntem kullanılmıştır. Fakat net bir sonuç elde edilememiştir.

Dichroa febrifuga bitkisinden elde edilen februfigin isimli alkaloidin analoğu olan Halofuginon veteriner hekimler tarafından antiprotozon ilaç olarak kullanılmaktadır. İn vivo ve in vitro çalışmalarda antifibrotik etkiye sahip olduğu birçok çalışma mevcuttur (21, 22). İlacın oral, sistemik veya topikal yoldan uygulanan bu ilacın tip 1 kollajen sentezini ve metalloproteinaz-2 sentezini azaltarak antifibrotik etkisi ortaya konulmuştur (31-33). Ayrıca anti-inflamatuvar, anti-tümöral, anti-metastatik, anti-anjiyojenik, anti-oksidan etkilerinin olduğu gösterilmiştir (23-29).

Çalışmamızda Halofuginon isimli ilacın cerrahi sahaya hidrojel içinde belirli bir dozda yerleştirilmesi ve 21 günlük sürede hidrojel içinde yavaş salınımlı etkisi olduğu varsayılarak lokal olarak antifibrotik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca hücre kültürü çalışmalarında ilacın sitotoksosite tayini yapılmış olup hidrojele yüklenmiştir. Literatür taramasında bu ilacın lokal olarak cerrahi sahaya uzun süreli maruziyeti ve antifibrotik etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışma olmadığı tespit edildi.

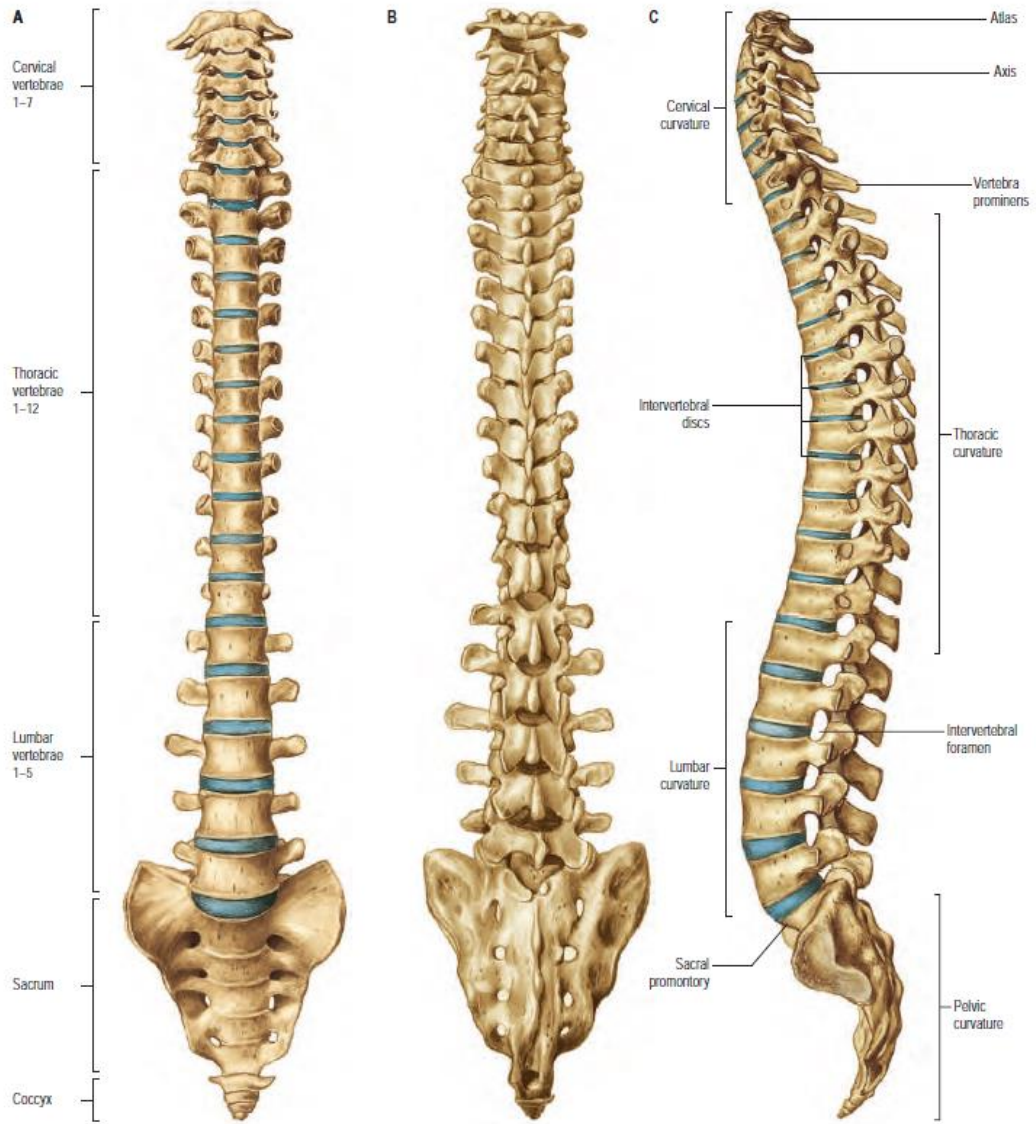


2. GENEL BİLGİLER

2.1. Omurga Anatomisi

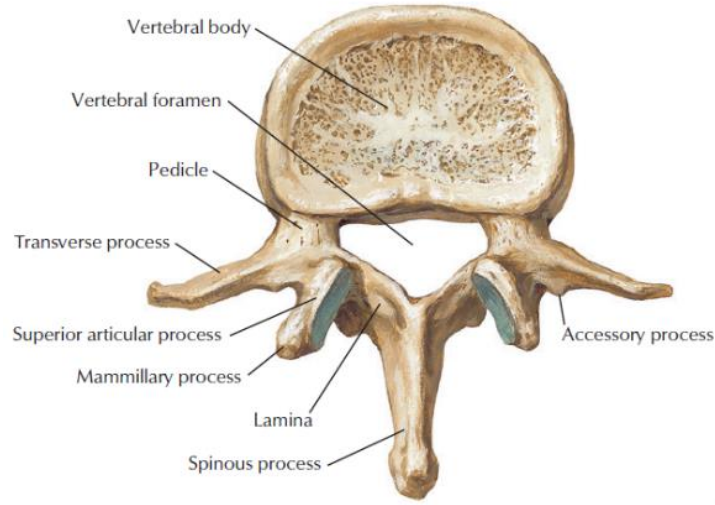
Vertebral kolon 7'si servikal, 12'si torakal, 5'i lomber, 5'i sakral ve 4'ü koksigeal toplam 33 vertebra'nın üst üste dizilmesiyle oluşmuş kavisli bir sütundur. İlk iki servikal segment hariç her presakral segment birbirinden fibrokartilaginöz yapıdaki intervertebral diskler aracılığıyla birbirinden ayrılır. Bu sütunun oluşturduğu vertebral kanalı spinal kord ve sinirler için koruyucu bir yapı oluşturur.

Vertebral kolonun başka bir görevi de başın, gövdenin ve iç organların ağırlığını taşımak, vücudun dik durmasını sağlamaktır. Aynı zamanda yaşam boyunca hematopoezisin önemli bir kısmı burada gerçekleşmektedir. Vertebral kanalın uzunluğu erkeklerde 70-76 cm, kadınlarda 60-65 cm civarlarındadır ve bu kemik sütunun uzunluğunun yaklaşık %25'ini *discus intervertebralis*'ler oluşturur. (1)

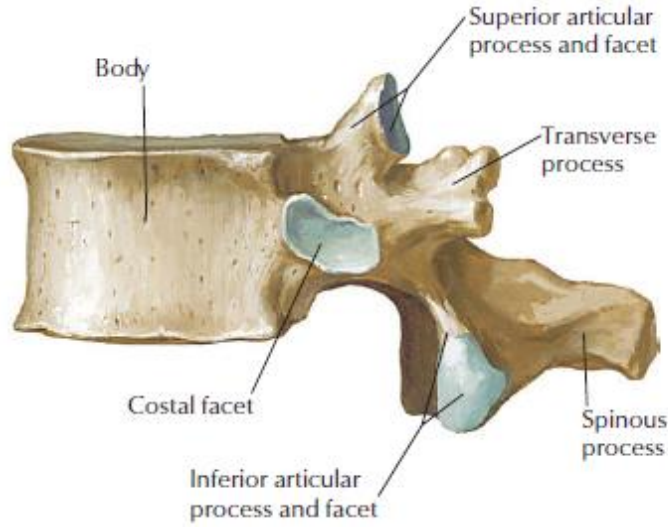


Şekil 2 Vertebral kolon A. Anterior görünüm B. Posterior görünüm C. Lateralden görünüm (2)

Vertebral kolonu oluşturan tipik bir vertebra iki bölümden oluşur: *Corpus vertebrae* ve *Arcus vertebrae*. *Corpus vertebrae* ön tarafta bulunur, kısa silindirik şeklindedir ve kenarları kompakt, geri kalan kısmı ise spongiöz kemik yapısındadır. Aralarında bulunan *discus intervertebralis*ler aracılığıyla komşu corpus ile eklem yaparlar. Kompakt kısımda besleyici damarların *corpus vertebrae*'ya ulaşmasını sağlayan *foramen nutricium*'lar mevcuttur. *Arcus vertebrae* ise arka tarafta bulunur, ince yapıdadır ve gövdeye tutanan kısım *pediculus arcus vertebrae*, daha arkadaki kısım ise *lamina arcus vertebrae* olarak adlandırılmaktadır.



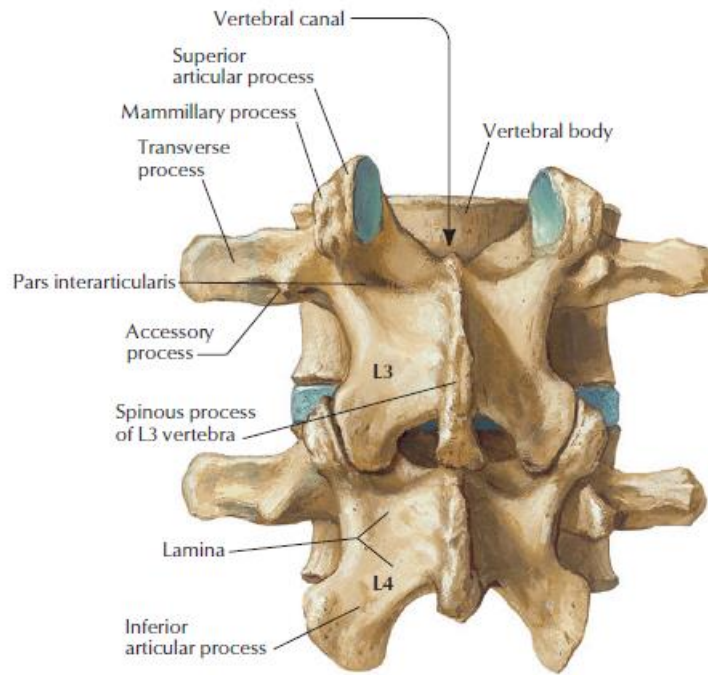
Şekil 3 L2 vertebra, superior görünüm (3)



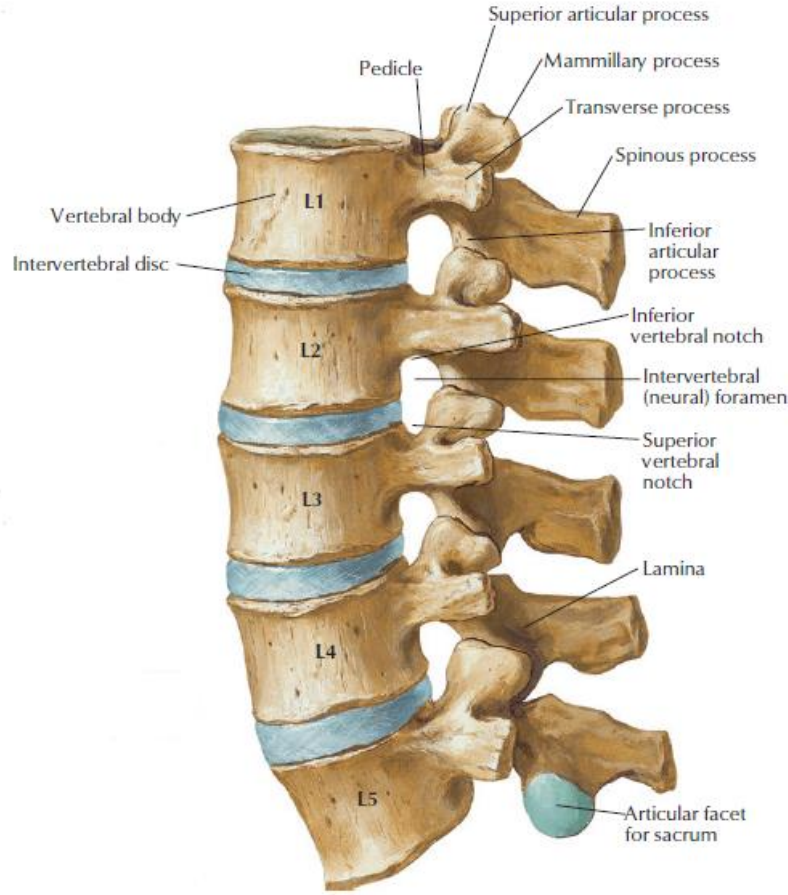
Şekil 4 T12 vertebranın lateralden görünümü (4)

Corpus vertebrae ve *arcus vertebrae* arasında *foramen vertebrale* adını alan yapı bulunur ve bunların üst üste dizilmesiyle *canalis vertebralis* oluşur. Bu kanal *medulla spinalis*'e ev sahipliği yapar, travmalara karşı korur. *Arcus vertebrae* üzerinde *processus articularis superior*, *processus articularis inferior*, *processus transversus* ve *processus spinosus* denilen çıkıntılar yer almaktadır. *Pedculus arcus vertebralis*'lerin hem üst hem alt yüzünde bulunan çentikler *insicura vertebralis*

superior ve *insicura vertebralis inferior* olarak adlandırılır. Bu çentikler omurların birbiriyle eklem yapması ile karşılıklı olarak bir delik halini alır ve *nervi spinales*'lerin geçtiği *foramen intervertebrae*'yi oluşturur. Lamina ve pedikülün birleştiği yerde, yukarıda *processus articularis superior* ve aşağıda *processus articularis inferior* birbiri ile sinoviyal tipteki *articulationes zygapophysiales*, diğer adıyla faset eklemleri oluşturmak için birleşir. Bu eklemlerin horizontal kısmı fleksiyonu kısıtlar, tam fleksiyonda ise *musculus erector spinae* kaslarının etkisi ortadan kalktığından gövdenin dengesini, stabilitesini bu eklemler sağlamaktadır. Eklem sagittal kısmı ise lomber vertebraların kombine rotasyon hareketini 10-15 dereceye kadar kısıtlamaktadır. (1, 5) *Processus transversus* adı verilen çıkıntılara ise omurganın stabilizasyonu, gövdenin dik durmasında görevli *musculus semispinalis*, *musculus longissimus*, *musculus iliocostalis*, *musculus multifidus* ve *musculus intertransversae* gibi erektör kaslar tutunmaktadır.



Şekil 5 L3 ve L4 vertebra, posterior görünüm (3)



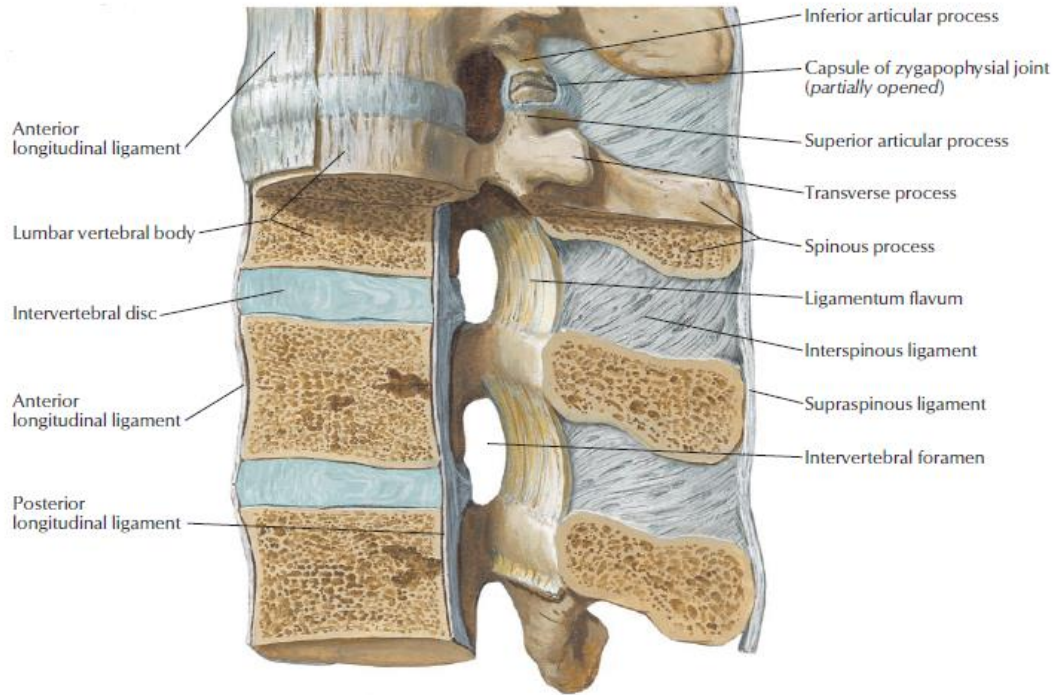
Şekil 6 Lomber vertebralar, sol lateral görünüm (3)

Omurganın stabilizasyonundaki bir diğer önemli anatomik faktör ise ligamentlerdir.
(5)

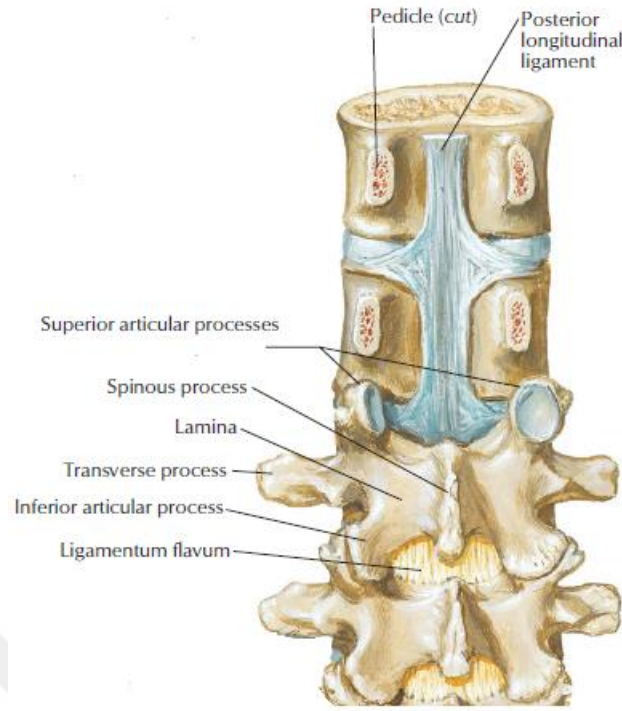
- Longitudinal ligamentler

- *Posterior longitudinal ligament* (PLL); oksipital kemiğin foramen magnumunun arka kenarından başlayıp sakruma tutunarak sonlanan, vertebral kanalın ön duvarı boyunca uzanan, duysal sinir sonlanmalarından zengin bir ligamenttir. Vertebranın uç plağı ve intervertebral diskin posterior bölümünde, anulus fibrozusun en dıştaki lamelleri ile karışarak kollajen liflerinden oluşan ince bir fibröz tabaka halinde yapışır. Ayrıca ventral internal venöz pleksus için osseomembranöz bir kompartman oluşturan niteliktedir.

- *Anterior longitudinal ligament (ALL)*; oksipital kemiğin faringeal tüberkülü ile atlastan başlayıp vertebral kolonun anterioru boyunca seyreden, sakrumun ön yüzüne tutunarak sonlanan, intervertebral disklere gevşek bir bağ dokusu ile tutunan bir ligamettir.
- *Ligamentum flavum*: Vertebral arkusları birbirine bağlayan, laminalar arasında yer alan, elastik liflerden oluştuğu için sarı renkte görünen ligamentlerdir.
- *İntertransversal, interspinöz ve supraspinöz ligamentler*



Şekil 7 Omurganın Ligamentleri (6)



Şekil 8 Ligamentum flavum (7)

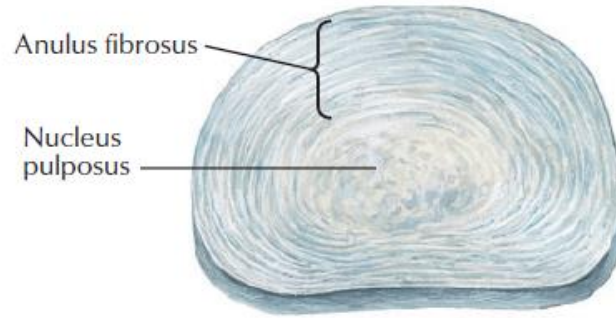
Discus intervertebralis iki *corpus vertebrae* arasında bulunan, C2 vertebradan sakruma kadar uzanan, toplamda 23 adet olan ve fibrokartilaginöz yapıda olması nedeniyle hareket sırasında oluşacak stresi baskılayan, yastık görevi gören bir dokudur.

- İntervertebral diskin ortasında bulunan *Nucleus pulposus* doğumda proteoglikan içeren bir jelatinöz matriks içindeki notokord hücre kalıntılarından oluşur, üçüncü yıldan sonra notokord hücreleri kaybolarak proteoglikan sentezleyen fibroblast ve kondrositler yer alır, beşinci yıldan sonra ise notokord hücreleri görülmez. Disk volümünün %40'ını oluşturur ve elastin lif ile tip 2 kollajenden zengindir. Erişkinlerde avasküler olması nedeniyle *anulus fibrozus* ve kıkırdak uç plaklar etrafındaki kapillerlerden difüzyon yolu ile beslenir.
- İntervertebral diskin etrafında ise daha sert yapıdaki *anulus fibrozus* konsantrik fibrokartilaginöz lamellerden oluşmaktadır. Dış tabakası neredeyse tamamen fibröz özellikte olup vertebra korpusuna “*Sharpey lifleri*” aracılığıyla, anterior

ve posterior longitudinal ligamentlere yapışmaktadır, iç tabakası ise kıkırdak uç plağın kollajen fibrilleri ile birleşmektedir.

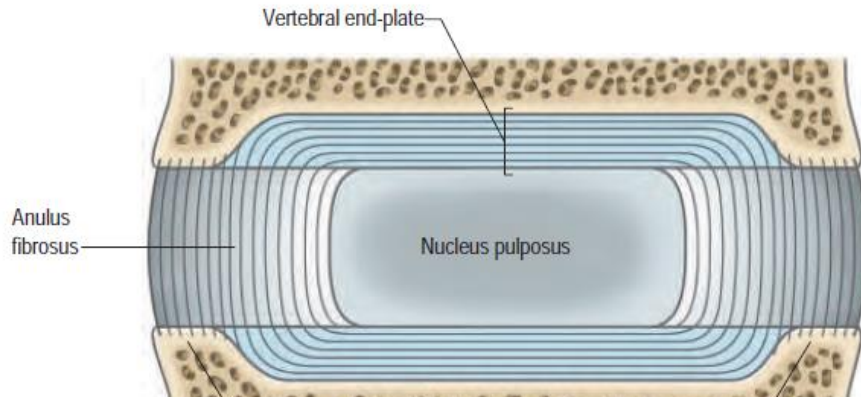
- Kıkırdak uç plaklar hyalin kıkırdak yapısındadır, altındaki kemik dokuya ince bir kalsifiye tabaka ile tutunur. Yaşla birlikte uç plakların büyüme zonu inceler, kemik doku ile yer değiştirir. (8)

Nucleus pulposus her bir vertebra korpusunun arasında yer aldığından *anulus fibrosus* da belirli bir gerilim altında tutar, vertebral kolona aksiyel bir yük geldiğinde anulus hafifçe bombeleşerek hareket esnasında oluşan stresin absorpsiyonunu, oluşan basıncın eşit ve dengeli dağıtılmasını, omurga hareketlerinin kontrollü olmasını sağlar.

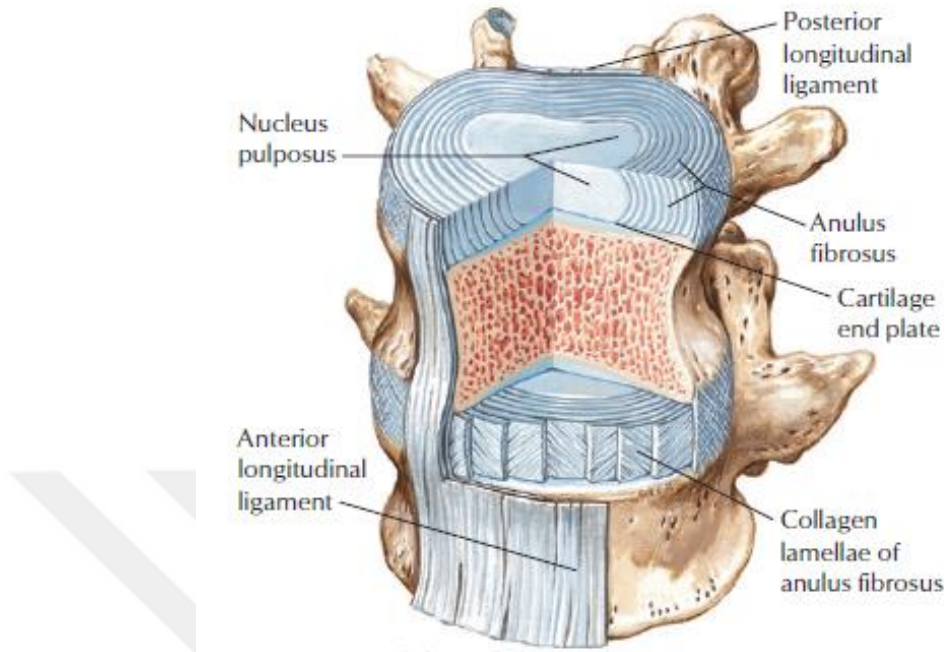


Intervertebral disc

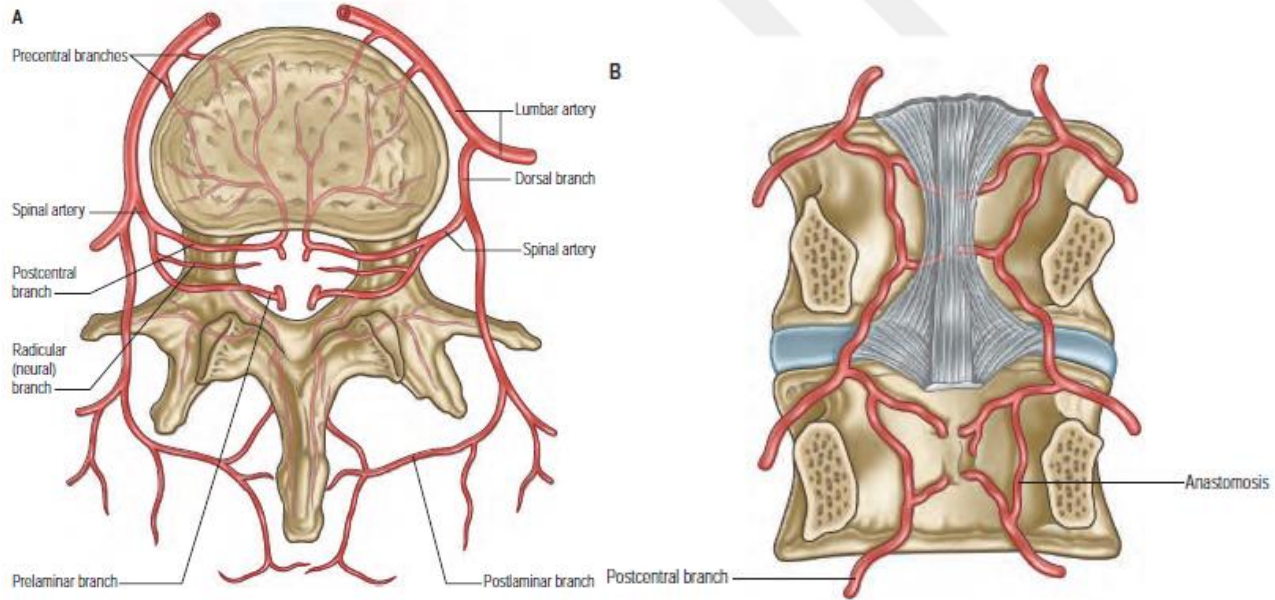
Şekil 8 İntervertebral disk (3)



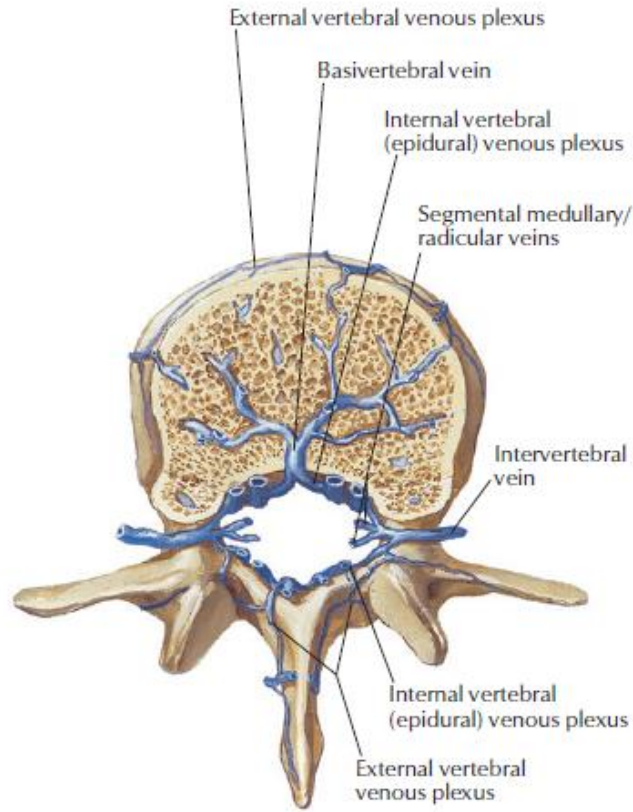
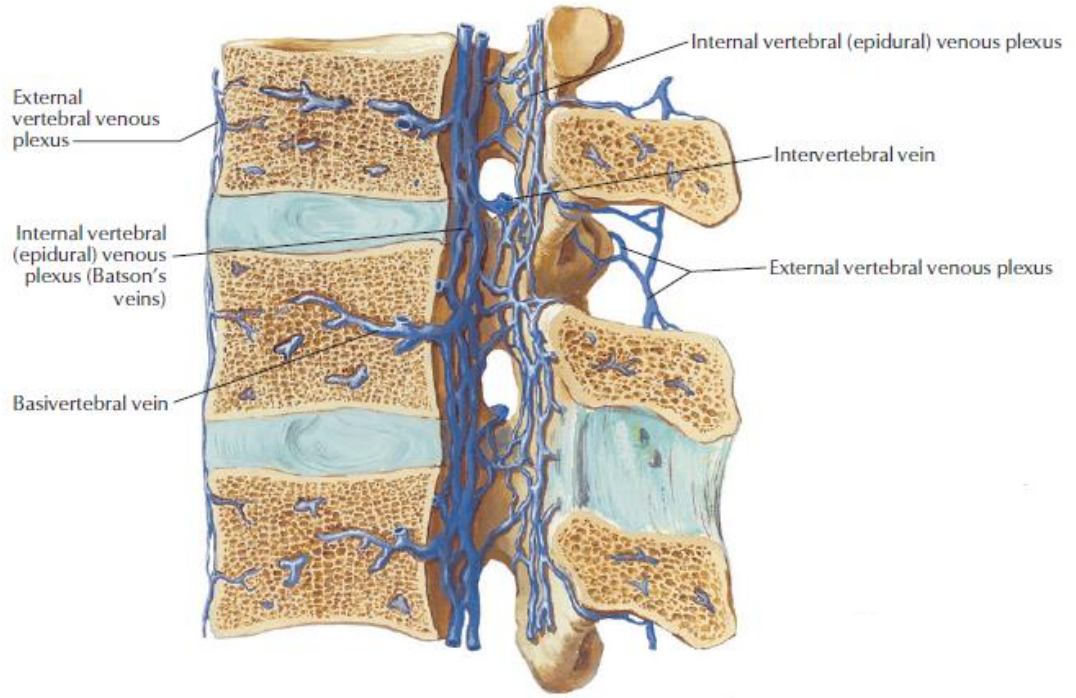
Şekil 9 İntervertebral disk, anulus fibrozus, nucleus pulposus, vertebral end plate, apofizer halka (9)



Şekil 10 İntervertebral disk ile omurga ligamentlerinin ilişkisi (6)



Şekil 11 Vertebraanın arteriyel dolaşımı (10)

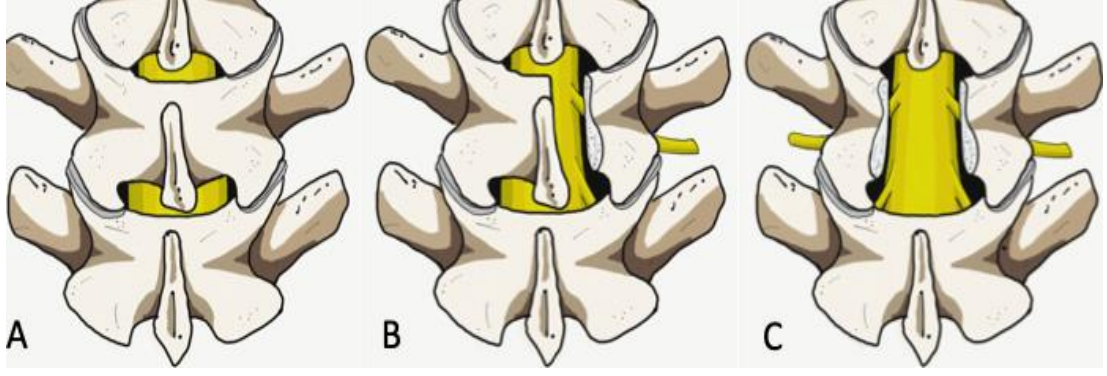


Şekil 12 Vertebraanın venöz dolaşımı (11)

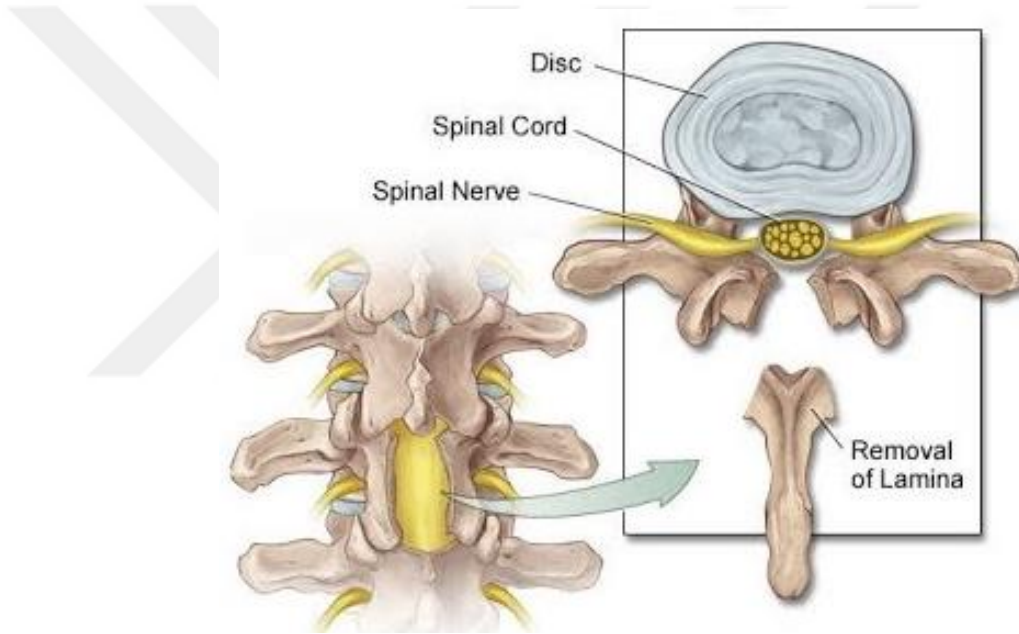
2.2. Lomber Bölge Cerrahisi – Laminektomi

Laminektomi işlemi spinal meninkslerin, spinal kordun, sinir köklerinin ve intraspinal lezyonların ortaya konulabilmesi için bir veya birden fazla laminanın parsiyel veya total olarak çıkarılması olarak Love ve ark. (12) tarafından tanımlanmıştır. Nöroşirurji pratiğinde spinal stenoz, intervertebral disk, primer veya sekonder spinal tümörler, vasküler malformasyonlar, enfeksiyonlar (peridural apse), spinal kanalı tehlikeye atan kırık ve hematoma gibi durumlarda sık uygulanan cerrahi bir prosedürdür.

Laminektomide geleneksel açık yaklaşımda ilk adım, uygun pozisyon verilen hastaya ilgili bölgeye orta hattan yapılan cilt ve cilt altı dokuların insizyonu ile başlar. Spinöz prosesler kolayca palpe edilene kadar dorsal fasyaya doğru ilerlenir. Dorsolomber fasyanın ve supraspinöz ligamentin orta hattan insizyonu ile devam edilir. Kanamayı azaltmak ve post operatif kas atrofisini engellemek adına kasların periost ile diseksiyonu önemlidir. Paravertebral kaslar ve ligamentler subperiostal olarak spinöz proseslerden laminalara doğru ve faset eklemlerin lateral laminar sınırı görülene kadar sıyrılır. Arteriyel kanama olmadığı sürece spinöz proseslerden ve laminalardan ayrılmış olan kaslardan olan kanamayı durdurmak için gazlı bez ile tampon yapmak yeterli olur. Ardından yumuşak dokular faset eklemlere kadar lateralize edilip ekartör konulur. Ligamentum flavum üst laminadan diseke edilerek kemik çıkarma yani laminektomi aşamasına gelinir. (12, 13) Kerrison Rongeurs ve/veya yüksek hızlı drill ile spinöz prosesler ve dorsal lamina eksize edilir. Laminektomi esnasında instabilite riskini azaltmak adına pars interarticularis ile faset eklemin %50'sinden fazlasının zarar görmemesine dikkat edilmelidir. Dural kese, inen ve çıkan sinir köklerinin görülmesiyle dekompresyon işlemi tamamlanır.



Şekil 13 A) Normal posterior vertebral ark B) Hemilaminektomi C) Laminektomi (14)



Şekil 14 Laminektomi

Laminektomi tek taraflı laminotomi ile karşılaştırıldığında ve geniş posterior laminektomi uygulanan vakalarda cerrahi olarak indüklenen spinal instabilitenin gösterildiği çalışmalar mevcuttur. (15, 16). Bu yüzden füzyon teknikleri uygulanmadan spinal instabilitesi olan vakalarda kontraendikedir. Şiddetli kifoz, skolyoz, dejeneratif spondilolistezis gibi durumlarda ise rölatif kontraendikedir.

Düşük komplikasyon riski dolayısıyla laminektomi işlemi güvenli bir prosedür sayılabilir. En sık görülen komplikasyonları dural kesenin yırtılması, sinir köklerinin ve omuriliğin hasarlanmasıdır. Yaşlı hastalarda duralın fragil olması nedeniyle dural yaralanmalar daha sık görülür. Ayrıca yapılan çalışmalarda dural yırtık oranının kompresyon şiddeti ile arttığı ve en yaygın risk faktörünün skar, epidural fibrozis gibi nedenlerle yeniden opere edilen vakalarda görüldüğü rapor edilmiştir. (17) Dural yaralanma sonrası BOS sızıntısı hastalarda baş dönmesi, ortostatik baş ağrısı, mide bulantısı gibi durumlara yol açabilir. Semptomları hafifletmek için yatak istirahati, kafein veya asetazolamid içeren ilaçlar kullanılabilir. Doğrudan dura onarımı veya dural yama ile cerrahi olarak müdahale edilebilir. Ayrıca yara yeri enfeksiyonu ve yara yeri dehissansı da göz önünde bulundurulması gereken diğer komplikasyonlardandır.

2.3. Başarısız Bel Cerrahisi Sendromu

Bel ağrısı toplumun %80'inin hayatında en az bir defa karşılaştığı, hastaneye başvuruların önemli bir kısmını oluşturan, yaşam kalitesini düşüren, iş gücü kaybına neden olan önemli bir sağlık problemidir. Lomber disk hernileri genellikle geçmeyen bel ağrılarının en sık nedenidir, medikal ve/veya cerrahi tedavi gerektirirler.

Başarısız bel cerrahisi sendromu (BBCS), diğer adıyla postlaminektomi sendromu spinal cerrahi sonrası bel, bacak ağrısı gibi yakınmaları devam eden veya tekrarlayan heterojen hasta grubunu tanımlamaktadır. Nöroşirurji kliniklerinde sık uygulanan lomber laminektomi operasyonu için doğru hasta grubu, doğru tanı ve endikasyon gerekir. Başarılı bir spinal cerrahi için hastanın ve cerrahın beklentilerinin karşılanması, hastanın ağrılarının ve eşlik eden yakınmalarının belirgin olarak azalması, fonksiyonelliğin yeniden sağlanması, yaşam kalitesinin artırılması, işe geri dönüşün sağlanması, ilaç kullanımının azaltılması ve hatta kesilmesi gibi durumlar söz konusudur.

Spinal cerrahi sonrası vakaların yaklaşık %20-40'ının olumsuz sonuçlandığı ve bu vakaların da %1-10'unun eskisinden daha kötü hale geldiği belirtilmektedir (18).

Başarısız bel cerrahisi sendromunun sıklığı %15 civarındadır (19, 20) Yakınmaların ortaya çıkış zamanına göre çok erken dönem, erken dönem, orta dönem ve geç dönem olarak sınıflandırılabilir (Tablo 2).

En sık nedeni foraminal stenozdur ve bunu psödoartroz, tekrarlayan disk herniasyonu, iyatrojenik instabilite, yetersiz dekompresyon, yanlış mesafeye cerrahi uygulanması, yetersiz diskektomi, bası yapan fragmanın tam çıkarılamaması, sinir kökünün yaralanması, yetersiz füzyon, enfeksiyon, araknoidit, epidural fibrozis izler.

Başarısız bel cerrahisi sendromunda en önemli unsur, en iyi tedavi bu duruma yol açmamaktır. Preoperatif dönemde detaylı anamnez, klinik muayene ve görüntüleme yöntemlerinin birbiriyle uyumlu olması bu sendromun meydana gelme olasılığını azaltmaktadır.

1-Çok erken dönem (yakınmaları hiç geçmemiş)

- A-Hasta beklentisinin yüksek olması
- B-Yanlış tanı (tümör, enfeksiyon, osteomyelit, metabolik hastalık vb)
- C-Yanlış hasta seçimi
- D-Cerrahi teknik hatalar (yanlış seviye veya taraf ameliyatı, yetersiz dekompresyon vb)

2-Erken dönem (birkaç gün veya hafta içinde tekrarlayan ağrı)

- A-Yanlış hasta seçimi
- B-Cerrahi komplikasyonlar (enfeksiyon, psödomeningosel vb)
- C-Tekrarlayan disk herniasyonu
- D-Bel kaslarında güçsüzlük

3- Orta dönem (birkaç hafta veya ay içinde tekrarlayan ağrı)

- A-Tekrarlayan disk herniasyonu
- B-Dura ve sinir kökü çevresinde postoperatif skar dokusu (epidural fibrozis) oluşması
- C-Psödoartroz
- D-Araknoidit

4-Geç dönem (aylar veya yıllar içinde tekrarlayan ağrı)

- A-Disk herniasyonu
- B-Yeni seviyelerde stenoz veya rekürren stenoz
- C-İnstabilite
- D-Sekonder kazanç

Tablo 3 Başarısız bel cerrahisi sendromu nedenlerinin zamana göre sınıflandırılması

2.4. İnflamasyon

İnflamasyon, vaskülarize dokuların enfeksiyonlara ve doku hasarına tepkisidir. Sorun yaratan uyarana karşı dolaşımdan hücreleri ve konak savunma moleküllerini ihtiyaç duyulan bölgelere getirir. Zararlı bir tepki gibi görünse de aslında inflamasyon hayatta kalmak için gerekli olan koruyucu bir tepkidir. Savunma mediyatörleri fagositik lökositleri, antikorları ve kompleman proteinlerini içerir. Bunların çoğu normalde kanda dolaşır, normal dokulara zarar vermezler. Fakat tehdit anında ilgili bölgeye hızla toplanabilirler, tetikte beklerler.

İnflamasyon olmadan, enfeksiyonlar kontrol edilemez, yaralar asla iyileşmez ve yaralanan dokular kalıcı iltihaplı yaralar olarak kalabilir.

Tipik bir inflamasyon cevabındaki adımlar şu şekildedir;

- Ekstravasküler alandaki yabancı, rahatsız edici ajan, nekrotik doku konak hücreleri ve moleküller tarafından tanınır.
- Lökositler ve plazma proteinleri, dolaşımdan ilgili bölgeye getirilir.
- Lökositler ve proteinler aktive edilir ve yabancı ajanı ortadan kaldırmak, yok etmek için birlikte çalışırlar.
- Reaksiyon kontrol altına alınır ve sonlandırılır.
- Hasarlı doku iyileştirilir.

İnflamasyonun kardinal belirtileri olarak da adlandırılan ana belirtileri ısı (Latince calor), kızarıklık (rubor), şişlik (tumor), ağrı (dolor) ve fonksiyon kaybıdır (functio laesa). Bu belirtilerin ilk dördü 2000 yıldan daha uzun bir süre önce ünlü De Medicina metninin yazarı Celcus adında Romalı ansiklopedi yazarı tarafından tanımlanmıştır. Beşinci belirti ise 19. yüzyılın sonlarında “modern patolojinin babası” olarak bilinen Rudolf Virchow tarafından eklenmiştir. Bu belirtiler vasküler değişiklikler ile lökositlerin toplanması ve aktivasyonunun sonuçları olarak ortaya çıkar.

İnflamasyonun nedenleri;

- Enfeksiyonlar (bakteriyel, viral, fungal, parazitik) ve mikrobiyal toksinler.
- Doku nekrozu hücre ölümü nedenine bakılmaksızın inflamasyona neden olur.
- Yabancı cisimler (kıymık, kir, sutureler) ya kendileri ya da travmatik doku hasarına yol açtıkları için ya da mikrop taşıdıkları için inflamasyona neden olabilirler.
- İmmun reaksiyonlar (hipersensitivite)

İnflamasyon akut ve kronik olmak üzere iki başlık altında incelenir.

2.4.1 Akut inflamasyon

Enfeksiyona ve doku hasarına karşı ilk ve hızlı cevap akut inflamasyon olarak adlandırılır. Dakikalar ve saatler içerisinde gelişir, kısa sürelidir, birkaç saat veya birkaç gün sürer. Sıvı ve plazma proteinlerinin (ödem) eksudasyonu ve özellikle nötrofiller (polimorfonükleer lökosit) olmak üzere lökositlerin göçüdür. Akut inflamasyon, patojenleri ortadan kaldırma amacına ulaştığında, reaksiyon azalır ve rezidü yaralanma onarılır. Fakat ilk tepki uyarını temizleyemezse, reaksiyon kronik inflamasyona ilerler. Kronik inflamasyon akut inflamasyonu takip edebilir veya de novo ortaya çıkabilir. Daha uzun sürelidir. Daha fazla doku yıkımı, lenfosit ve makrofajların varlığı, kan damarlarının proliferasyonu ve fibrozis ile ilişkilidir.

Akut inflamasyonun üç ana komponenti vardır:

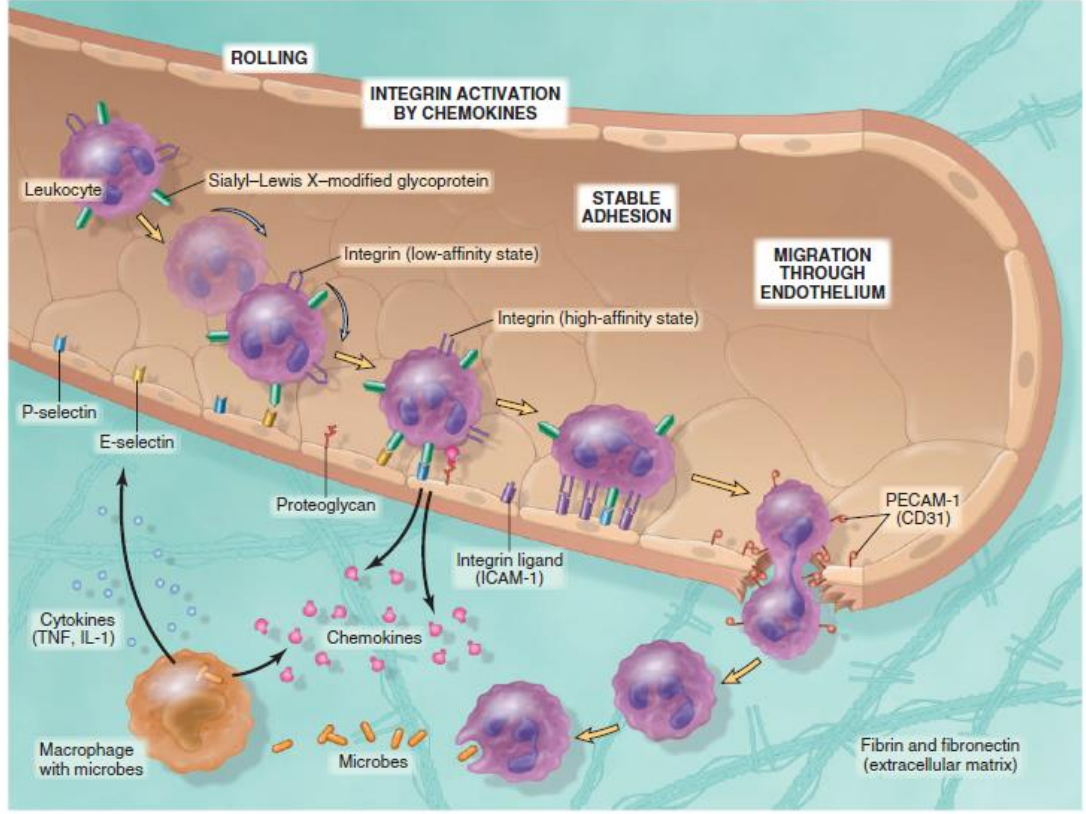
- 1) Kan akımının artması için küçük damarlarda, özellikle histaminin rol aldığı, *vazodilatasyon*,
- 2) Plazma proteinlerinin ve lökositlerin dolaşımdan dokuya geçebilmesi için *vasküler geçirgenliğin artması*,
- 3) Mikrosirkülasyondan lökositlerin ve plazma proteinlerinin yaralanma odağına getirilmesi (*transmigrasyon*) ve suçlu ajanı ortadan kaldırmak için *aktive edilmesi*.

Vasküler sistemden sıvıların, proteinlerin ve kan hücrelerinin interstisyel dokulara veya vücut boşluklarına kaçıışı ile oluşan *eksuda*, yüksek protein konsantrasyonuna sahip ve hücrel artıklar içeren ekstravasküler bir sıvıdır. Varlığı, tipik olarak bir inflamatuvar reaksiyon sırasında küçük kan damarlarının geçirgenliğinde bir artış olduğu anlamına gelir.

Transuda ise düşük protein içeriğine sahip, hücrel materyalin çok az olduğu veya hiç olmadığı, düşük özgül ağırlığa sahip bir sıvıdır. Aslında, normal vasküler geçirgenliğe sahip damarlar arasında ozmotik veya hidrostatik dengesizliğin bir sonucu olarak üretilen kan plazmasının bir ultrafiltratıdır.

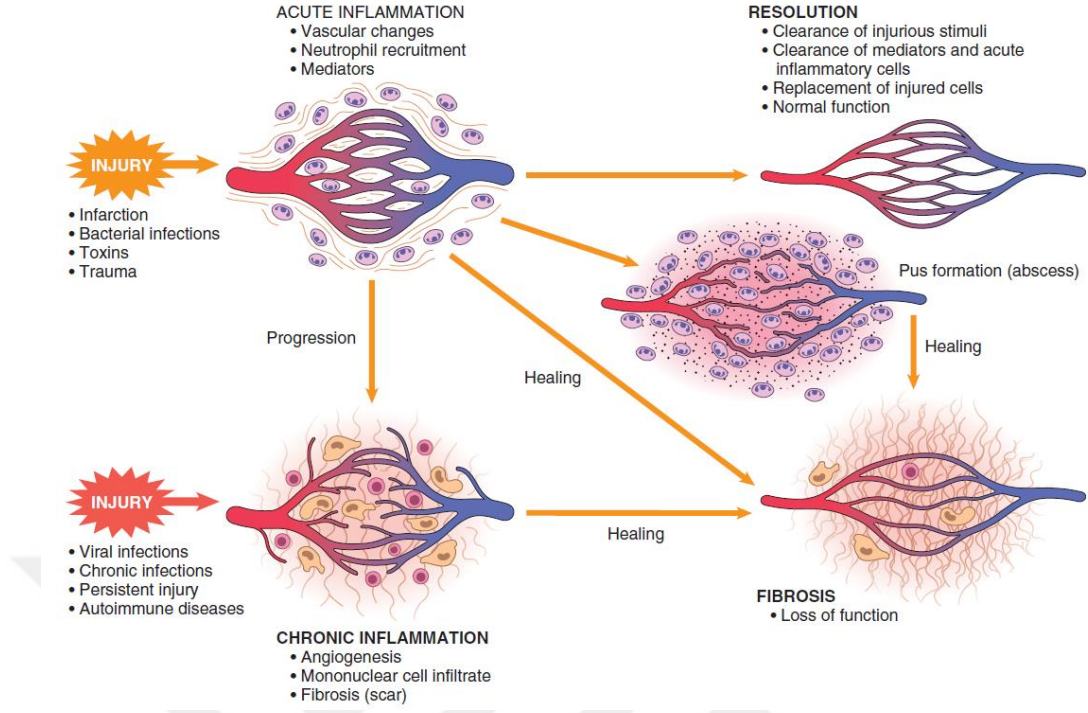
Ödem, interstisyel dokuda veya seröz boşluklarda fazla sıvı olduğunu gösterir; eksuda veya transuda olabilir. *Pürülan* bir eksuda olan *iltihap*, lökositler (çoğunlukla nötrofiller), ölü hücrelerin kalıntıları ve çoğunlukla mikroplar açısından zengin inflamatuvar bir eksudadır.

Tipik inflamatuvar reaksiyonlardaki en önemli lökositler, fagositoz yapabilen nötrofiller ve makrofajlardır. Nötrofiller kemik iliğinde üretilir ve hızla iltihaplanma bölgelerine alınır. Makrofajlar ise daha yavaş yanıt verirler. Bu lökositler, bakteri ve diğer mikropların yanı sıra nekrotik doku ve yabancı maddeleri alır ve yok eder. Makrofajlar ayrıca onarıma yardımcı olan büyüme faktörleri üretir.



Şekil 15 Lökositlerin damar lümeninden dokuya geçişi, adezyon molekülleri ile sitokinlerin aracılık ve kontrol ettiği çok aşamalı süreç (82)

Akut inflamasyonun çoğu formunda, nötrofiller, ilk 6 ila 24 saat boyunca inflamatuvar infiltratta baskındır ve 24 ila 48 saat içinde kademeli olarak monosit türevli makrofajlar ile değiştirilir. Makrofajlar sadece daha uzun süre hayatta kalmakla kalmaz, aynı zamanda dokularda çoğalabilir ve böylece uzun süreli inflamatuvar reaksiyonlarda baskın popülasyon haline gelirler.



Şekil 16 Akut inflamasyonun sonuçları: rezolusyon, fibrozis ile iyileşme veya kronik inflamasyon (82)

Akut inflamasyonun sonuçları:

- 1) **Rezolusyon:** Tüm inflamatuvar reaksiyonlar, suçlu ajanı ortadan kaldırmayı başardıktan sonra, akut inflamasyon bölgesinin normale dönmesiyle sona ermelidir. Hasar sınırlı veya kısa ömürlü olduğunda, çok az doku tahribatı olduğunda ve hasarlı parankimal hücreler yenilenebildiğinde olağan sonuçtur. Rezolusyon, makrofajlar tarafından hücre kalıntıları ve mikropların uzaklaştırılmasını ve lenfatikler tarafından ödem sıvısının emilmesini içerir.
- 2) **Bağ dokusu replasmanı (yara izi veya fibroz) ile iyileşme:** Bu, önemli doku tahribatından sonra, inflamatuvar yaralanma, yenilenemeyen dokuları içerdiğinde veya dokuda veya yeterince temizlenemeyen seröz boşluklarda bol miktarda fibrin eksudasyonu olduğunda ortaya çıkar. Tüm bu durumlarda bağ dokusu, hasar veya eksuda alanına doğru büyür ve onu bir fibröz doku kütesine dönüştürür.

- 3) Kronik inflamasyona yanıtın ilerlemesi: Zararlı ajan kalıcı olduğunda veya normal iyileşme sürecinde aksaklık olduğu takdirde akut inflamatuvar yanıt tam olarak çözülemez. Akut inflamasyon kronikleşir.

2.4.2 Kronik inflamasyon

Kronik inflamasyon, çözülmemiş akut inflamasyonu takip eden veya de novo başlayan, kalıcı uyaranlara karşı uzun süreli (haftalar veya aylar) bir konak yanıtıdır. İnflamasyon, doku hasarı, skar ile onarım ve immün yanıt ile karakterizedir. Makrofajlar, lenfositler, plazma hücreleri, eozinofiller, mast hücreleri ve diğer lökositler kronik inflamasyonda görev alırlar.

Makrofajlar ve lenfositler (özellikle T lenfositler) tarafından üretilen sitokinler (TNF, IL-1, kemokinler ve diğerleri) ve eikosanoidler kronik inflamasyonda rol oynamaktadır. Bu hücreler arasındaki çift yönlü etkileşimler, inflamatuvar reaksiyonu büyütme ve uzatma eğilimindedir. İnflamatuvar reaksiyonların başlatılması, yayılması ve sınırlandırılmasında önemli rol oynar.

Persistan enfeksiyonlar (mikobakteriler, belirli virüsle mantarlar, parazitler), aşırı duyarlılık hastalıkları ve eksojen veya endojen toksik ajanlara uzun süre maruz kalmak kronik inflamasyon nedenleridir.

Kronik inflamasyonda inflamatuvar hücreler tarafından indüklenen doku yıkımının ardından anjiyogenez (küçük kan damarlarının çoğalması) başlar ve özellikle fibrozis ile gerçekleştirilen hasarlı dokunun bağ dokusunun değiştirilmesiyle iyileşme yoluna gidilir.

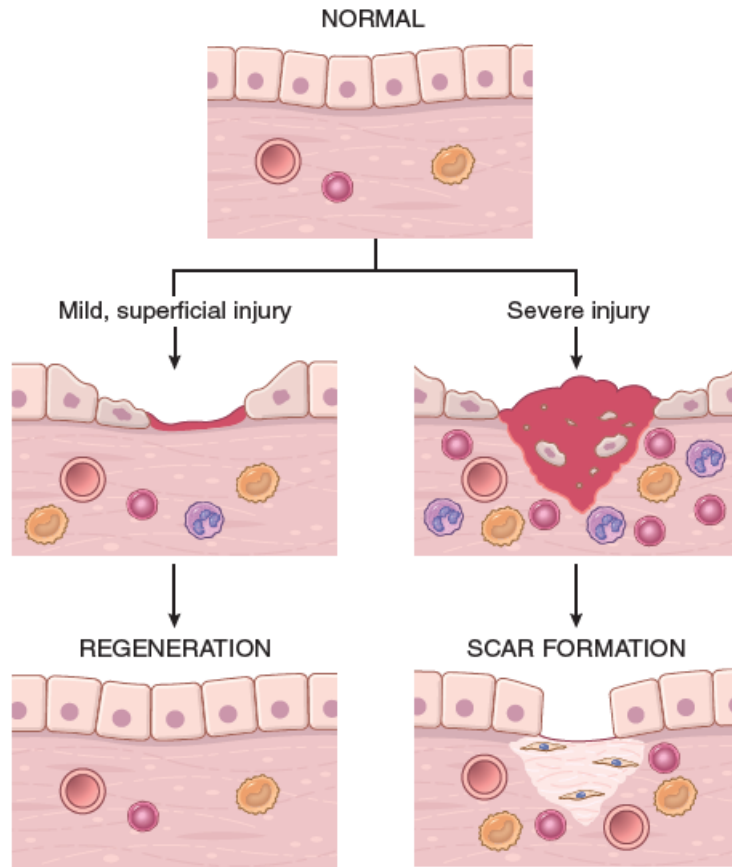
2.4.3 Doku onarımı

Nedeni ne olursa olsun meydana gelen inflamasyonun oluşturduğu hasarın onarılması organizma için kritiktir. İnflamasyon nedeni ortadan kaldırmakla beraber onarım sürecini de başlatır.

Hasarlı dokuların onarımı iki yoldan gerçekleşir:

- 1) Rejenerasyon
- 2) Skar formasyonu

Yaralanma sonrası hem rejenerasyon hem de skar formasyonu değişen derecelerde iyileşmeye, onarıma katkıda bulunmaktadır. Her iki süreç de hücre proliferasyonunu, ekstraselüler matriks (ECM) ve hücreler arasındaki yakın etkileşimleri içermektedir.



Şekil 17 Doku onarım mekanizmaları: rejenerasyon ve skar oluşumu (82)

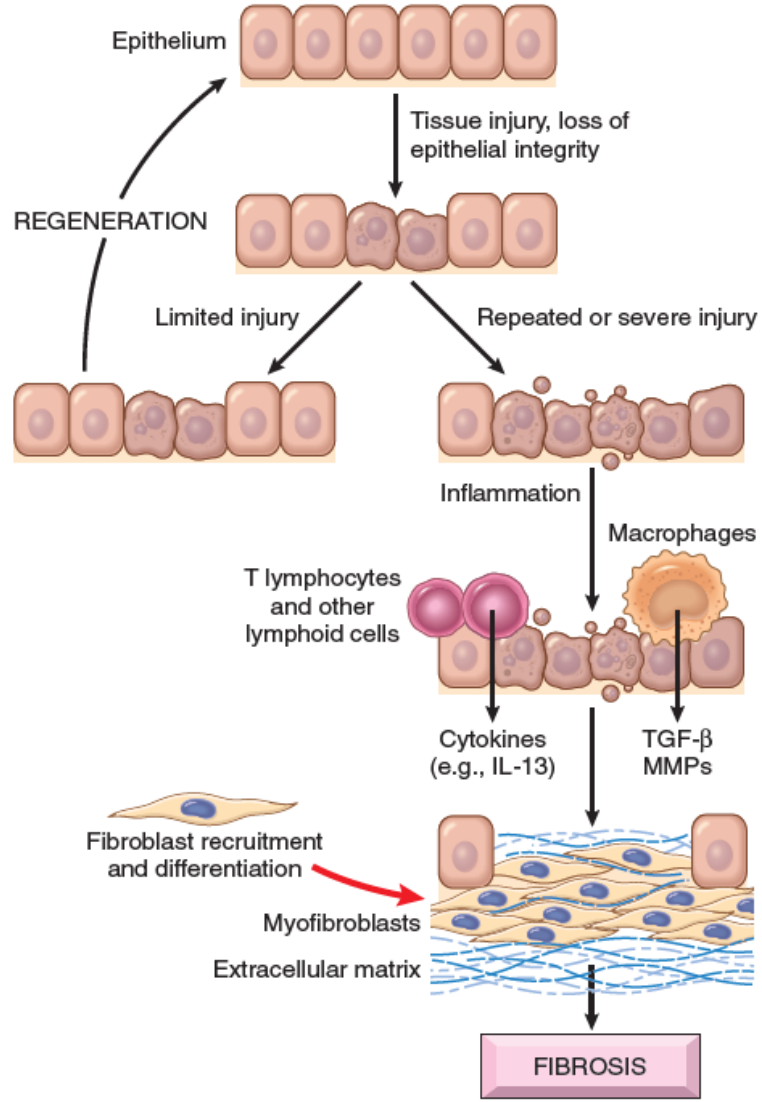
2.4.4 Rejenerasyon

Dokudaki kök hücrelerinin çoğalmasıyla veya proliferasyon yeteneğine sahip yaralanmamış hücrelerin çoğalmasıyla meydana gelen doku iyileşmesine rejenerasyon denir. Memelilerde hasarlı dokuların ve organların yenilenme kapasitesi sınırlıdır ve çoğu dokunun yalnızca bazı bileşenleri kendilerini tamamen yenileyebilir. Sürekli bölünebilen, kendini yenileyebilen hücreler *labil hücreler* (deri, mukoza, hematopoietik doku gibi); çoğalma yeteneğine sahip fakat doku kaybı veya yaralanma sırasında bölünebilen hücreler *stabil hücreler* (karaciğer, böbrek, pankreas gibi parankimal organlar, epitel hücreleri, fibroblastlar, düz kas hücreleri); bölünmeyen hücreler *permanent hücreler* (nöronlar, iskelet ve kalp kası) olarak adlandırılmaktadır.

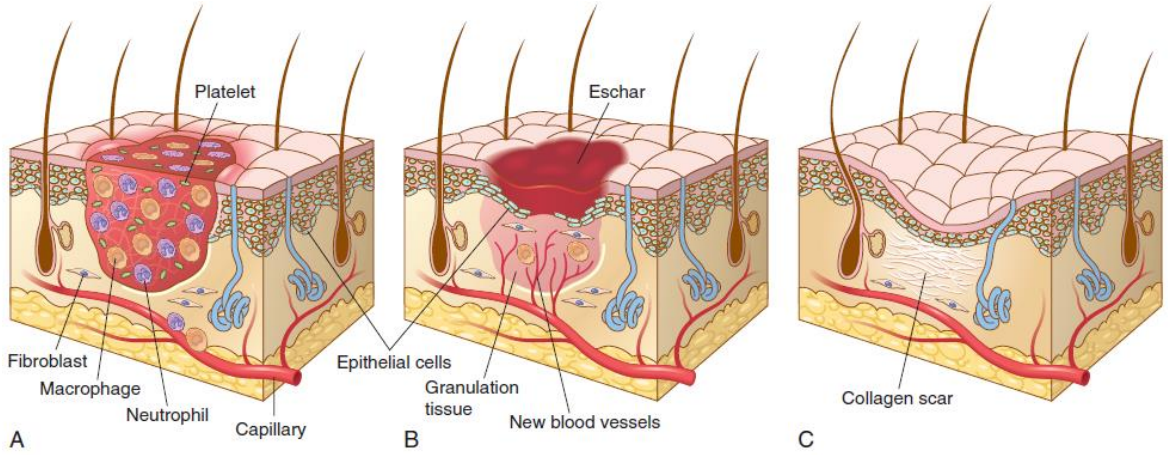
Yaralı hücrelerin ve dokuların rejenerasyonu, büyüme faktörleri tarafından yönlendirilen, büyük oranda ekstraselüler matriksin bütünlüğüne ve kök hücrelerden olgun hücrelerin gelişmesine bağlı olarak hücre proliferasyonunu içerir. Doku onarımı sırasında birkaç hücre tipi çoğalır. Bunlar normal dokuyu düzeltmeye çalışan yaralanmış doku kalıntılarından, onarım süreci için gerekli olan besinleri sağlayan yeni kan damarları oluşturmak için vasküler endotelial hücrelerden ve rejenerasyon ile düzeltilemeyen dokuları skar ile doldurmak için fibröz dokunun kaynağı olan fibroblastlardan oluşur.

2.4.5 Skar (fibrozis) ile onarım

Yaralanan dokular rejenerasyon yapamıyorsa, hasar şiddetli veya kronikse veya dokunun destekleyici yapıları, ana çatısı hasar görmüşse, rejenerasyonu tamamlayamıyorsa bağ dokusunun birikmesi ve skar oluşumu ile onarım gerçekleşir. Skarla onarımdaki temel adımlar; pıhtı oluşumu, inflamasyon, anjiyogenez ve granülasyon dokusu oluşumu, fibroblastların göçü ve proliferasyonu, kollajen sentezi ve bağ dokusunun yeniden şekillenmesidir.



Şekil 18 Fibrozis mekanizmaları (82)



Şekil 19 Skar oluşumu ile onarım adımları (A) Hemostatik tıkaç ve inflamasyon. (B) Epitel hücrelerinin çoğalması; anjiyogenez, çoğalan fibroblastlar ile granülasyon dokusunun oluşumu. (C) Fibröz skar oluşturmak için yeniden şekillenme. (82)

Yaralanmadan birkaç dakika sonra, kanamayı durduran ve inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu için zemin hazırlayan trombositler hemostatik bir tıkaç oluşturur. Ardından kompleman aktivasyon yıkım ürünleri, aktive trombositlerden salınan kemokinler ve diğer araçlar tarafından 6 ile 48 saat boyunca nötrofilleri ve monositleri yaralanma bölgesine getirilirler.

10 gün kadar epitel hücreleri yarayı kapatmak için göç ederler. Endotelial ve diğer vasküler hücreler, mevcut damarlardan yeni kan damarlarının gelişme süreci olan *anjiogenez* için çoğalırlar. Fibroblastlar çoğalarak yaralanma bölgesine göç ederler ve yaralanmadan sonraki 3.-5. günlerde kollajen sentezi başlar. Çoğalan fibroblastlar, gevşek bağ dokusu, yeni kan damarları ve dağınık inflamatuvar hücrelerin kombinasyonu ile pembe renkte, yumuşak ve düşük dirençli *granülasyon dokusunu* oluşturur. Fibroblastların oluşturduğu bağ dokusu yeniden şekillenme (*remodeling*) sürecine 2 ile 3 hafta sonra başlar, aylar veya yıllar sürebilir. Kollajenin çapraz bağlanması ve kollajen liflerinin boyutunun artmasıyla yaranın gücü artar. Onarımın erken döneminde tip III kollajen yerini daha esnek tip I kollajene bırakır. Zamanla bağ dokusu bozulur ve yara izi küçülür. Kollajenlerin ve diğer ekstraselüler matriks bileşenlerinin bozunması, yara izinin boyutu ve doğası metal iyonu içeren metalloproteinazlar (MMP) ve doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP) arasındaki denge ile sağlanır. Bu enzimler fibroblastlar, makrofajlar, nötrofiller, sinovyal hücreler ve bazı epitel hücrelerinde yapılır, enzimin yapımı ve salgılanması büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından düzenlenir.

2.5 Yara iyileşmesi

Yara iyileşmesi primer ve sekonder iyileşme olarak sınıflandırılır. Primer yara iyileşmesi, düzgün cerrahi insizyonlardan sonra görülen minimal skar ile epitel rejenerasyonunu içerir. Sekonder yara iyileşmesinde ise daha büyük yaralarda rejenerasyon ve skarla iyileşme birlikte görülür. İyi dikilmiş cilt yaralarında, yara direnci 3 ayda normal cildin %70 ila %80'ine geri gelebilir.

• Epidermal Büyüme Faktörü (EGF): Bazı epitel ve fibroblastlar için mitojeniktir.
• Platelet Türevi Büyüme Faktörü (PDGF): Fibroblast, düz kas hücresi ve monosit göçü artışını indükler.
• Fibroblast büyüme faktörleri (FGFs): Endotel hücrelerinin proliferasyonunu uyararak anjiogenezisin tüm basamaklarında görev alır, ayrıca makrofajların ve fibroblastların yaralanma bölgesine göçünü sağlar.
• TGF-β: Bağ dokusu proteinlerinin sentezi ve birikimi için en önemli sitokindir, fibroblast göçünü ve proliferasyonunu uyarır, kollajen ve fibronektin sentezini artırır ve metalloproteinazları inhibe ederek ekstraselüler matriksin bozulmasını azaltır.
• Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF): Hücre dışı matrikse plazma proteinlerinin (fibrinojen gibi) birikimini, anjiogenezisi uyarır. Fibroblast ve endotel hücrelerine stroma sağlar.
• Sitokinler: IL-1 ve TNF fibroblast çoğalımını uyarır. Fibroblastlarda kollajen ve kollajenaz yapımını başlatır.

Tablo 2 Yara iyileşmesinde görevli büyüme faktörleri ve sitokinler

Yaralanmanın tipi, hacmi ve yeri iyileşme sürecini etkileyen önemli faktörlerdir. Enfeksiyonlar, diyabet, yetersiz protein alımı ve C vitamini eksikliği gibi beslenme bozukluğu durumlar, glukokortikoidler, artan lokal basınç gibi mekanik faktörler, ateroskleroz gibi perfüzyon bozukluğuna neden olan durumlar, çelik, cam ve hatta kemik parçaları gibi yabancı cisimler doku onarımı, onarım sürecini bozan lokal ve sistemik faktörlerdir.

2.6 Epidural Fibrozis

Başarısız bel cerrahisi sendromunun önemli bir kısmını oluşturan epidural fibrozis, dekompresif spinal cerrahi sonrası kauda ekuina seviyesinde, dural kesenin veya köklerin etrafında skar dokusu oluşması olarak tanımlanmaktadır. Akut ve/veya kronik irritasyon ile nöral dokuya bası yaparak ve sinir kökünün beslenmesini bozarak radiküler ağrıya yol açmaktadır. Birkaç hafta ile ay içerisinde tekrarlayan ve progresif artan ağrı ile prezente olur. Etiyolojide aşırı kanama, aşırı kas ve sinir kökü ekstansiyonu, cerrahi sahanın büyüklüğü, nekrotik dokular, enfeksiyon, yabancı doku reaksiyonları gibi inflamasyonu tetikleyen durumlar suçlanmıştır.

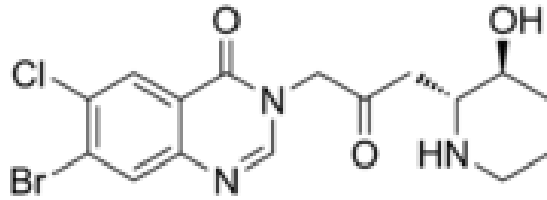
Lomber disk cerrahisinde altın standart mikrodisektomidir ve cerrahi tekniğin daha küçük insizyon, daha az doku hasarı, daha az kas diseksiyonu, ölü boşluğun küçük olması ve erken mobilizasyon gibi avantajları bulunmaktadır; fakat açık girişim olması nedeniyle epidural fibroze sebep olmaktadır. Nüks disk ile epidural fibrozisi ayırt etmek için kontrastlı magnetik rezonans görüntüleme en duyarlı tetkiktir. Nüks disk avasküler ve sadece çevresinde ince skar dokusu ile vaskülarizasyona bağlı kontrast tutulumu olur. Epidural fibrozis de ise skar dokusunda homojen kontrast tutulumu olur.

Tekrarlayan spinal cerrahilerde önemli bir problem olarak karşımıza çıkan epidural fibrozis, skar dokusu nedeniyle anatomik yapıların diseksiyonunu zorlaştırmaktadır. Bu durum ameliyat süresinin uzamasına, dural yırtık ile beraber BOS kaçaklarının oluşmasına, vasküler ve nöral yapıların hasarlanma riskinin artmasına, kanama ile enfeksiyon gibi komplikasyonların artmasına neden olur.

Epidural fibrozisi önlemek adına birçok klinik ve deneysel çalışma yapılmış olmasına rağmen net bir sonuç halen elde edilememiştir.

2.7 Halofuginon

Halofuginon (7-Bromo-6-chloro-3-[3-(3-hydroxy-2-piperidiny)-2-oxopropyl]-4(3H)-quinazolinone), *Dichroa febrifuga* bitkisinden elde edilen februfigin isimli alkaloidin analogudur. 1960lı yıllarda aslında antimalaryal ilaç geliştirme aşamasında ortaya çıkmıştır. Fakat gastrointestinal sistem özellikle karaciğer üzerindeki toksisitesi ile ishal ve kusma gibi yan etkileri nedeniyle antimalaryal ilaç olarak kullanılamayan Halofuginon, veteriner hekimler tarafından uzun yıllardır kümes hayvanlarında koksiديو enfeksiyonlarının tedavisinde ve profilaksisinde kullanılmaktadır. (21, 22) İn vivo ve in vitro çalışmalarda antitümöral, antianjiyojenik, antimetastatik, antiinflamatuvar, antiproliferatif, antioksidan etkilerinin yanı sıra bu ilacın oral, sistemik ve/veya topikal yoldan uygulandığında antifibrotik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (23- 29).



Şekil 20 Halofuginonun Moleküler Yapısı C₁₆H₂₁O₃N₃

Halofuginon, fibroz dokunun kaynağı olan fibroblastlar üzerinde $\alpha 1$ geninin ekspresyonunu azaltarak hem tip I kollajen hem de metalloproteinaz-2 sentezini azalttığı gösterilmiştir (31, 32, 33). Fakat tip II ve III kollajen sentezini etkilememektedir ve yara iyileşmesi bu nedenle yeterli düzeyde olmaktadır (31).

Ekstraselüler matriks döngüsünde TGF- β , matriks metalloproteinazlar (MMP) ve doku matriks metalloproteinaz inhibitörü (TIMP) rol alırlar (22, 34). Bu süreçte inflamatuvar yanıtta önemli bir rol oynayan NF- κ B, matriks metalloproteinazların ve inflamatuvar faktörlerin sentezine aracılık eden ana yollardan biridir. Halofuginonun

NF- κ B sinyal yolunu inaktive ederek proinflamatuvar sitokin seviyesini azalttığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir (35). Ayrıca Halofuginon TGF- β 'nin seviyesini veya reseptör genini etkilemeyip, bu yollar üzerindeki Smad3 fosforilasyonunu engelleyerek ve inhibitör özellikte Smad7 düzeyini artırarak fibrotik dokuda ekspresyonu fazla olan TGF- β sinyal yolunun inaktivasyonunu sağlamaktadır (32, 35, 36, 37).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları

Sıçanlar üzerinde uygulanan deney protokolü, ulusal ve uluslararası hayvan deneyleri mevzuatına ve kılavuzlarına uygun olup; Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 22.06.2021 tarihli, 2021/31 kayıt numaralı ve 2021/05-01 karar numarası ile onaylanmıştır.

Bu araştırma, Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, ağırlığı 150-200 gram arasında değişen, 4 aylık, toplam 21 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar saydam pleksiglas kafeslerde, biyolojik ritme uygun olarak 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamda, 24-26 °C oda sıcaklığında, %50-60 nem oranı ve su ile standart sıçan yemine sınırsız erişim sağlanarak barındırılmıştır. Çalışma öncesinde sıçanlar adaptasyon için 7 gün barınacakları ortamda izlenmişlerdir.

3.2 Halofuginon Antifibrotik Doz Tayini

L929 hücreleri, %10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin içeren DMEM/12 kullanılarak standart koşullarda kültürlendi. Kültür ortamları iki günde bir yenilendi ve deneysel protokol uygulanana kadar alt kültürlendi.

3.2.1 Deneysel tasarım

Kültürlenmiş L929 (2×10^4 hücre/ml) fare fibroblastik hücreleri, MTT testi için 96 kuyucuklu kültür plakalarına ekildi. 24 saatlik inkübasyondan sonra, deney protokolü uygulanmadan önce, hücreler PBS ile yıkandı. Kontrol kültür ortamı olarak DMEM/F12 (%10 FBS ve %1 P/S içeren) ve %0.1 DMSO (dimetilsülfoksit) içinde çözdürülen Halofuginon'un 6 farklı konsantrasyonu DMEM içerisinde hücrelere uygulandı. Tüm kuyucuklar ilgili solüsyonlarla (200 mikrolitre) dolduruldu. Deneyler kendi içinde 6 tekrarlı olacak şekilde düzenlendi. Kültür standart koşullarda (37°C) 24, 48 ve 72 saat boyunca inkübe edildi.

3.2.2 MTT analizi

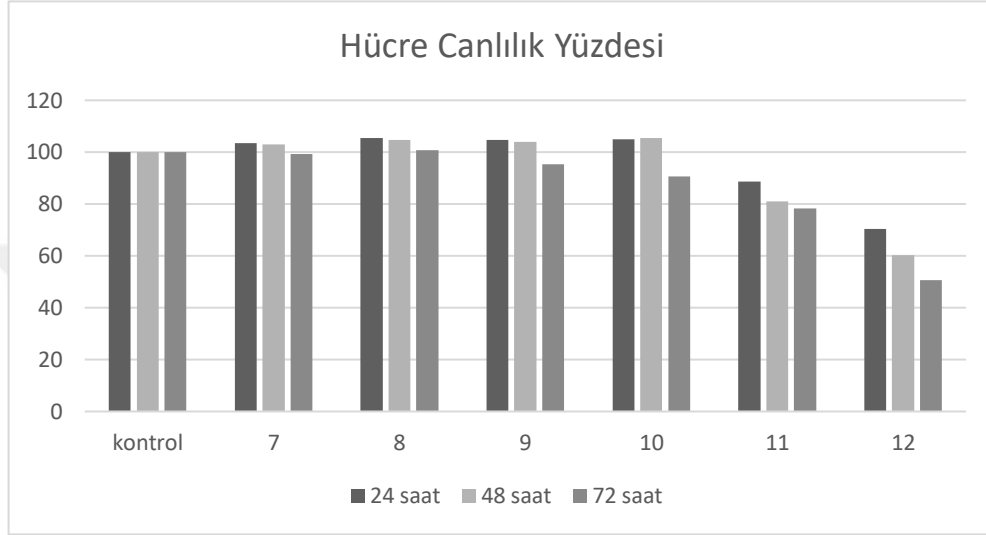
İnkübasyonu takip eden 24., 48. ve 72. saatlerde hücrelerin canlılığı MTT testi kullanılarak ölçüldü. MTT testi, canlılığı tanımlamak için Mosmann (1983) tarafından standartlaştırılmış kolorimetrik bir yöntemdir. Bu nedenle tasarlanan inkübasyon sürelerinin sonunda solüsyonlar kaldırıldı ve hücrelere %10 taze kültür ortamında MTT ilave edildi. Etüvde standart koşullar altında dört saat inkübe edildi. 4 saat inkübasyon sonunda formazon kristallerini çözmek için 0.1 N HCL içeren izopropanol alkol hücrelerin üzerinde eklendi. Absorbans, bir spektrofotometre mikropilaka okuyucusunda (μ QuantTM, Biotek® Instruments Inc, ABD) 570 nm dalga boyunda ölçüldü. Tüm gruplarda canlılık yüzde olarak verildi.

Hücre canlılığı aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı:

$$\text{Hücre canlılığı (\%)} = (\text{Deneysel grup/Kontrol}) \times 100$$

3.2.3 Sonuç

Yapılan canlılık analizi sonucunda elde edilen yüzde grafikte Halofuginon'un 6 farklı konsantrasyonunun (10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12}) kontrole göre yüzdelik farkı görülmektedir.



Şekil 21 Halofuginon'un anti-fibrotik doz tayininde hücre canlılık yüzdesini gösteren grafik

6. konsantrasyon olan 10^{-12} Halofuginon içeren solusyonun özellikle 72. saatin sonunda %50 letal olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçtan yola çıkılarak hazırlanan hidrojellerin içerisine bu konsantrasyon eklenmiştir.

3.3 Hidrojellerin Hazırlanması

3.3.1 Boş Hidrojellerin Hazırlanması

Yapılan ön çalışmalar sonrası hidrojel sentezi optimize edilmiştir. Bu bağlamda %10' luk (w/v) jelatin çözeltisi ve %0.05'lik (v/v) glutaraldehit çözeltisi hazırlanmıştır. Her iki çözeltide de çözücü olarak distile su kullanılmıştır. Hazırlanan jelatin çözeltisi flow kabin içerisinde 0,80 µm filtreden geçirilerek yeni bir steril falkona aktarılmıştır. Aynı şekilde glutaraldehit çözeltisi ise 0,20 µm filtreden

geçirilerek yeni bir steril falkona aktarılmıştır. Böylece her iki çözeltinin de sterilitesi sağlanmıştır.

Final hacimde %80 (v/v) steril gluteraldehit ve %20 (v/v) jelatin çözeltisi olacak şekilde jelatin çözeltisi üzerine gluteraldehit çözeltisi eklenmiş ve tamamen homojenize olana kadar vortekslenmiştir. Hazırlanan hidrojel steril enjektör (1 mL' lik) içerisine çekilerek tamamen alüminyum folyo ile kaplanmış ve +4°C'de 1 gün boyunca yavaş çapraz bağlanma reaksiyonunun tamamlanması için bekletilmiştir. Ertesi gün hazırlanan hidrojel sıçanlarda laminektomi yapılan alana 0.04 mL enjekte edilmiştir.

3.3.2 Halofuginon Yüklü Hidrojellerin Hazırlanması

Jel içerisindeki final Halofuginon dozu hücre kültüründe elde edilen *in vitro* sitotoksikite testi sonuçlarına göre % 50 hücre kaybı yaratan doz olan 10^{-12} μ M olarak belirlenmiştir.

Halofuginon yüklü hidrojellerin hazırlanması için %10'luk (w/v) jelatin çözeltisi ve %0.05' lik (v/v) gluteraldehit çözeltisi hazırlanmıştır. Her iki çözeltide de çözücü olarak distile su kullanılmıştır. Hazırlanan jelatin çözeltisi flow kabin içerisinde 0,80 μ m filtreden geçirilerek yeni bir steril falkona aktarılmıştır. Aynı şekilde gluteraldehit çözeltisi ise 0,20 μ m filtreden geçirilerek yeni bir steril falkona aktarılmıştır. Böylece her iki çözeltinin de sterilitesi sağlanmıştır.

Halofuginon çözeltisi ise konsantrasyonu 10^{-3} μ M olacak şekilde DMSO içerisinde çözülmüş ve final konsantrasyonu 10^{-11} μ M olacak şekilde DMEM besiyeri ile seyreltilerek flow kabin içerisinde hazırlanmıştır.

Tüm çözeltiler hazırlandıktan sonra final hacimde %1(v/v) Halofuginon (10^{-12} μ M), %19 (v/v) jelatin ve %80 (v/v) gluteraldehit olacak şekilde steril jelatin çözeltisi üzerine Halofuginon eklenip vortekslenerek homojenize edilmiştir. Daha sonra üzerine belirlenen hacimde gluteraldehit eklenerek yeniden homojenize olana kadar

vortekslenmiştir. Hazırlanan ilaç yüklü hidrojel steril enjektör (1 mL'lik) içerisine çekilerek alüminyum folyo ile tamamen sarılmıştır. İlaç yüklü hidrojeller +4°C' de 1 gün boyunca yavaş çapraz bağlanma reaksiyonunun tamamlanması için bekletilmiştir. Ertesi gün hazırlanan Halofuginon yüklü hidrojel sıçanlarda laminektomi yapılan alana 0.04 mL enjekte edilmiştir.

3.4 Deney Grupları

Çalışmada toplam 21 adet Wistar Albino cinsi sıçan kullanılmıştır ve her biri 7'şer adet rastgele seçilen denekten oluşan üç gruba ayrılmıştır.

- Grup 1 (Laminektomi grubu n=7): Bu gruptaki sıçanlara tek mesafe lomber laminektomi yapıp primer kapama işlemi yapıldı. Denekler 21 gün takip edildi.
- Grup 2 (Hidrojel grubu n=7): Bu gruptaki sıçanlara tek mesafe lomber laminektomi yapıp cerrahi sahaya hidrojel konuldu, primer kapama işlemi yapıldı. Denekler 21 gün takip edildi.
- Grup 3 (Halofuginon grubu n=7): Bu gruptaki sıçanlara tek mesafe lomber laminektomi yapıp cerrahi sahaya Halofuginon yüklü hidrojel yerleştirildi, primer kapama işlemi uygulandı. Denekler 21 gün takip edildi.

3.5 Cerrahi Teknik

3.5.1 Preoperatif Hazırlık

Cerrahi işlemden hemen önce her bir denek hassas terazide tartıldıktan sonra genel anestezi için 35 mg/kg dozunda Ketamine hydrochloride (Ketalar flakon, 50 mg/1 ml, Pfizer, İstanbul, Türkiye) ve 5 mg/kg dozunda Xylazine hydrochloride

(Xylazin Bio %2, 50 ml flakon, Bioveta, Çek Cumhuriyeti) hazırlandı. Sıçanın sağ arka bacağına intramüsküler enjeksiyon yapıldı ve anestezi derinliği parmak kısırtma yöntemi ile kontrol edildi. Anestezi altında, her sıçanın lomber bölgedeki kılları tıraş edildi.

Operasyon esnasında deneklerin genel durumları, vücut sıcaklıkları, nabızları ve oksijenizasyonları takip edildi. Cerrahi öncesinde veya sonrasında antibiyotik profilaksisi yapılmadı. Kullanılan cerrahi aletler otoklav ile sterilize edildi. Çalışmanın tümü aynı araştırmacı tarafından yapıldı.



Şekil 22 Deneyde kullanılan cerrahi aletler



Şekil 23 Deneyin yapıldığı ameliyat masası



Şekil 24 Deneyin yapıldığı laboratuvar düzeni

3.5.2 Deney Aşaması

Sıçanlar genel anestezi altında, prone pozisyonda, lomber bölgelerini desteklemek amacıyla karın bölgesine rulo haline getirilmiş spanç konularak ameliyat masasına sabitlendi. Cerrahi saha povidon iyot solüsyonu ile aseptik olarak hazırlandı. Lomber spinöz prosesler üzerinden 5 cm lik orta hat cilt insizyonu yapıldı ve sakrumdan sayılarak L4 vertebra tespit edildi. Bilateral paravertebral adele diseksiyonu sonrası tek mesafe laminektomi ve flavektomi yapıldı.

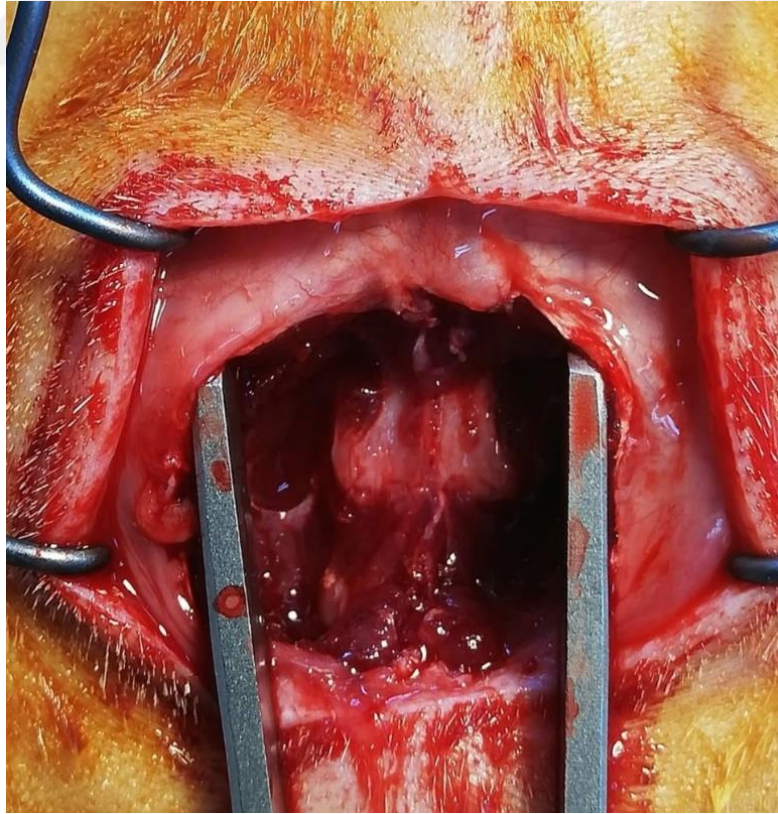
Grup 1'deki sıçanlara lomber laminektomi yapıp hemostazı takiben fasya ve kas tabakası 3/0 yuvarlak iğneli ipek ile kapatıldı. Cilt 3/0 keskin iğneli vicryl kapatılıp povidon iyot solüsyonu ile pansuman yapıldı.

Grup 2'deki sıçanlara lomber laminektomi yapıp hemostazı takiben cerrahi sahaya 0.04 ml hacminde hidrojel yerleştirildi. Fasya ve kas tabakası tabakası 3/0 yuvarlak iğneli ipek ile kapatıldı. Cilt 3/0 keskin iğneli vicryl kapatılıp povidon iyot solüsyonu ile pansuman yapıldı.

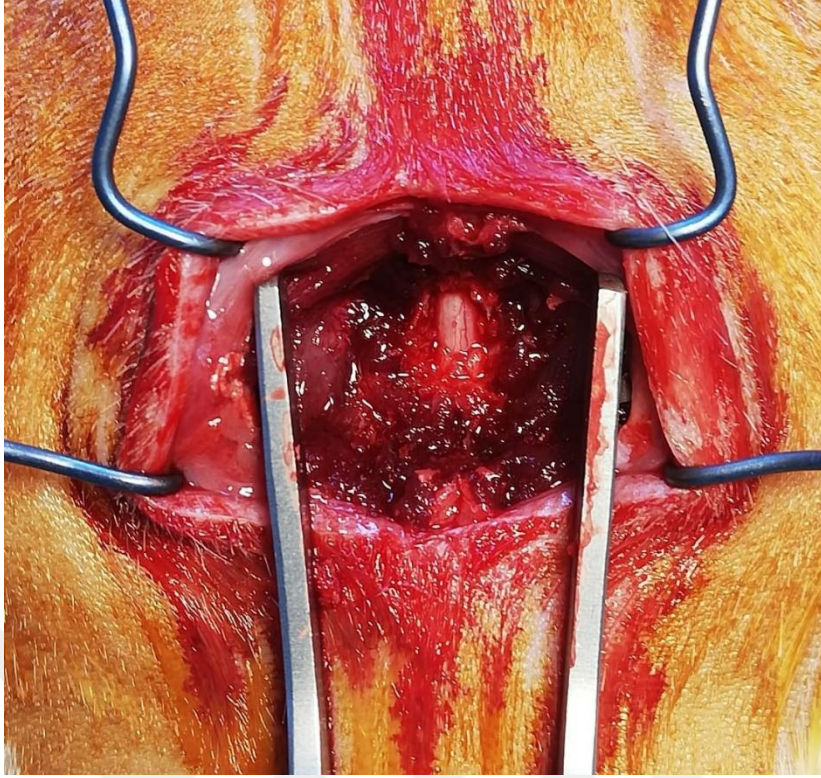
Grup 3'teki sıçanlar lomber laminektomi yapıp hemostazı takiben cerrahi sahaya 0.04 ml hacminde, 10^{-12} μ M Halofuginon (Halofuginone hydrobromide, Sigma Aldrich, Almanya) içeren hidrojel yerleştirildi. Fasya ve kas tabakası tabakası 3/0 yuvarlak iğneli ipek ile kapatıldı. Cilt 3/0 keskin iğneli vicryl kapatılıp povidon iyot solüsyonu ile pansuman yapıldı.



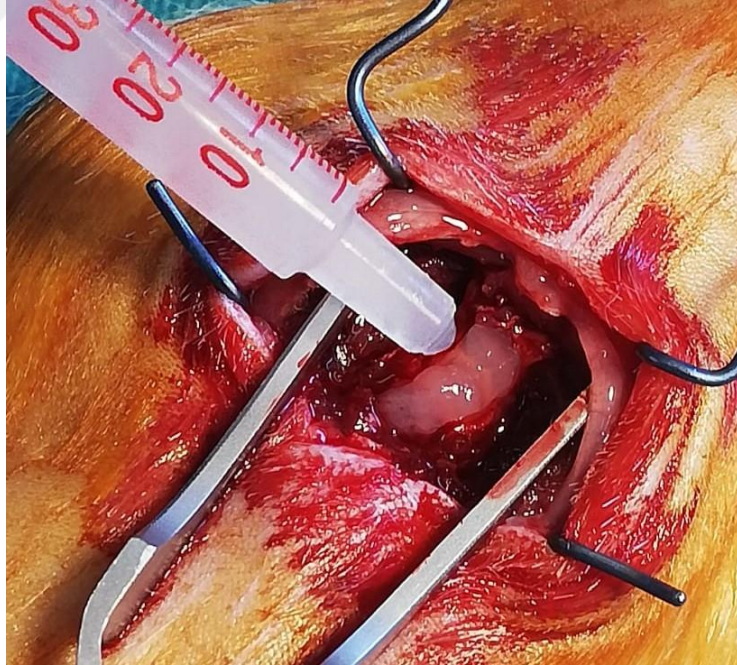
Şekil 25 Deney pozisyonu ve cerrahi saha hazırlığı



Şekil 26 Bilateral paravertebral adele diseksiyonu sonrası lomber vertebraların görünümü



Şekil 27 Lomber laminektomi sonrası spinal kordun görünümü



Şekil 28 Laminektomi sahasına hidrojel yerleştirilmesi



Şekil 29 Kas ve fasyanın ipek dikiş ile kapatılması

3.5.3 Postoperatif Takip

Cerrahi sonrası her denek ayrı kafeslere alındı ve analjeziyi sağlamak amacıyla 1 mg/kg tek doz subkutan Meloksikam (Bavet Meloxicam, 5 mg/1 ml, Bavet İlaç, İstanbul, Türkiye) uygulandı. Günlük yara bakımları yapıldı. Günlük beslenme, aktivite ve genel sağlık durumları kontrol edildi.

3.5.4 Sakrifikasyon

Denekler cerrahi sonrası 21. günde yüksek doz anestezi verilerek sakrifiye edildi. Ardından sıçanlar prone pozisyonda ameliyat masasına sabitlenip karın bölgelerinden rulo haline getirilmiş spanç ile lomber bölgeleri desteklenerek eski insizyonu açıldı, fasyaya ulaşıldı. İşaretlenmiş cerrahi sahanın 1 cm üstünden ve 1 cm altından olacak şekilde spinal kolon, vertebral kolon, paravertebral kaslar ve fasya bir bütün halinde çıkarıldı.

3.6 Histolojik Değerlendirme ve Analiz

Laminektomi sonrası vertebral kolon ve ilişkili yapılar bir bütün olarak alındıktan sonra dokular serum fizyolojik ile yıkandı. Ardından %10 fosfat tamponlu formaldehit solüsyonunda 3 gün fikse edildi. Daha sonra Decastro solüsyonu ile 10 gün süreyle dekalsifikasyon gerçekleştirildi (37). Dekalsifikasyondan sonra dehidratasyon işlemlerinden geçirilerek rutin takibi tamamlandı ve parafine gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom (Micron 365 HM, Germany) ile 5-6 µm kalınlığında seri kesitler alınarak hematoxilen-eozin ve özellikle kollajen için Masson'un trikrom boyası ile boyandı (38).

Fibroblastların proliferatif durumunu ve kollajen demetleri ile fibrozisi daha iyi değerlendirmek için Masson'un trikrom boyası ile boyama yapıldı. Kollajen yoğunluğu LAS-X programı (Leica Application Suite X, Germany) ile değerlendirildi. Görüntü analiz programı ile kontrol grubu, hidrojel grubu ve hidrojel + Halofuginone grubuna ait üç farklı bölge seçilerek fibrozis alanı ölçümleri mikrometrekare cinsinden yapıldı. Yapılan bu üç farklı ölçümün ortalaması alınarak milimetrekare cinsinden değerleri saptandı. Sonuçların analizi istatistiksel paket yazılımı ile yapıldı.

Işık mikroskobu (Leica DM6B, Germany) ile peridural ve komşu doku adezyonu değerlendirildi. Histopatolojik evrelemede epidural fibrozis alanı, fibrozisin adezyon derecesi, iltihabi hücre infiltrasyonu, yabancı cisim reaksiyonu ve yeni kemik oluşumu Like Lou ve ark. (39) protokolü modifiye edilerek değerlendirildi.

Seri kesitler incelenerek fibrozis adezyon derecesinin evrelendirmesi gerçekleştirildi (40, 41).

Evre 0: Dura mater'i etkileyen fibrozis yok.

Evre 1: Fibröz dokuyla dura mater arasında ince fibröz bantlar var.

Evre 2: Laminektomi bölgesinin 2/3 ünden az alanda devamlı adezyon var.

Evre 3: Laminektomi bölgesinin 2/3ünden daha geniş alanda fibröz dokunun adezyonu var ve/veya fibröz doku sinir köklerine ve paravertebral kaslara ulaşıyor.

3.7 İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesinde Windows için IBM-SPSS paket yazılımı kullanıldı. Fibrozis alanlarının milimetre kare cinsinden ölçülen değerleri kontrol, hidrojel ve hidrojel + Halofuginon grupları arasında Kruskal Wallis testi kullanılarak karşılaştırıldı.

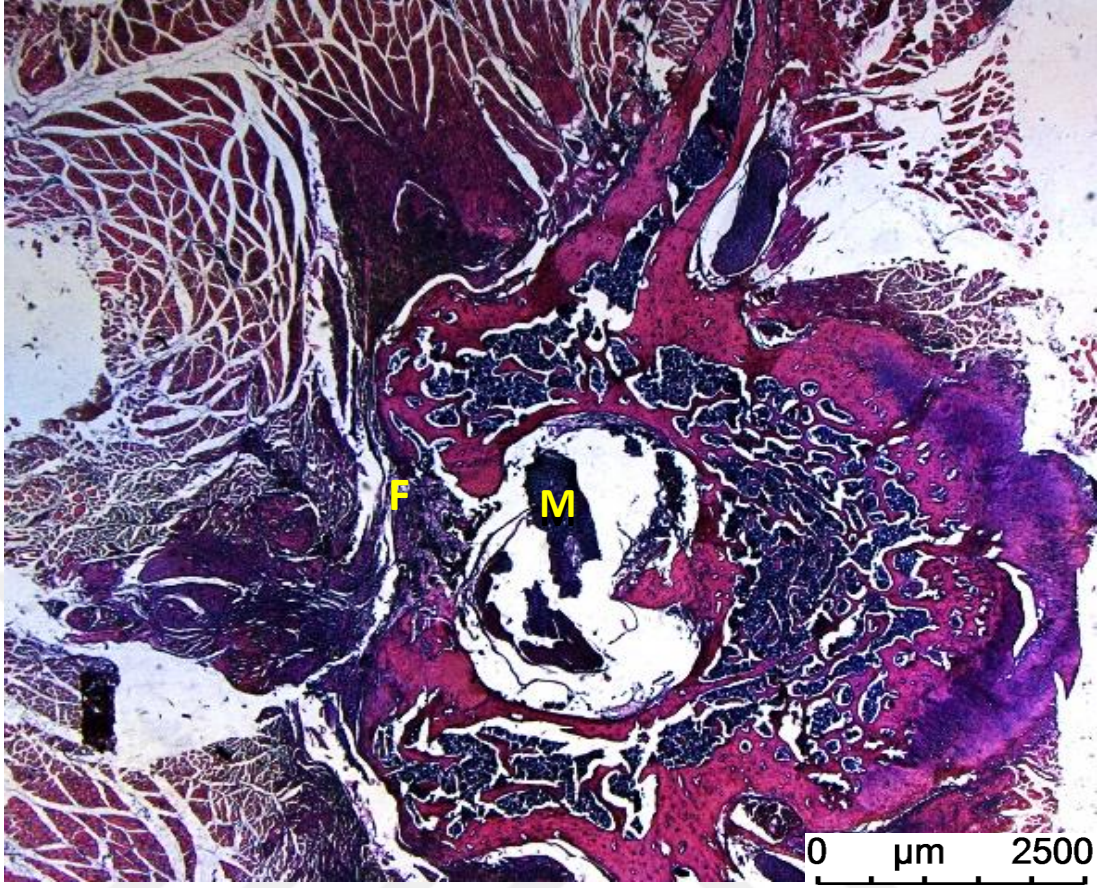
Aynı gruplar fibrozis adezyon derecesi evrelendirilmesi açısından ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldı. Tüm analizlerde p değeri 0.05'in altındaki değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

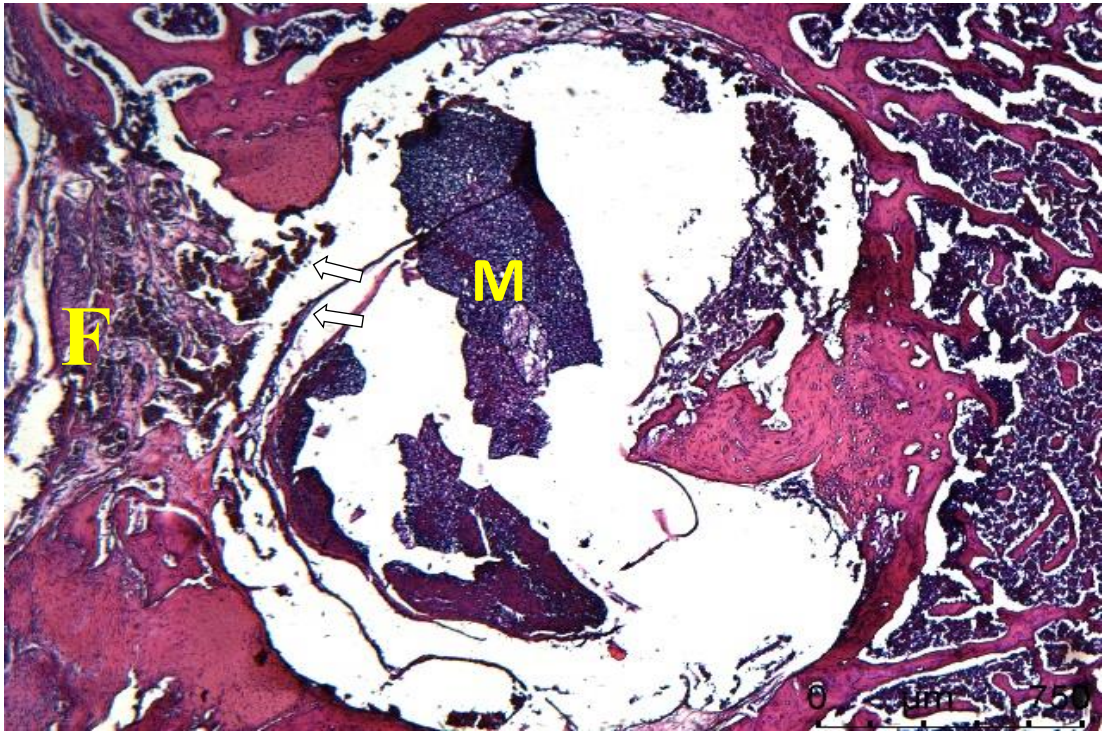
Cerrahi işlem sırasında ve cerrahi sonrası 21 günlük takipte ölen veya herhangi bir nedenle çalışma dışı bırakılan hayvan olmadı. Post operatif dönemde hiçbir denekte nörolojik kayıp ve yara yerinde enfeksiyon saptanmadı. Sakrifikasyon sonrasında makroskopik değerlendirmede ameliyat sahası açıldığında cilt altı ve fasyada da enfeksiyona dair görünüm saptanmadı, BOS kaçağı tespit edilmedi.

4.1 Kontrol grubu

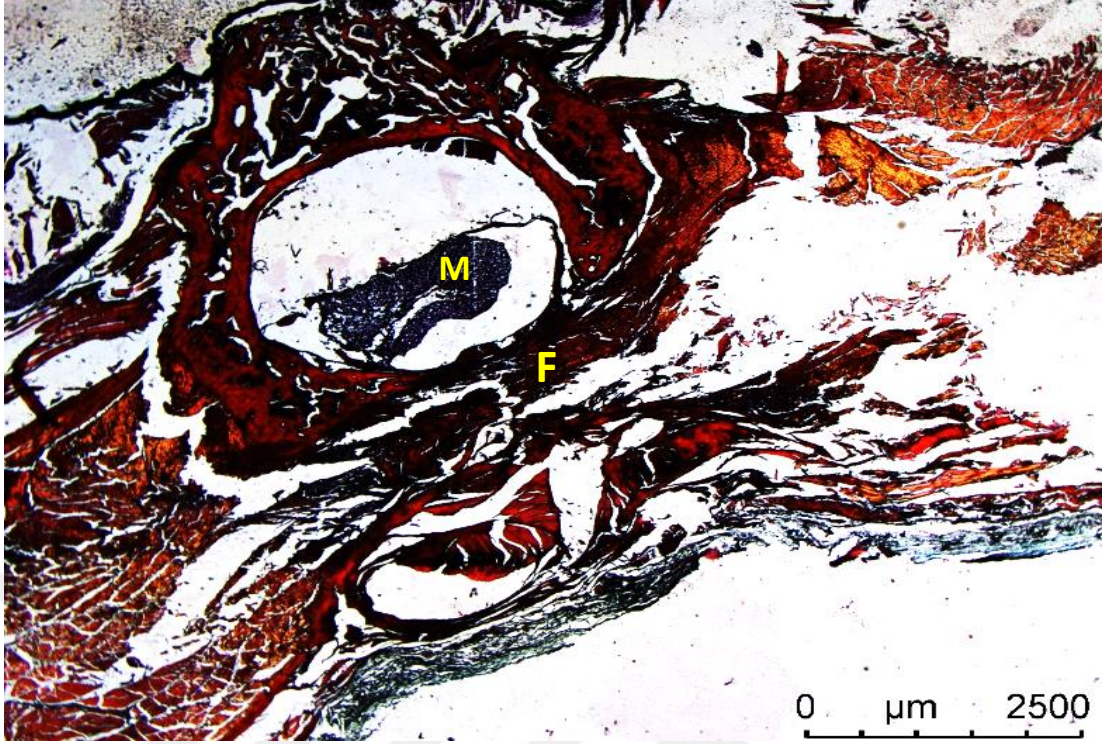
Kontrol grubuna ait deneklerin mikroskopik incelemelerinde yoğun fibrozis gözlemlendi. Fibröz doku sublaminal alana, sinir köklerinde ve paravertebral kaslara kadar uzanmaktaydı (Şekil 30, 31, 32, 33). Laminektomi sahasının yakınındaki vertebral kolonda kollajen fibriller ve aktif fibroblastlara rastlandı (Şekil 34, 35). İnfiltratif iltihabi hücre görülmedi. Yabancı cisim reaksiyonu ile ilgili makrofaj ve mononükleer hücre yoğunluğu görülmedi.



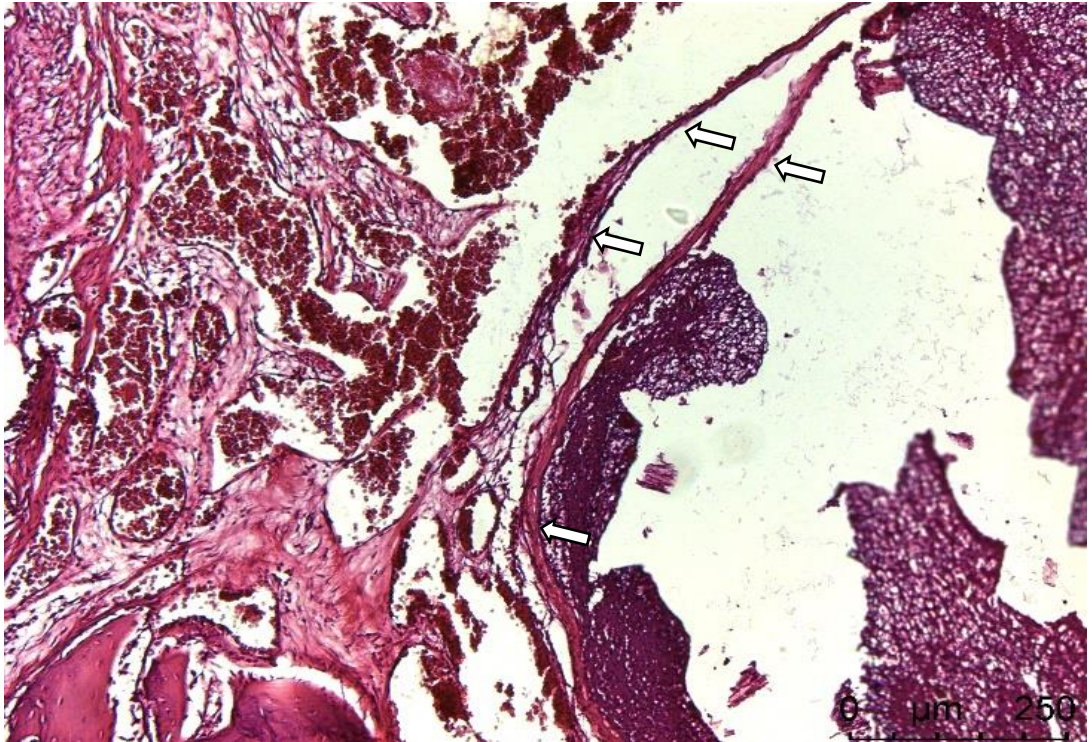
Şekil 30 Kontrol grubunda hematoksilin-eozin ile boyamada laminektomi alanında fibröz doku (F) varlığı izlenmektedir. Medulla spinalis (M).



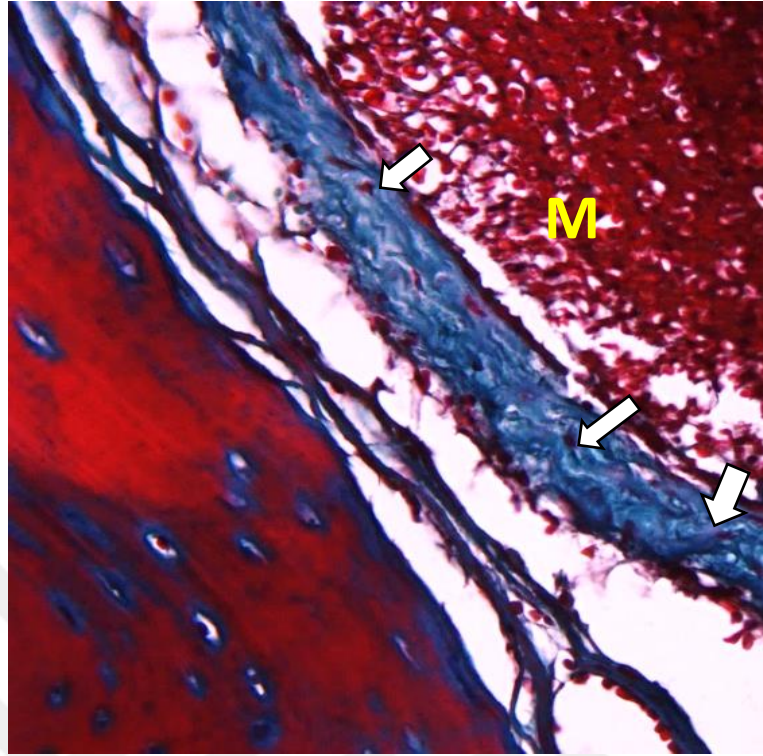
Şekil 31 Kontrol grubunda hematoksilin-eozin boyamada beyaz oklar fibröz doku (F) adezyonunu göstermektedir. Medulla spinalis (M).



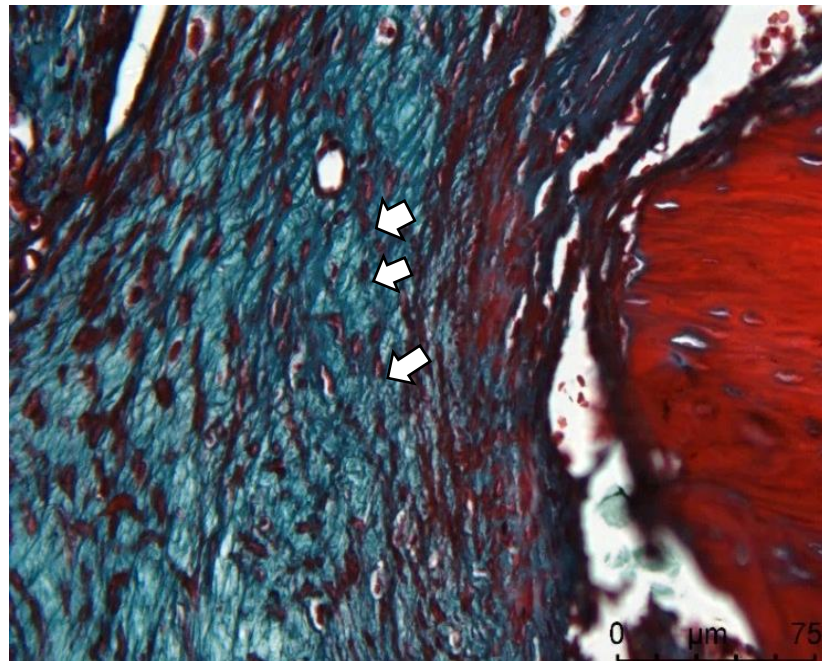
Şekil 32 Kontrol grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada Medulla spinalis (M) ve fibrozis (F) görülmektedir.



Şekil 33 Kontrol grubunda hematoksilin-eozin ile boyamada beyaz oklar spinöz kısımda fibröz doku adezyonunu göstermektedir.



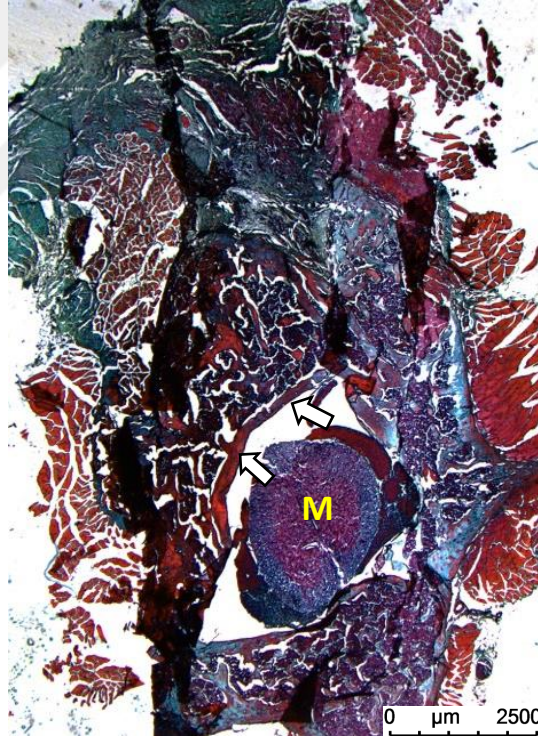
Şekil 34 Kontrol grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada Medulla spinalis ve etrafında oluşmuş fibrozis içerisinde aktif fibroblastlar beyaz oklarla gösterilmiştir.



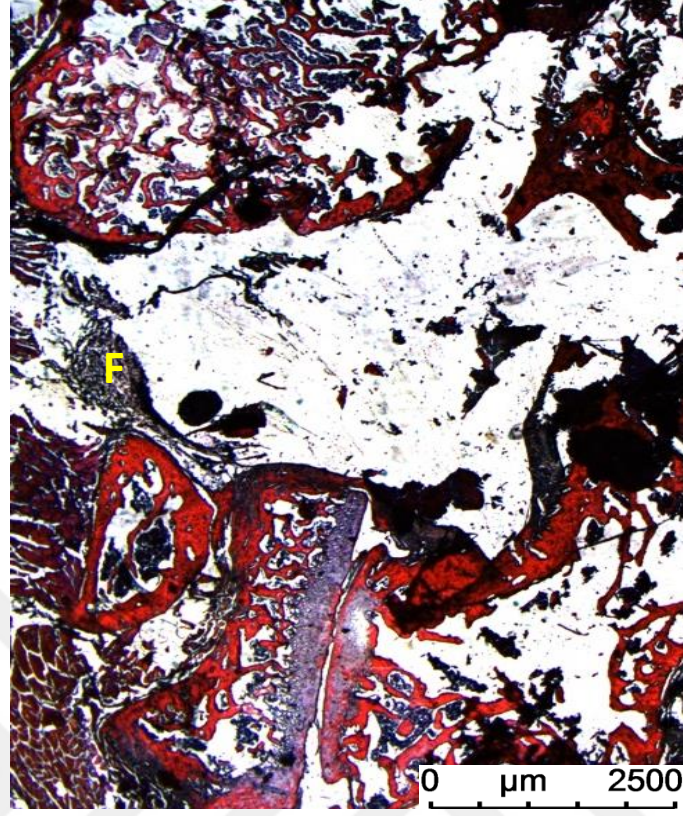
Şekil 35 Kontrol grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada fibrozis dokusu içinde aktif fibroblastlar beyaz oklarla gösterilmiştir.

4.2 Hidrojel Grubu

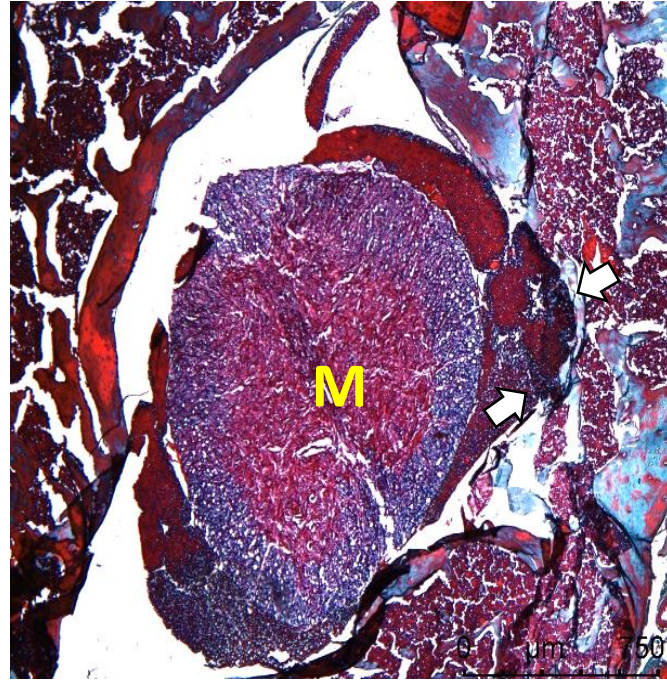
Cerrahi sahaya hidrojel yerleştirilen deneklerin mikroskopik incelemelerinde laminektomi yakınındaki bölgede vertebral kolonun çoğunda kollajen fibriller ve aktif fibroblastlardan oluşan fibrozis görüldü (Şekil 36, 37). Hidrojel çevresindeki fibröz doku; hem dura matere komşu alanda hem de paravertebral kasların arasına doğru, bazılarında ise boşlukları aşırı doldurucu nitelikte olduğu görüldü (Şekil 36, 37, 38). Ayrıca bazı deneklerde hidrojin mekanik bariyer oluşturabileceği membranöz bir yapıya rastlandı (Şekil 39). Fibröz doku bir kısımda fibröz bantlar şeklinde komşu bölgeleri doldururken, sinir köklerine de ulaştığı birkaç örnekte görüldü (Şekil 37, 40, 41). Hidrojele bağlı yabancı cisim reaksiyonunu düşündürecek yoğun hücre infiltrasyonu ve yeni kemik oluşumunu düşündüren yeni kemik trabekülleri görülmedi.



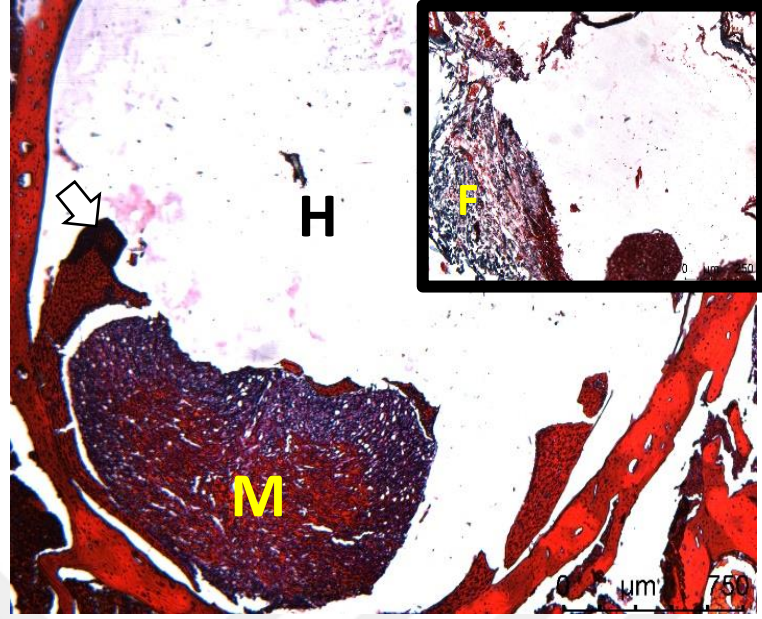
Şekil 36 Hidrojel grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada Medulla spinalis (M) ve etrafında fibröz bantlar beyaz oklarla gösterilmiştir.



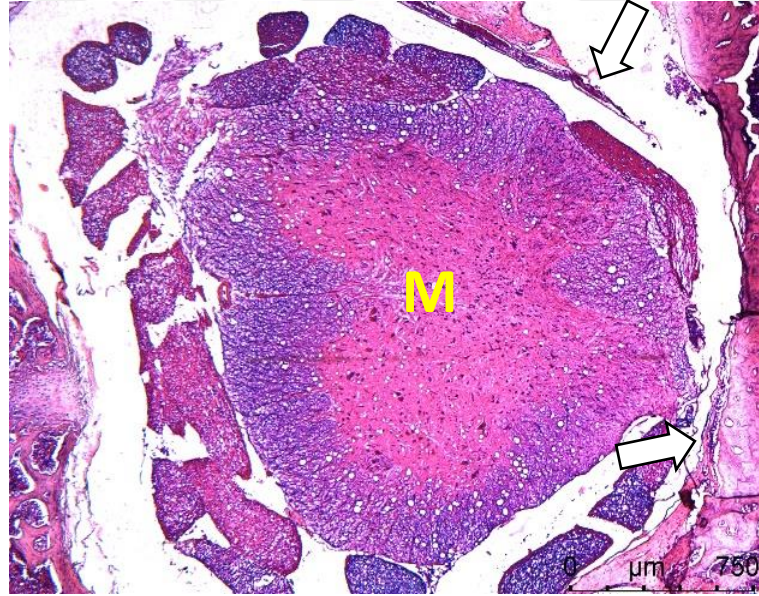
Şekil 37 Hidrojel grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada fibröz doku (F) izlenmektedir.



Şekil 38 Hidrojel grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada Medulla spinalis (M) ve etrafındaki fibröz bantlar beyaz oklarla gösterilmiştir.



Şekil 39 Hidrojel grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada Medulla spinalis (M) etrafında fibröz bantlar ve hidrojel oluşturduğu bariyer görülmektedir. Üstteki resimde fibrozis dokusu (F) görülmektedir.



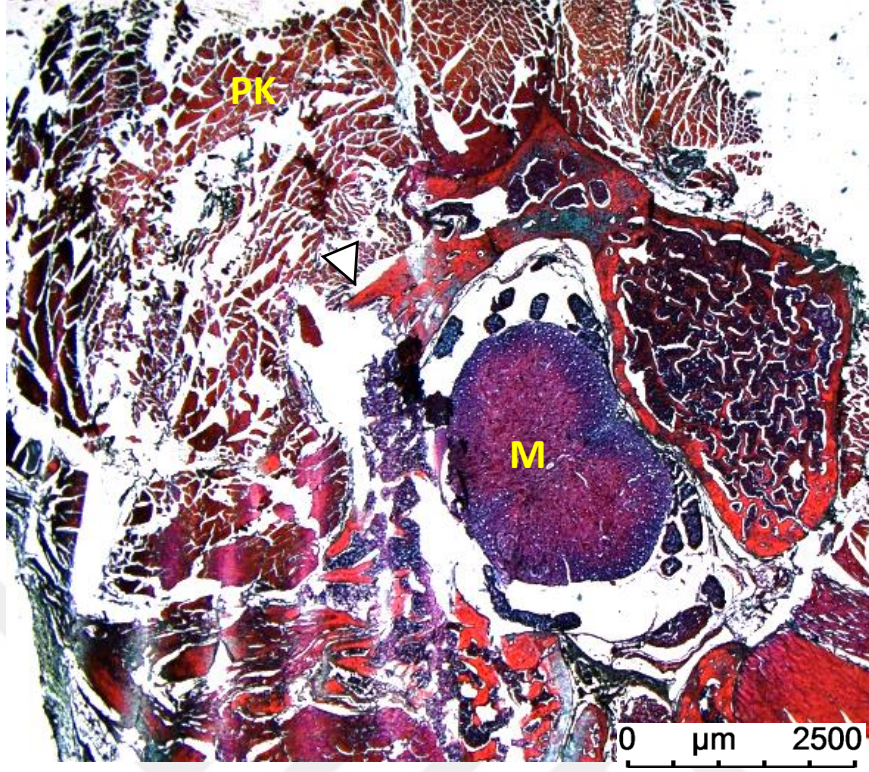
Şekil 40 Hidrojel grubunda hematoksilin-eozin ile boyamada Medulla spinalis (M) ve etrafındaki fibröz bantlar beyaz oklarla gösterilmiştir.



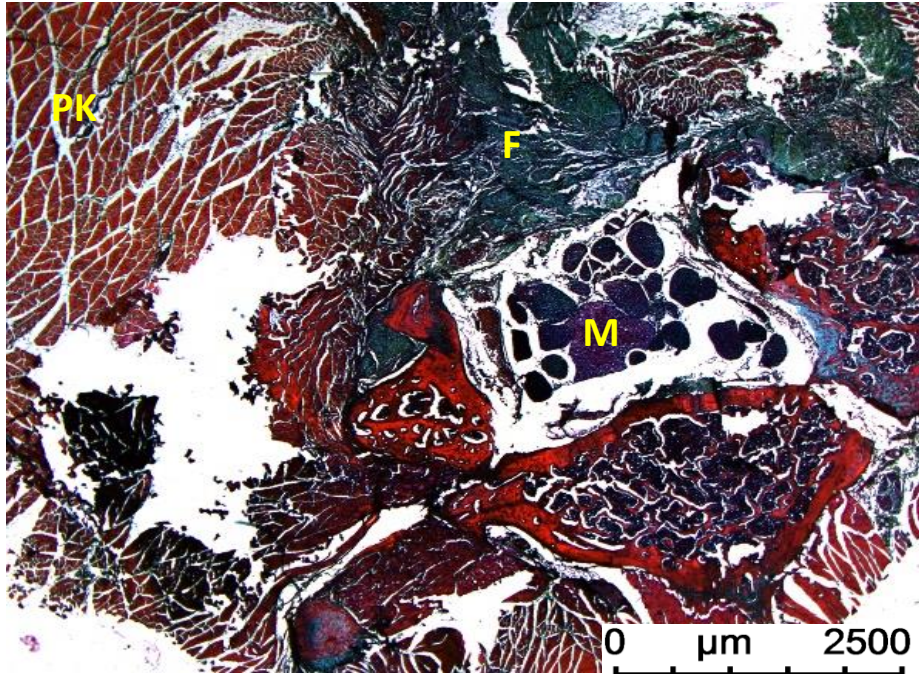
Şekil 41 Hidrojel grubunda hematoksilin-eozin ile boyamada Medulla spinalis (M) ve etrafındaki fibröz doku adezyonu beyaz oklarla gösterilmiştir.

4.3 Hidrojel ile Halofuginon Grubu

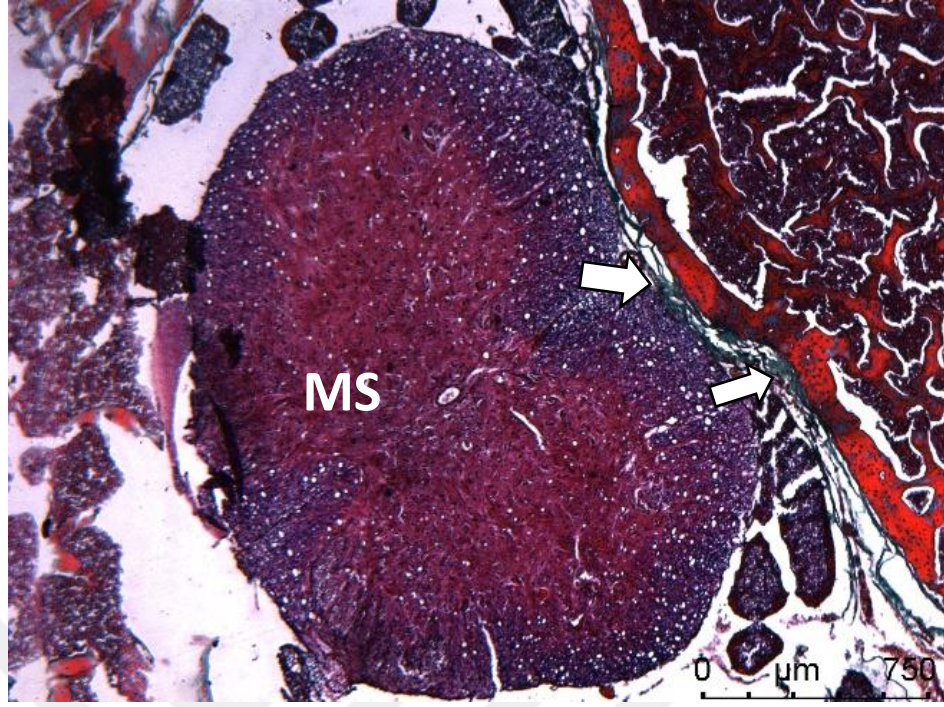
Laminektomi sahası yakınındaki vertebral kolonda ve komşu bölgelerinde fibröz doku dağılımı oldukça düşük olarak değerlendirildi. Bu fibröz doku paravertebral adaleye yakınına kadar uzansa bile kaslara yapışıklık göstermiyordu (Şekil 42, 43). Sinir köklerine ve paravertebral adelere kadar uzanan kollajenden zengin fibröz yapı çoğunlukla belirgin değildi (Şekil 44, 45, 46, 47). Bazı bölgelerde kapiller ve damarlarda genişleme dikkati çekti (Şekil 45). Kemik rejenerasyonunu düşündüren kemik oluşumlar vertebra komşuluğunda kemik trabekülleri ve aktif osteoblastlar görüldü (Şekil 42). Hidrojel ile birlikte Halofuginone verilen grupta mekanik bariyer oluşturabilecek membranöz yapıya sadece bir denekte rastlandı (Şekil 48). Bu yapıda genişlemiş damarlar dolgun ve dokunun damarlanması belirgindi (Şekil 45, 48, 49). İltihabi polimorfonükleer hücre infiltrasyonu ve yabancı cisim reaksiyonunu düşündürecek mononükleer hücre ve makrofajlar görülmedi.



Şekil 42 Hidrojel ile Halofuginone grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada paravertebral kaslar (PK) ve Medulla spinalis (M) ile yeni kemik oluşumu üçgen ok ile gösterilmiştir.



Şekil 43 Hidrojel ile Halofuginone grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada paravertebral kaslar (PK) ve fibrozis (F) varlığı gösterilmiştir.



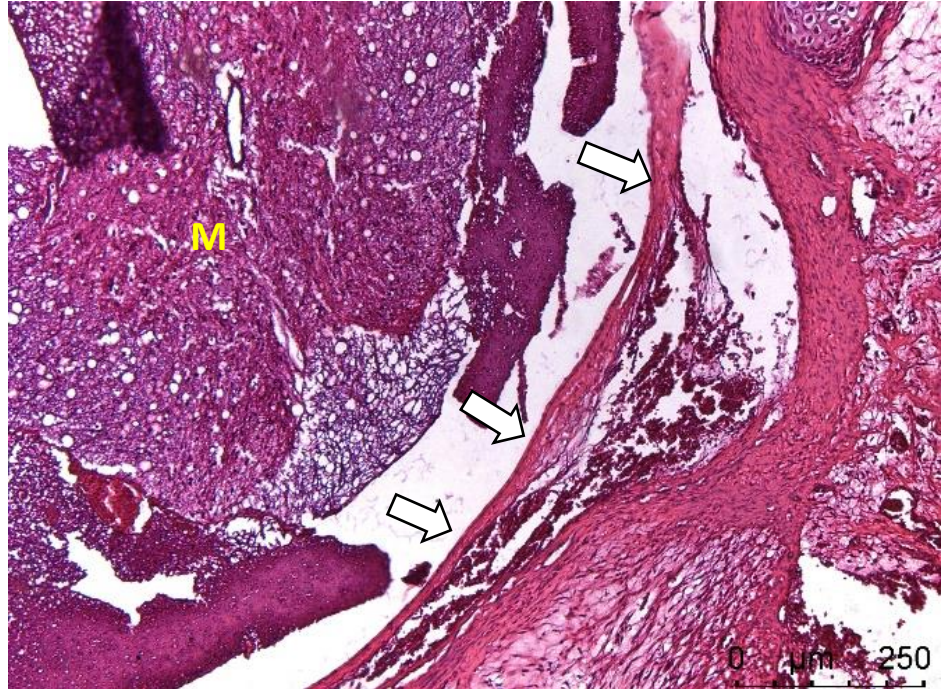
Şekil 44 Hidrojel ile Halofuginone grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada fibröz doku adezyonu beyaz oklarla gösterilmiştir.



Şekil 45 Hidrojel ile Halofuginone grubunda Masson'un trikrom boyası ile boyamada beyaz oklarla gösterilen damarlanmada artış ve kollajen fibriller (KF) gösterilmiştir.



Şekil 46 Hidrojel ile Halofuginone grubunda hematoksilin-eozin boyamada Medulla spinalis (M) etrafında ince kollajen fibriller beyaz oklarla gösterilmiştir.



Şekil 47 Hidrojel ile Halofuginone grubunda hematoksilin-eozin boyamada Medulla spinalis (M) etrafında kollajen fibriller beyaz oklarla gösterilmiştir.



Şekil 48 Hidrojel ile Halofuginone grubunda hematoksilin-eozin boyamada Medulla spinalis etrafında vaskülarize membranöz doku (*) ve kollajen fibriller beyaz oklarla gösterilmiştir.



Şekil 49 Hidrojel ile Halofuginone grubunda hematoksilin-eozin boyamada Medulla spinalis (M) etrafında kollajen fibriller beyaz oklarla gösterilmiştir.

Görüntü analiz programı ile kontrol grubu, hidrojel grubu ve hidrojel ile Halofuginone grubunun fibrozis alanı ölçümleri mikrometre cinsinden elde edilmiştir. Yapılan üç farklı ölçümün ortalaması alınarak milimetre kare cinsinden bu değerler tablo 3'te gösterilmiştir. Tablo 4 ve 5'te istatistiksel değerlendirme sonuçları verilmiştir.

	Sıçan1	Sıçan2	Sıçan3	Sıçan4	Sıçan5	Sıçan6	Sıçan7
Kontrol Grubu	1.119	0.820	2.034	1.419	1.474	1.457	1.570
Hidrojel Grubu	1.233	0.548	2.129	0.701	0.928	1.163	1.251
Hidrojel + Halofuginone Grubu	1.222	0.717	1.842	1.678	1.383	1.316	1.030

Tablo 4 Ölçülen fibrozis alanının gruplara göre dağılımı (mm²)

Grup	N	Ortanca	%25	%75	En küçük	En büyük	Ortalama sıra
Kontrol Grubu	7	1.457	1.119	1.57	0.82	2.034	13.2857
Hidrojel Grubu	7	1.163	0.701	1.251	0.548	2.129	8.2857
Hidrojel + Halofuginone Grubu	7	1.316	1.03	1.678	0.717	1.842	11.4286

Tablo 4 Fibrozis alanlarının gruplara göre tanımlayıcı istatistikleri tablosu

Değişken	s.d.	Test istatistiği (Ki-kare)	p değeri
Sıçan	2	2.3228	0.313

Tablo 5 Kruskal-Wallis testi sonuçları

Fibrozis alanlarının gruplara göre karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanılarak bulunan p değeri 0.313 olup istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Fibrozisin adezyon derecesinin gruplara göre dağılımı incelendiğinde her üç grupta kollajen fibril oluşumu ve paravertebral adele ile sinir köklerine doğru uzanan adezyon oluşumu değerlendirilerek evrelendirme yapılmıştır (Tablo 6).

	EVRE0	EVRE 1	EVRE 2	EVRE 3	TOPLAM
Kontrol Grubu				7	7
Hidrojel Grubu			3	4	7
Hidrojel + Halofuginone Grubu		2	3	2	7

Tablo 6 Fibrozisin Adezyon Derecesinin Gruplara Göre Dağılımı

			EVRELER			
GRUPLAR			E1	E2	E3	Toplam
		Sayı	0	0	7	7
	Kontrol	Satır %	0	0	100	100
	Hidrojel	Sayı	0	3	4	7
		Satır %	0	42.86	57.14	100
	Hidrojel + Halofuginone	Sayı	2	3	2	7
		Satır %	28.57	42.86	28.57	100
	Toplam	Sayı	2	6	13	21
		Satır %	9.52	28.57	61.90	100

Tablo 7 Grupların evrelere göre karşılaştırılması

Test	Test istatistiği (Ki-kare)	s.d.	p değeri
Olabilirlik oranı	12.241	4	0.016

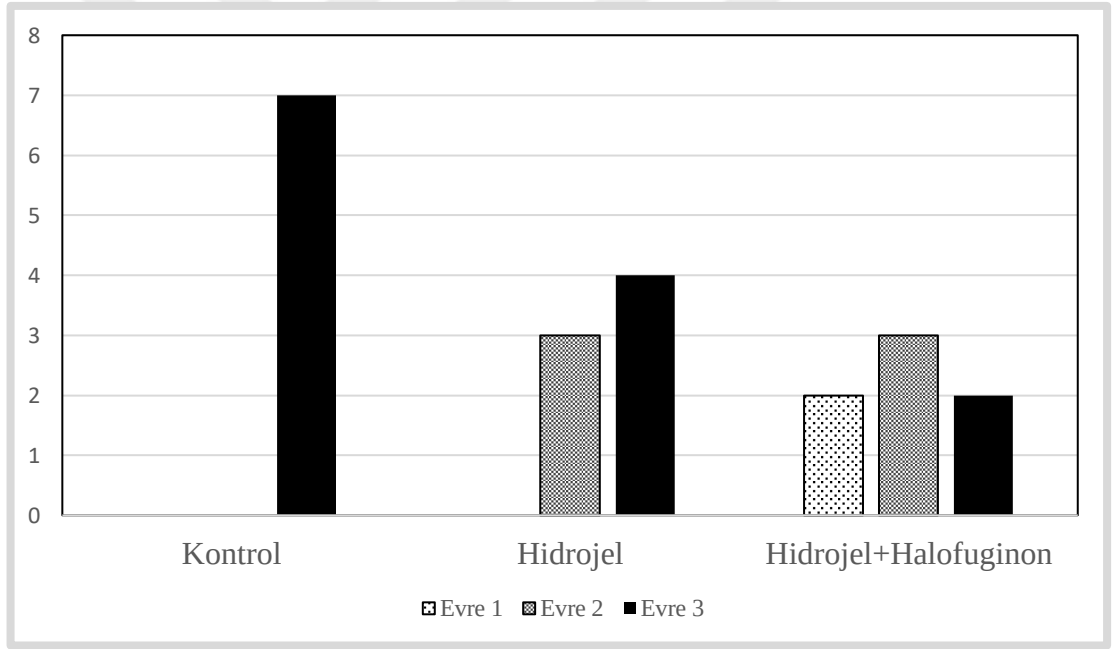
Tablo 8 Ki-kare testi sonuçları

Fibrozis adezyon derecelendirilmesinin evrelemesinde gruplar arasında yapılan ki-kare testi sonuçlarına göre ki-kare anlamlılık testi p değeri 0.016 bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlıdır.

Karşılaştırma	Test istatistiği (Ki-kare)	s.d.	p değeri	p_adjusted
S1 - S2		2		
S1 - S3	7.7778	2	0.020*	0.041
S2 - S3	2.6667	2	0.264	0.527

Tablo 9 Gruplar arası ki-kare testi sonuçları

Fibrozis adezyon derecelendirilmesinin evrelemesinde gruplar arasında yapılan ki-kare testi sonuçlarına göre kontrol grubu ve hidrojel + Halofuginon grubu arasında yapılan karşılaştırmada p değeri 0.020 bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



Tablo 10 Evrelerin gruplara göre dağılımı

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Toplumun büyük bir çoğunluğunda görülen, hayatının bir döneminde karşılaştığı ve üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonra hastaneye en sık ikinci başvuru sebebi bel ağrısıdır. En sık sebebi mekanik bel ağrısı olmakla birlikte her yaşta görülmektedir. En sık görülen grup olan genç çalışan nüfusun yaşam tarzı, çalışma koşulları ile sıklığı korelasyon göstermektedir. Radyolojik tanı yöntemlerinin gelişmesi ile birlikte bel ağrısının sebepleri çoğunlukla ortaya konulmaktadır.

Lomber disk hernisi bel ağrısı sebeplerinin %2-3'lük kısmını oluşturmaktadır ve bunların %5 ile %15 arasında değişen oranlarda cerrahi tedavi gerektirmektedir. Doğru tanı, doğru hasta seçimi, doğru endikasyon ve cerrahi yöntem ile tatmin edici sonuçların alındığı bir durumdur. Cerrahi sonrasında hastaların %15'inde görülen başarısız bel cerrahisi sendromu olarak tanımlanan, bel ve bacak ağrısının devam ettiği ve hatta şikayetlerin şiddetlendiği durum ortaya çıkmaktadır.

Başarısız bel cerrahisi sendromunun nedenleri arasında foraminal stenoz, yetersiz veya yanlış mesafeye uygulanan dekompresyon cerrahisi, instabilite, sinir köklerinin yaralanması, enfeksiyon ve epidural fibrozis bulunmaktadır.

Spinal cerrahi sonrasında nöral dokunun etrafında skar dokusunun oluşmasıyla hem mekanik etki ile irritasyon, bası ve vaskülarizasyonun bozulmasına bağlı olarak gelişen durum epidural fibrozis olarak adlandırılmaktadır. Epidural fibrozis oluşumunu engellemeye yönelik birçok klinik ve deneysel çalışma yapılmış olmasına rağmen klinik pratikte uygulanabilir bir sonuç elde edilememiştir.

1960'larda veteriner hekimlikte antiprotozoon ilaç geliştirme aşamasında ortaya çıkan, 1975'te ilk olarak tanımlanan Halofuginon, *Dichroa febrifuga* bitkisinden elde edilen februfigin isimli alkaloidin analogudur. 1990'larda düşük dozlarda tip 1 kollajen sentezini inhibe ettiği keşfedilmiştir (75, 76).

Bir çalışmada sıçanlarda intravenöz yoldan uygulandığında ilacın beyin dışında tüm dokulara dağıldığı gösterilmiştir. İlacın hiçbir metaboliti plazma veya dokularda ölçülememiştir. Sadece çok yüksek dozlarda toksik olduğu saptanmıştır (78).

Bu ilacın insanda ilk kullanımı Pines ve Nagler'in 1999'da yaptığı çalışmada yayınlanmıştır. Ekstraselüler matriksin oluşumunda görevli fibroblast fonksiyonlarının azalması ile anjiyogenez ve neovaskülarizasyonu baskılaması nedeniyle sistemik veya topikal uygulamada fibrozisi azalttığı gösterilmiş çalışmalar mevcuttur (28, 35, 79). Ciddi cilt fibrozu ve kontraktürleri ile karakterize keloidlerde, skleroderma, kutanöz kronik graft versus host hastalığına sahip bir hastalarda topikal yoldan uygulanmış ve ciltte kollajen sentezinde belirgin bir azalma olduğu gösterilmiştir (77,81). Gastrointestinal sistemi ilgilendiren fibrozis ile giden hastalıklarında ve bu sistemin kanserlerinde kullanılabileceğine dair çalışmalar mevcuttur (36). Progresif kas fonksiyonlarında ve miktarında azalma ve fibrozis ile karakterize Duchenne Muskuler Distrofi hastalığında antifibrotik tedavi olarak kullanılmasına yönelik çalışmalar da halen devam etmektedir (80).

Biz bu çalışmamızda daha önce sistemik, oral ve kısa süreli topikal uygulamalarda antifibrotik etkisi olduğu gösterilmiş Halofuginon isimli ilacı cerrahi sahaya hidrojel içine yerleştirilerek lokal olarak antifibrotik etkisini araştırmayı amaçladık. 21 adet sıçan eşit üç gruba ayrılarak yapılan deneyde kontrol grubunda yoğun fibrozis ile birlikte dura matere adezyon derecesinin evre 3 olduğunu, hidrojel grubunda mekanik bir bariyer oluşarak kontrol grubuna nispeten yapışıklığın az olduğu ve fibroz dokunun dağılımının düşük olduğunu gördük.

Hidrojel içine yerleştirilmiş olan ve hücre kültüründe yapılan sitotoksosite çalışmalarında fibroblast aktivitesinin %50'sini baskılayacak kadar konulan Halofuginon dozu ile yapılan deneylerde, adezyon derecesi evrelemesinde diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu saptadık. Fibroz dokunun dağılımının yine hidrojel grubunda olduğu gibi düşük olduğunu gördük.

Ayrıca Halofuginon yerleştirilen grupta dikkate değer biçimde dokunun vaskülarizasyonunda artış ve aktif osteoblastların olduğunu gördük.

Fibrozis alanlarının hesaplanmasında her üç grupta farklı üç bölge belirlenerek ve bunların ortalama milimetre kare cinsinden alınan değerleri istatistiksel olarak karşılaştırdığımızda anlamlı fark olmadığı saptadık.

Halofuginon verilen grubun histolojik değerlendirme sonuçları göz önüne alındığında epidural fibrozis oluşumunun, fibrotik doku dağılımının ve yapısal karakterinin daha selim olduğuna dair bulgular söz konusudur. Adezyon derecesine göre yapılan evreleme sonuçlarının klinik olarak epidural fibrozis alan ölçümünden daha önemli olduğunu düşünmekteyiz. Epidural fibrozis çalışmamızda nöral doku etrafındaki kollajen fibril oluşumu ve paravertebral adele ile sinir köklerine doğru uzanan adezyon oluşumu değerlendirilerek yapılan evreleme insanda oluşan epidural fibroze bağlı klinik bulguları daha iyi temsil etmektedir. Bu nedenle çalışmanın değerlendirilmesinde iki bağımsız histolog tarafından yapılan evrelendirme epidural fibrozis alan ölçümünden her ne kadar non-parametrik olsa da daha değerli kabul edilmiştir.

Her üç grupta da deneklerde herhangi bir nörolojik hasar, yara yeri enfeksiyonu görmedik. BOS kaçağına rastlamadık. Yara yerinin iyileşmesi konusunda da her üç grupta farklılık görmedik. Halofuginon'un tip 2 ve tip 3 kollajen sentezini etkilemediğinden yara iyileşmesinin yeterli düzeyde olduğunun başka bir kanıtı olduğunu gördük (31).

Literatür taramasında cerrahi sahaya lokal olarak uygulanıp uzun süre sahada kalabilecek doz konusunda herhangi bir çalışma olmayıp, bizim çalışmamız bir ilk olmaktadır. Daha sonraki çalışmalar için deneyimizde kullandığımız Halofuginon dozundan farklı miktarlarda epidural fibrozisin önlenmesine yönelik çalışmalara önayak olabileceğini düşünmekteyiz. Ancak klinik pratikte epidural fibrozisi ve adezyonu azaltmak adına hiç şüphesiz ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Standring, S. (Ed). (2016). Gray's Anatomy the Anatomical Basis of Clinical Practice, 41th edition, s 714-715, Elsevier
2. Paulsen, F. ve Waschke, J. (Ed). (2013). Sobotta Atlas of Human Anatomy, 15th edition, fig 708-710, Elsevier
3. Netter, F. (2019). Atlas of Human Anatomy, 7th edition, plate 164, Elsevier
4. Netter, F. (2019). Atlas of Human Anatomy, 7th edition, plate 163, Elsevier
5. Şar, C. (2002). Lomber omurganın anatomisi, biyomekaniği ve biyokimyası. E. Özcan ve A. Ketenci (Ed.), Bel Ağrısı, Tanı ve Tedavi, s 13, Nobel Kitabevi
6. Netter, F. (2019). Atlas of Human Anatomy, 7th edition, plate 168, Elsevier
7. Netter, F. (2019). Atlas of Human Anatomy, 7th edition, plate 167, Elsevier
8. Adams, MA. ve Hutton, W. (1981). The relevance of torsion to the mechanical derangement of the lumbar spine. Spine 6 (3): 241-248, DOI: 10.1097/00007632-198105000-00006
9. Standring, S. (Ed). (2016). Gray's Anatomy the Anatomical Basis of Clinical Practice, 41th edition, s 733, Elsevier
10. Standring, S. (Ed). (2016). Gray's Anatomy the Anatomical Basis of Clinical Practice, 41th edition, s 717, Elsevier
11. Netter, F. (2019). Atlas of Human Anatomy, 7th edition, plate 178, Elsevier
12. Love, J. G. (1966). Laminectomy for the Removal of Spinal Cord Tumors, Journal of Neurosurgery, 25(1), 116-121. <https://doi.org/10.3171/jns.1966.25.1.0116>
13. Estefan, M. ve Camino Willhuber, GO (2021). Laminectomy. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. PMID: 31194414
14. Estefan, M. ve Camino Willhuber, GO (2021). Laminectomy. [Updated 2021 Jul 31]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. [Figure, Figure A) Normal posterior vertebral...] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542274/figure/article-24013.image.f1/>

15. Fu, Yi-Shan., Zeng, Bing-Fang. ve Xu, Jian-Guang. (2008). Long-term Outcomes of Two Different Decompressive Techniques for Lumbar Spinal Stenosis, *Spine*: Volume 33- Issue 5- s 514-518. doi: 10.1097/BRS.0b013e3181657dde
16. Lee, C. K. (1983). Lumbar spinal instability (olisthesis) after extensive posterior spinal decompression. *Spine*, 8(4), s 429–433. <https://doi.org/10.1097/00007632-198305000-00014>
17. Baker, G. A., Cizik, A. M., Bransford, R. J., Bellabarba, C., Konodi, M. A., Chapman, J. R., & Lee, M. J. (2012). Risk factors for unintended durotomy during spine surgery: a multivariate analysis. *The spine journal : official journal of the North American Spine Society*, 12(2), 121–126. <https://doi.org/10.1016/j.spinee.2012.01.012>
18. Wilkinson H.A. (1992). The Role of Improper Surgery in the Etiology of the Failed Back Syndrome. In: *The Failed Back Syndrome*. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4394-6_2
19. Waddell, G. (1987). Failure of disc surgery and repeat surgery, *Acta Orthop. Belg.* 53:300-302.
20. Gill, K., Frymoyer, JW. (1997). Management of treatment failures after decompressive surgery, In Frymoyer JW (ed), *The Adult Spine, Principles and Practice*, 2nd Ed, Lippincott-Raven Publ. Philadelphia, 2111-2133.
21. Jiang, S., Zeng, Q., Gettayacamin, M. (2005). Antimalarial Activities and Therapeutic Properties of Febrifugine Analogs. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 49(3):1169-76.
22. Pines, M. ve Spector, I. (2015). Halofuginone — The Multifaceted Molecule, *Molecules*, 20(1), 573-594.
23. Pines, M., Vlodavsky, I. ve Nagler, A. (2000). Halofuginone: From veterinary use to human therapy. *Drug Develop Res* 50, 371-8.
24. Karakoyun, B., Yüksel, M., Ercan, F., Salva, E., Iğik, I. ve Yegen, BC. (2010). Halofuginone, a specific inhibitor of collagen type 1 synthesis, ameliorates oxidant colonic damage in rats with experimental colitis. *Dig Dis Sci*, 55,607-16.

25. Jordan, MC. ve Zeplin, PH. (2012). Local inhibition of angiogenesis by halofuginone coated silicone materials. *J Mater Sci Mater Med*, 23,1203-10.
26. Liang, J., Zhang, B., Shen, RW., Liu, JB., Gao, MH., Li, Y., Li, YY. ve Zhang, W. (2013). Preventive effect of halofuginone on concanavalin A-induced liver fibrosis. *PLoS One*, 8,e82232.
27. Jin, C., Jia, Y., Jin, C., Dong, H., Cheng, P., Zhou, J., Wang, Y., Zheng, B. ve Liu, F. (2014). Therapeutic effect of Halofuginone on ITP mice by regulating the differentiation of Th cell subsets. *Int immunopharmacol*, 18,213-6.
28. Pines, M., Domb, A. ve Ohana, M. (2001). Reduction in dermal fibrosis in the tight-skin (Tsk) mouse after local application of halofuginone. *Biochem Pharmacol*;62:1221-27.
29. Luo, L., Gao, Y., Yang, C., Shao, Z., Wu, X., Li, S., Xiong, L. ve Chen, C. (2018). Halofuginone attenuates intervertebral discs degeneration by suppressing collagen I production and inactivating TGF β and NF- κ B pathway. *Biomed Pharmacother.*;101:745-753. doi: 10.1016/j.biopha.2018.01.100. Epub 2018 Mar 22. PMID: 29524883.
30. Granot, I., Halevy, O., Hurwitz, S. ve Pines, M. (1993). Halofuginone: an inhibitor of collagen type I synthesis. *Biochim Biophys Acta* ;1156: 107–112.
31. Pines, M. ve Nagler, A. (1998). Halofuginone: a novel antifibrotic therapy. *Gen. Pharmacol*;30: 445–450.
32. Elkin, M., Reich, R. ve Nagler, A. (1999). Inhibition of matrix metalloproteinase-2 expression and bladder carcinoma metastasis by halofuginone. *Clin.Cancer Res* 5, 1982–1988.
33. Pines, M., Knopov, V., Genina, O., Lavelin, I. ve Nagler, A. (1997). Halofuginone, a specific inhibitor of collagen type I synthesis, prevents dimethylnitrosamine-induced liver cirrhosis. *J Hepatol*, 27,391-8.
34. Luo, L., Gao, Y., Yang, C., Shao, Z., Wu, X., Li, S., Xiong, L. ve Chen, C. (2018). Halofuginone attenuates intervertebral discs degeneration by suppressing collagen I production and inactivating TGF β and NF- κ B pathway. *Biomed Pharmacother.* 101:745-753. doi: 10.1016/j.biopha.2018.01.100. Epub 2018 Mar 22. PMID: 29524883.

35. McGaha, TL., Phelps, RG., Spiera, H. ve Bona, C. (2002). Halofuginone, an inhibitor of type-I collagen synthesis and skin sclerosis, blocks transforming-growth-factor- β -mediated Smad3 activation in fibroblasts. *J Invest Dermatol*, 118,461-70.
36. Pines, M. (2014). Halofuginone for fibrosis, regeneration and cancer in the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 20,14778-86.
37. Flavia, M. Savi. (2017). Comparison of Different Decalcification Methods Using Rat Mandibles as a Model, *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* Vol. 65(12) 705 –722.
38. Kevin, M. Waters. (2019). Evaluation of Peritumoral Fibrosis in Metastatic Colorectal Adenocarcinoma to the Liver Using Digital Image Analysis, *Am J Clin Pathol*;151:226-230.
39. Like, Luo. (2015). Effects of rapamycin on reduction of peridural fibrosis: an experimental study. *Med Sci Monit* 13;21:482-8. doi: 10.12659/MSM.893165
40. Sabuncuoglu, H., Bavbek, M., Gürpınar, A., Onur, MA., Köse, K. Ve Sabuncuoğlu, B. (2008). Laminektomi Sonrası Gelişen Epidural Fibrozisin Önlenmesi Üzerine Cis-4-Hidroksi-L-Prolin'in Etkileri, *The Journal of Turkish Spinal Surgery* 19(4): 355-372.
41. Gerszten, P. C., Moossy, J. J., Flickinger, J. C., Gerszten, K., Kalend, A., ve Martínez, A. J. (2000). Inhibition of peridural fibrosis after laminectomy using low-dose external beam radiation in a dog model. *Neurosurgery*, 46(6), 1478–1485. <https://doi.org/10.1097/00006123-200006000-00033>
42. Walker B. F. (2000). The prevalence of low back pain: a systematic review of the literature from 1966 to 1998. *Journal of spinal disorders*, 13(3), 205–217. <https://doi.org/10.1097/00002517-200006000-00003>.
43. Freburger, J. K., Holmes, G. M., Agans, R. P., Jackman, A. M., Darter, J. D., Wallace, A. S., Castel, L. D., Kalsbeek, W. D., ve Carey, T. S. (2009). The rising prevalence of chronic low back pain. *Archives of internal medicine*, 169(3), 251–258. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2008.543>.

44. Suk, K. S., Lee, H. M., Moon, S. H., ve Kim, N. H. (2001). Recurrent lumbar disc herniation: results of operative management. *Spine*, 26(6), 672–676. <https://doi.org/10.1097/00007632-200103150-00024> .
45. Swartz, K. R., ve Trost, G. R. (2003). Recurrent lumbar disc herniation. *Neurosurgicalfocus*, 15(3)E10. <https://doi.org/10.3171/foc.2003.15.3.10> .
46. Connolly, E. S. (1992). Surgery for recurrent lumbar disc herniation. *Clinical neurosurgery*, 39, 211–216.
47. Fandiño, J., Botana, C., Viladrich, A. ve Gomez-Bueno, J. (1993). Reoperation after lumbar disc surgery: results in 130 cases. *Acta Neurochir (Wien)*;122:102-4.
48. Mobbs, R. J., Newcombe, R. L., & Chandran, K. N. (2001). Lumbar discectomy and the diabetic patient: incidence and outcome. *Journal of clinical neuroscience: official journal of the Neurosurgical Society of Australasia*, 8(1), 10–13. <https://doi.org/10.1054/jocn.2000.0682> .
49. Berker, E. (2002). Başarısız Bel Cerrahisi Sendromu. E. Özcan ve A. Ketenci (ed), *Bel Ağrısı, Tanı ve Tedavi*, sy 51-56, Nobel Kitabevi.
50. Keller, J. T., Dunsker, S. B., McWhorter, J. M., Ongkiko, C. M., Saunders, M. C., ve Mayfield, F. H. (1978). The fate of autogenous grafts to the spinal dura, *Journal of Neurosurgery*, 49(3), 412-418. <https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg/49/3/article-p412.xml>
51. Nort, RB., Campbell, JN., James, CS., Walker, MKC., Wang, H., Piantadosi, S., Rybock, JD. ve Long, DM. (1991). Failed back surgery syndrome: 5 year follow up in 102 patients undergoing repeated operation. *Neurosurgery*; 28 (5): 685-691.
52. Nussbaum, CE., McDonald, JV. ve Baggs, RB. (1990). Use of vicryl (polyglactin 910) mesh to limit epidural scar formation after laminectomy. *Neurosurgery*; 26: 649-654.

53. Richards, P. J., Turner, A. S., Gisler, S. M., Kraft, S., Nuss, K., Mark, S., Seim, H. B., 3rd. ve Schense, J. (2010). Reduction in postlaminectomy epidural adhesions in sheep using a fibrin sealant-based medicated adhesion barrier. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, 92(2), 439–446. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31533>
54. Vaquero, J., Arias, A., Oya, S., Martinez, R., ve Zurita, M. (1993). Effect of fibrin glue on postlaminectomy scar formation. *Acta neurochirurgica*, 120(3-4), 159–163. <https://doi.org/10.1007/BF02112036>
55. Einhaus, S. L., Robertson, J. T., Dohan, F. C., Jr, Wujek, J. R., ve Ahmad, S. (1997). Reduction of peridural fibrosis after lumbar laminotomy and discectomy in dogs by a resorbable gel (ADCON-L). *Spine*, 22(13), 1440–1447. <https://doi.org/10.1097/00007632-199707010-00003>
56. Palatinkys, E., Ahmad, S., Majer, K., Hingson, M., Touhalisky, D. ve Coker, G. (1994). ADCON-L inhibits epidural fibrosis in a rabbit laminectomy model. *American Association of Neurological Surgeons and Congress of Neurological Surgeons, Florida, February 9-12.*
57. Petrie, J.L. Ve Ross, J.S. (1996). Use of ADCON-L to inhibit postoperative fibrosis and related symptoms following lumbar disc surgery: A preliminary report. *Eur Spine J*, 5 (Suppl.1): 10-17.
58. Demirel, E., Yildiz, K., Çadirci, K., Aygün, H., Şenocak, E., ve Gündoğdu, B. (2018). Effect of platelet-rich fibrin on epidural fibrosis and comparison to ADCON® Gel and hyaluronic acid. *Acta orthopaedica et traumatologica turcica*, 52(6), 469–474. <https://doi.org/10.1016/j.aott.2018.07.005>
59. Feng, M.X. ve Hong, D. (2015). Update on prevention of epidural adhesion after lumbar laminectomy. *Zhongguo Gu Shang*. Nov;28(11):1064-8. Chinese. PMID: 26757539.
60. Alkalay, R. N., Kim, D. H., Urry, D. W., Xu, J., Parker, T. M., ve Glazer, P. A. (2003). Prevention of postlaminectomy epidural fibrosis using bioelastic materials. *Spine*, 28(15), 1659–1665. <https://doi.org/10.1097/01.BRS.0000083161.67605.40>

61. Kuivila, T. E., Berry, J. L., Bell, G. R., & Steffee, A. D. (1988). Heparinized materials for control of the formation of the laminectomy membrane in experimental laminectomies in dogs. *Clinical orthopaedics and related research*, (236), 166–174.
62. Selçuklu, A., Paşaoğlu, A., Akdemir, H., Kurtsoy, A. ve Patıroğlu, T. E. (1993). Urokinase for control of scar formation after laminectomy. *Spine*, 18(1), 165–168. <https://doi.org/10.1097/00007632-199301000-00023>
63. Aydınçak, Ö. (2007). Ratlarda lomber laminektomi sonrası ortaya çıkan epidural fibrozisin önlenmesinde Temozolomid'in etkisi. Gazi Üniversitesi, Ankara.
64. Öztürk, M. (1998). Fibrin Glue'nun spinal epidural fibrozis üzerine etkisi ve dura matere adezyonunun hidropatolojik olarak incelenmesi (tavşan modeli). Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
65. Börcek, A. (2009). Ratlarda lomber laminektomi sonrası oluşan epifural fibrozisin engellenmesinde hiperbarik oksijen tedavisinin etkinliği. Gazi Üniversitesi, Ankara.
66. Doğulu, F., Kurt, G., Emmez, H., Erdem, O., Memiş, L., Baykaner, K., ve Çeviker, N. (2003). Topical mitomycin C-induced inhibition of postlaminectomy peridural fibrosis in rabbits. *Journal of neurosurgery*, 99(1 Suppl), 76–79. <https://doi.org/10.3171/spi.2003.99.1.0076>
67. Lee, J. Y., Stenzel, W., Ebel, H., Wedekind, C., Ernestus, R. I., ve Klug, N. (2004). Mitomycin C in preventing spinal epidural fibrosis in a laminectomy model in rats. *Journal of neurosurgery*, 100(1 Suppl Spine), 52–55. <https://doi.org/10.3171/spi.2004.100.1.0052>
68. Lee, J. Y., Stenzel, W., Löhr, M., Stützer, H., Ernestus, R. I., ve Klug, N. (2006). The role of mitomycin C in reducing recurrence of epidural fibrosis after repeated operation in a laminectomy model in rats. *Journal of neurosurgery. Spine*, 4(4), 329–333. <https://doi.org/10.3171/spi.2006.4.4.329>

69. Yıldız, K. H., Gezen, F., Is, M., Çukur, S., ve Döşoğlu, M. (2007). Mitomycin C, 5-fluorouracil, and cyclosporin A prevent epidural fibrosis in an experimental laminectomy model. *European spine journal*, 16(9), 1525–1530. <https://doi.org/10.1007/s00586-007-0344-8>
70. Kurt G, (2002). Lomber laminektomi sonrası ortaya çıkan peridural fibrozisin önlenmesinde ADCON-L ve 5-Fluorourasilin etkinliklerinin karşılaştırılması., Gazi Üniversitesi, Ankara.
71. Gill, G. G., Sakovich, L., ve Thompson, E. (1979). Pedicle fat grafts for the prevention of scar formation after laminectomy. An experimental study in dogs. *Spine*, 4(2), 176–186. <https://doi.org/10.1097/00007632-197903000-00016>
72. Songer, M. N., Ghosh, L., ve Spencer, D. L. (1990). Effects of sodium hyaluronate on peridural fibrosis after lumbar laminotomy and discectomy. *Spine*, 15(6), 550–554. <https://doi.org/10.1097/00007632-199006000-00022>
73. Trotter, E. J., Crissman, J., Robson, D., ve Babish, J. (1988). Influence of nonbiologic implants on laminectomy membrane formation in dogs. *American journal of veterinary research*, 49(5), 634–643.
74. Caner, H., Altınörs, N., Albayrak, A. ve Çalışaneller, T. (1996). Use of gore-tex in neurosurgical practice. *Turkish Neurosurgery* 6: 108-110.
75. Choi, E. T., Callow, A. D., Sehgal, N. L., Brown, D. M., & Ryan, U. S. (1995). Halofuginone, a specific collagen type I inhibitor, reduces anastomotic intimal hyperplasia. *Archives of surgery (Chicago, Ill.: 1960)*, 130(3), 257–261. <https://doi.org/10.1001/archsurg.1995.01430030027004>
76. Granot, I., Halevy, O., Hurwitz, S., ve Pines, M. (1993). Halofuginone: an inhibitor of collagen type I synthesis. *Biochimica et biophysica acta*, 1156(2), 107–112. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(93\)90123-p](https://doi.org/10.1016/0304-4165(93)90123-p)
77. Nagler, A., ve Pines, M. (1999). Topical treatment of cutaneous chronic graft versus host disease with halofuginone: a novel inhibitor of collagen type I synthesis. *Transplantation*, 68(11), 1806–1809. <https://doi.org/10.1097/00007890-199912150-00027>

78. Steckclair, K. P., Hamburger, D. R., Egorin, M. J., Parise, R. A., Covey, J. M., ve Eiseman, J. L. (2001). Pharmacokinetics and tissue distribution of halofuginone (NSC 713205) in CD2F1 mice and Fischer 344 rats. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 48(5), 375–382. <https://doi.org/10.1007/s002800100367>
79. Nyska, M., Nyska, A., Rivlin, E., Porat, S., Pines, M., Shoshan, S., ve Nagler, A. (1996). Topically applied halofuginone, an inhibitor of collagen type I transcription, reduces peritendinous fibrous adhesions following surgery. *Connective tissue research*, 34(2), 97–103. <https://doi.org/10.3109/03008209609021495>
80. Mordechay, S., Smullen, S., Evans, P., Genin, O., Pines, M., ve Halevy, O. (2021). Differential Effects of Halofuginone Enantiomers on Muscle Fibrosis and Histopathology in Duchenne Muscular Dystrophy. *International journal of molecular sciences*, 22(13), 7063. <https://doi.org/10.3390/ijms22137063>
81. Marty, P., Chatelain, B., Lihoreau, T., Tissot, M., Dirand, Z., Humbert, P., Senez, C., Secomandi, E., Isidoro, C., ve Rolin, G. (2021). Halofuginone regulates keloid fibroblast fibrotic response to TGF- β induction. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 135, 111182. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111182>
82. Kumar, V. Abbas, A. ve Aster, J. (ed). (2018). *Inflammation and Repair*, Robins Basic Pathology Tenth Edition, Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier,