

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**ENSTRÜMANTASYONLU VE ENSTRÜMANTASYONSUZ
OMURGA CERRAHİSİ UYGULAMALARINDA OLUŞAN
FÜZYONUN RADYOLOJİK VE HİSTOLOJİK OLARAK
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Mehmet EROĞLU

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. R. Emre ACAROĞLU**

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA
2009**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden her zaman çok şey öğrendiğim, asistanı olmaktan onur duyduğum ve mesleki yaklaşımlarını kendime örnek aldığım çok değerli hocam Prof. Dr. R.Emre Acaroğlu'na,

Yardımlarını esirgemeyen Dr.Mehmet Ayvaz'a,

Histolojik ve istatistiksel değerlendirme aşamalarında gecesini gündüzüne katarak yardımını esirgemeyen hocam Doç.Dr.Petek Korkusuz'a,

Radyolojik değerlendirme sırasında yardımcı olabilmek için gösterdikleri gayretlerinden dolayı Prof. Dr.H.Hamdi Çelik'e ve Dr. İlkan Tatar'a,

İstatistiksel değerlendirme aşamasında sıkça verdiğim rahatsızlıklara rağmen sabırla yardımcı olan Prof. Dr. Osman Saraçbaşı ve Öğr.Gör. Dr. Erdem Karabulut'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgileri, yaklaşımları, deneyimleri ve etik değerlerinden birçok kazanım elde ettiğim başta anabilim dalı başkanımız Prof.Dr.Mümtaz Alpaslan olmak üzere bölümümüzdeki tüm hocalarıma,

Bugünlere gelmemde harcadıkları emeklerini ödeyemeyeceğim anneme ve babama,

Uzmanlık eğitimim boyunca sevgisi, sabrı ve en içten yardımları ile en zor zamanlarımda daima yanımda olan biricik hayat arkadaşım Selma Eroğlu'na,

Geçen yıllar içinde bazen yeterince ilgilenemediğim ama zor zamanlarımda ufacık bir gülüşü ve konuşmasıyla sıkıntılarımın geçmesine neden olan biricik oğlum Eren Eroğlu'na,

Teşekkür ederim.

Dr.Mehmet Eroğlu

Bu tez çalışması Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

Mehmet Eroğlu, Enstrümantasyonlu ve enstrümantasyonsuz omurga cerrahisi uygulamalarında oluşan füzyonun radyolojik ve histolojik olarak karşılaştırılması , Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2009. Omurga cerrahisinde uygulanan enstrümantasyonlu ve enstrümantasyonsuz füzyonlardaki iyileşme süreçleri arasındaki farkların ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu çalışmada, rat modelinde izole posterior spinal füzyon uygulanmıştır. Yirmiyedi adet erkek Wistar rat kullanılmış; 12 tanesinde L1-L2 segmentleri arasına interspinöz fiksasyon uygulanırken, L4-L5 segmentlerine enstrümantasyon uygulanmamıştır. Diğer 12 ratta ise L4-L5 interspinöz fiksasyon uygulanırken, L1-L2 segmentleri arasına enstrümantasyonsuz füzyon uygulanmıştır. Her iki grupta da enstrümantate edilen ve edilmeyen segmentlere iliak kanattan alınan otogreft yerleştirilmiştir. Her iki gruptan üçer rat 1, 3, 6 ve 12. haftalarda öldürülerek çıkarılan vertebral kolonları, enstrümantasyonlu ve enstrümantasyonsuz füzyonun nitelikleri açısından mikro-bilgisayarlı tomografik ve histolojik olarak incelenmiştir. Radyolojik açıdan bu rat modelinde füzyon oluşumu gözlenirken, oluşan füzyon nitelikleri arasında enstrümantate edilen ve enstrümantate edilmeyen durumlarda istatistiksel olarak anlamlı fark gösterilememiştir. Histolojik olarak yapılan değerlendirmede de bu iki grup arasında iyileşme özellikleri açısından anlamlı fark gösterilememiştir. Sonuç olarak; hem enstrümantate edilen hem de enstrümantate edilmeyen gruplarda benzer şekilde ve oranlarda füzyon oluştuğu ve transvers çıkıntılar, laminalar, spinöz çıkıntılar gibi kemik-kemik temasının olduğu bölgelerde intramembranöz kemikleşme görülürken, tam temasın olmadığı yerlerde esas hakim olan kaynama şeklinin endokondral kemikleşme olduğu düşünölmüştür. Bu çalışmanın daha gelişmiş türlerde veya daha kalabalık deney gruplarında tekrarlanması yararlı olabilir.

Anahtar kelimeler: spinal füzyon, enstrümantasyon, kemikleşme, intramembranöz, endokondral

Destekleyen Kuruluşlar: Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi

ABSTRACT

Mehmet Eroğlu, Radiologic and histological comparison of the fusion mass achieved in instrumented and noninstrumented spinal surgeries, Department of Orthopaedics and Traumatology, Thesis, Ankara, 2009

The aim of the study was to detect the differences in healing processes of the instrumented and noninstrumented spinal fusions. In this study a rat model of isolated posterior spinal fusion was used. Twenty-seven male Wistar rats were operated; in 12 of those interspinous process wiring was performed to stabilize the L1-L2 segments and L4-L5 segments were not stabilized. In the other 12 rats, interspinous process wiring was performed to stabilize the L4-L5 segments and L1-L2 segments were not stabilized. In both groups the graft harvested from iliac wings were placed into both instrumented and noninstrumented sites. Three rats from each group were killed at weeks 1,3,6 and 12; and the removed vertebral columns were investigated, both histologically and radiologically, for the properties of instrumented and noninstrumented spinal fusion. In this model fusion was observed radiologically but no statistically significant differences, between the radiological properties of instrumented and noninstrumented fusions could be seen. Also in the histological examination, no statistically significant differences in terms of healing features could be shown between two groups. As a result, it was thought that in both the instrumented and noninstrumented groups the healing processes and the rates of fusion development were similar; and intramembranous ossification was observed in the areas (e.g., transverse processes, laminae and spinous processes) where direct bone to bone contact is present, while in the areas where direct contact is absent endochondral ossification was the predominant healing process. It would be better to repeat this study in more crowded groups or more developed species to obtain more accurate data.

Key words: spinal fusion, instrumentation, ossification, intramembranous, endochondral

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	ix
TABLULAR	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. FÜZYON OLUŞUMUNDA ETKİLİ OLAN FAKTÖRLER	4
2.1.1. Spinal Füzyon Bölgesine Ait Faktörler	6
2.1.2. Greft Materyaline Bağlı Faktörler	10
2.1.2.1. Otojen kemik greftlemesi	13
2.1.2.1.1. Kansellöz kemik greftleri	14
2.1.2.1.2. Kortikal (destek) greftleri	14
2.1.2.1.3. Morselize kortikal kemik greftleri	14
2.1.2.1.4. Otojen kortikokansellöz kemik	15
2.1.2.1.5. Serbest vaskülarize kortikal greftler	15
2.1.2.2. Allogreftler	15
2.1.2.3. Demineralize kemik matriksi (DKM)	16
2.1.2.4. Biyosentetik materyaller	16
2.1.2.5. Kemik grefti yerine geçen materyaller	17
2.1.2.6. Spinal füzyonda büyüme faktörleri ve gen tedavisi	17
2.1.2.7. Spinal füzyonlarda saflaştırılmış KMP kullanımı	17
2.1.2.8. Spinal füzyonlarda rekombinant KMP kullanımı	17
2.1.2.9. Spinal füzyonlarda gen tedavisi	18
2.1.2.10. Spinal füzyonun biyofiziksel güçlendirilmesi	18

2.1.2.11. Ultrason ile stimülasyonun spinal füzyonda kullanımı	18
2.1.3. Spinal Füzyonu Etkileyen Sistemik Faktörler	19
2.1.4. Spinal Füzyonu Etkileyen Lokal Faktörler	20
2.2. KIRIK KAYNAMASI TİPLERİ VE AŞAMALARI	24
2.2.1. İnflamasyon	24
2.2.2. Tamir ve Yeniden Şekillenme	25
2.2.2.1. Rijit Olarak Tespit Edilmeyen Kırıklar	25
2.2.2.2. Rijit Olarak Tespit Edilen Kırıklar	26
2.3. SPİNAL FÜZYONDA HAYVAN MODELLERİNİN KULLANIMI	28
2.4. SPİNAL FÜZYONDA İYİLEŞME MODELİ	29
2.5. SPİNAL FÜZYON OLUŞUMUNUN RADYOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ	34
2.6. SPİNAL FÜZYON OLUŞUMUNUN HİSTOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ	34
3. MATERYAL VE METOD	36
3.1. Cerrahi İşlemler	36
3.2. Radyolojik İnceleme	40
3.3. Histolojik İnceleme	40
3.4. İstatistiksel İnceleme	44
4. BULGULAR	45
4.1. Füzyon Oranları	45
4.2. Radyoloji (Mikro-bilgisayarlı tomografi)	49
4.3. Histoloji ve Histomorfometri	53
5. TARTIŞMA	59
5.1. Füzyon Oranlarının Karşılaştırılması	59
5.2. İyileşme Taslağı Farkı	67
5.3. Çalışmanın Avantaj ve Dezavantajları	72
6. SONUÇLAR	74
7. KAYNAKLAR	75

KISALTMALAR

- ABD** : Amerika Birleşik Devletleri
KMP: Kemik morfojenik protein
DKM: Demineralize kemik matriksi
NSAİİ:Nonsteroidal (steroid dışı) antiinflamatuvar ilaçlar
vb: ve benzeri
TKBF: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
EBF: Epidermal büyüme faktörü
tFBF (FBF-2): Temel fibroblast büyüme faktörü
bFBF: Bazik fibroblast büyüme faktörü
IBF: İnsülin benzeri büyüme faktörü
VEBF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
DBF-β: Dönüştürücü (transforming) büyüme faktörü-β, (TGF-β)
BFF: Büyüme farklılaşma faktörleri
ri KMP: Rekombinant insan kemik morfojenik proteini
PTH: Paratiroid hormon
ADH: Antidiüretik hormon
GAG: Glikozaminoglikan
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
BT: Bilgisayarlı tomografi
MR: Manyetik rezonans
PBS: Fosfat tampon çözeltisi
HE: Hematoksilen eozin
MT: Masson trikrom
MM: Metilen mavisi
ANOVA: Varyans analizi
TV :Toplam doku hacmi
BV: Kemik hacmi
BV/TV: Bağlı kemik hacmi

ŞEKİLLER**Sayfa**

Şekil 3.1: Cerrahi İşlem. A) Anestezi sonrası rata ameliyat için pozisyon verilmesi, B)Posterior orta hat insizyonla girildikten sonra posterior vertebral yapıların eksplore edilmesi.	37
Şekil 3.2: Cerrahi İşlem. A)Posterior dekortikasyon sonrası görünüm B)Paravertebral kaslar transekte edilerek iliak kanatlara ulaşılması.	37
Şekil 3.3: Cerrahi İşlem. A,B,C) Dekortike edilmiş yüzeyler ve interspinöz telleme D,E) İliak kanattan alınan greftlerin parçalanıp füzyon planlanan bölgeye yerleştirilmesi.	39
Şekil 4.1: Bakılan histolojik ve radyolojik parametrelerin dört zaman dilimindeki değişimlerine ait grafikler.	46
Şekil 4.1 (Devamı): Bakılan histolojik ve radyolojik parametrelerin dört zaman dilimindeki değişimlerine ait grafikler.	47
Şekil 4.2: Alınan mikro-bilgisayarlı tomografi kesitlerinden örnekler.	50
Şekil 4.3: 1,3,6 ve 12.haftalarda oluşmuş olan füzyon örneklerinden bazılarına ait üç boyutlu rekonstrüksiyonlar.	51
Şekil 4.3 (Devamı): 1,3,6 ve 12.haftalarda oluşmuş olan füzyon örneklerinden bazılarına ait üç boyutlu rekonstrüksiyonlar.	52
Şekil 4.4: Mikroskopik kesitler.	54
Şekil 4.5: Mikroskopik kesitler.	55
Şekil 4.6: Mikroskopik kesitler.	56
Şekil 4.7: Mikroskopik kesitler.	57

TABLULAR

	Sayfa
Tablo 2.1. Spinal füzyon sağlanmasında kullanılan yöntemler.	5
Tablo 2.2. Spinal füzyonun gelişimini etkileyen faktörler.	7
Tablo 2.3. Greft materyallerinin özellikleri.	11
Tablo 2.4. Greftlerin taşıdıkları özelliklerin karşılatırılması.	12
Tablo 2.5 . Kemik iyileşmesini etkileyen sistemik faktörler.	19
Tablo 2.6 . Kemik iyileşmesini etkileyen lokal faktörler .	21
Tablo 2.7 . Lenke sınıflandırmasına göre radyolojik değerlendirme.	34
Tablo 2.8 . Greft-vertebra cismi bileşkekelerindeki iyileşmenin histolojik evrelendirmesi (Emery evreleme sistemi).	35
Tablo 3.1. Histolojik ve radyolojik ölçümlerin sonuçları.	41
Tablo 3.1 (Devamı): Histolojik ve radyolojik ölçümlerin sonuçları.	42
Tablo 4.1. Ki-kare testi ile birinci haftada tespit edilen füzyon oranları.	48
Tablo 4.2. Ki-kare testi ile üçüncü haftada tespit edilen füzyon oranları.	48
Tablo 4.3. Ki-kare testi ile altıncı haftada tespit edilen füzyon oranları.	48
Tablo 4.4. Ki-kare testi ile onikinci haftada tespit edilen füzyon oranları.	49

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Vertebra cerrahisi, omurga instabilitelerinin tedavisi, omurga deformitelerinin düzeltilmesi ve ilerlemesinin önlenmesi amacıyla sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Vertebra cerrahisinin başarısı esas olarak füzyon oluşumuna bağlıdır. Son yıllarda vertebra cerrahisinde ortaya çıkan gelişmelerle, füzyon oluşumunun önemi giderek artmaktadır.

Vertebralarda füzyonu oluşturmak için, biyolojik ve mekanik faktörlere ihtiyaç vardır. Biyolojik faktörler; eklem kıkırdağının çıkarılması, dekortikasyon, greftleme ve füzyon uygulanan bölgenin hareketsiz bırakılmasıdır. Mekanik faktörler ise; vertebrayı tespit için kullanılan rot, plak, tel, kanca, alçı, korse ve cihaz gibi tespit araçlarıdır. Mekanik faktörler, füzyonu kolaylaştırmalarına rağmen, biyolojik faktörler olmaksızın tek başlarına füzyon oluşturamazlar [1].

Füzyonda en sık karşılaşılan komplikasyonlardan birisi, psödoartrozdur. Literatürde %5-35 arasında değişen oranlarda psödoartroz bildirilmiştir [2]. Füzyonun sağlam internal tespit ile mekanik olarak güçlendirilmesi, psödoartroz oluşmasını tamamen ortadan kaldıramamaktadır. Bu yüzden biyolojik faktörler giderek önem kazanmaktadır. Bunun yanında, biyolojik faktörlerden; özellikle kemik greftlerinin klinik düzeyde alternatiflerinin araştırılması için çalışmalar yapılmaktadır [1].

Uzun kemiklerde rijit internal tespit uygulanan kırıklarda birincil (intramembranöz- kallus oluşumu olmaksızın) iyileşme görülürken, internal tespit uygulanmayan kırıklarda ikincil (endokondral- kallus oluşumu ile birlikte) iyileşme taslağı görülmektedir [3]. Literatürde bazı kısıtlı çalışmalar olmasına rağmen vertebra ameliyatlarından sonra oluşmakta olan füzyon sürecinde de uzun kemiklerdeki iyileşme taslağı farklılığına benzer bir sonuç olup olmadığı halen tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır.

Bu çalışmadaki amacımız spinal füzyon oluşum sürecinde varsa mevcut iyileşme taslak farklarının ortaya konulması ve daha sonraki çalışmalarda bunların temel kabul edilerek iyileşme yollarının moleküler altyapısının daha iyi aydınlatılabilmesidir. Böylece tedavi seçeneklerindeki

biyolojik, mekanik ve biyofiziksel bütün gelişmelere rağmen halen önemli bir sorun olmaya devam eden psödoartrozu önleyebilmek için yeni yaklaşımların oluşturulabilmesi mümkün olacaktır.

Çalışmamızdan elde edilecek verilerle füzyon oluşumunu daha da kolaylaştırıp hızlandırmanın mümkün olup olmayacağı üzerinde durduk. Bunu incelemek için daha önceki yayınların bazılarında elde ettiğimiz ön bilgilere dayanarak birkaç amaç ortaya koyduk. Birinci amacımız; internal fiksasyon uygulanan vakalarda oluşan füzyon oranının artıp artmadığının tespit edilmesidir. Burada artmasının muhtemel olduğu hipotezini ele aldık. İkinci amacımız ise; uzun kemiklerdeki iyileşme taslağına benzer şekilde daha stabil bir ortam sağladığı için internal fiksasyonun uygulandığı grupta intramembranöz kemikleşme oluşup oluşmadığının tespit edilmesidir. Burada da intramembranöz kemikleşmenin artıyor olabileceği hipotezini ele aldık.

2. GENEL BİLGİLER

Spinal füzyon, cerrahi işlem sonrasında vertebralar arasında eklemi oluşturan kemik uçlarındaki kıkırdak yüzeylerin çıkarılarak, ortaya çıkan yüzeyler arasında temas sağlanması ve sonuçta bunların biyolojik süreçler sonrasında bütünleşerek kemik kaynamanın meydana gelmesi olarak tanımlanabilir. Vertebralar arasında kemik köprü veya destek sütunlar oluşturularak vertebraları blok halinde hareketsiz bırakma şeklinde de tanımlanmıştır. Omurga cerrahisinde ilk olarak füzyonsuz internal fiksasyon kullanılmıştır. Bazı cerrahların, füzyon kavramının önemi anlaşılana kadar tel kullanarak spinal fiksasyon yaptıkları bilinmektedir. İlk spinal fiksasyon Wilkins tarafından 1887 yılında, spinöz çıkıntıların tel ile tespiti şeklinde yapılmıştır [4]. Bunu ise Hadra'nın 1891 yılında servikal fraktürde uyguladığı C6-7 spinöz çıkıntı telleme işlemi izlemiştir [5]. 1909 yılında Münih'te Fritz Lang ilk defa çelik tel ve rod kullanarak spinal tespit yapmıştır [4]. Spinal füzyon ise ilk olarak 1911 yılında Dr.Albee ve Dr.Hibbs tarafından Pott hastalığı tedavisinde kullanılmıştır [4]. Burada tibiadan alınan greft iki spinöz çıkıntı arasına yerleştirilerek füzyon sağlanmıştır. Füzyonla sağlanan mekanik stabilite ile deformitenin ilerlemesini ve tüberküloz enfeksiyonunun yayılımını önlemek amaçlanmıştır [6, 7].

Omurga cerrahisinde ilk vidanın kullanımı ise 1944'de Don King tarafından faset vidalaması ile olmuştur. 1959'de ise Boucher bu tekniği geliştirerek pedikül vidalamasını tanımlamıştır [8]. Omurga cerrahisinde enstrümantasyon sistemlerinin yaygın kullanımı 1950'li yıllarda Paul Harrington sayesinde gerçekleşmiştir. 1963 yılında Roy Camille ilk defa pedikül vidalarını kullanmıştır. 1964 yılında Dwyer, anterior enstrümantasyon kullanarak anterior füzyon uygulamıştır [4]. 1970 yılında Eduardo Luque, sublaminar telle tespit uygulamasını yaygınlaştırmıştır. 1984 yılında ise Yves Cotrel ve Jean Dubousset, üç boyutlu düzeltme imkanı sağlayan yeni nesil spinal enstrümantasyon sistemini geliştirmişlerdir [4]. Spinal cerrahideki bu gelişim sürecinden de anlaşılacağı gibi elde edilen düzelmenin devam ettirilmesini sağlayacak olan füzyon oluşumunu, daha kolaylaştıracak ve daha sağlam olmasını sağlayacak enstrümanların kullanımı giderek artan bir

şekilde devam etmiş ve birçok yeni enstrüman geliştirilmiş, birçoğu da gelişen teknoloji ile birlikte modifiye edilmişlerdir.

Spinal füzyon oluşturmak amacıyla yapılan cerrahiler günümüzde skolyoz, kifoz, konjenital omurga anomalileri, kırıklar, dislokasyonlar, spondilolistezis ve intervertebral disk hastalıkları gibi birçok spinal deformitenin tedavisinde kullanılmaktadır. Yüzyılın başlarında Albee [6] ve Hibbs'in [7] yaptığı ilk çalışmalarından sonra birçok değişiklik ve gelişme olmuştur. 1990'lardan itibaren gelişen teknolojiye paralel olarak spinal füzyon uygulanan ameliyatların sayısı giderek artmıştır. ABD'de yılda yaklaşık 200.000 cerrahi uygulanırken [9], ülkemizde bu sayının yılda 60-70 bin civarında olduğu tahmin edilmektedir [4]. Spinal artrodezde en sık uygulanan yöntem olan posterolateral spinal füzyonun başarısızlık oranı da %5-35 arasında değişmektedir [2]. Psödoartroz da omurga cerrahilerinin korkulu rüyası olmaya devam etmektedir ve revizyonların başarısızlık oranı bile %35-51 arasında değişmektedir [4].

2.1. FÜZYON OLUŞUMUNDA ETKİLİ OLAN FAKTÖRLER

Omurgada başarılı bir füzyonun sağlanabilmesi için çeşitli yöntemler vardır ve bunlar klasik yöntem olan otojen kemik greftlemesinden gen tedavisine kadar geniş bir yelpaze oluşturmaktadır. (Tablo 2.1, [4]) Bütün füzyon cerrahileri, füzyon planlanan bölgedeki kemik yüzeylerinin hazırlanması ve füzyon oluşturulacak yüzeylerin arasında kalan doku hacminde yeni kemik oluşumunu uyuracak girişimleri içerir. Kemik iyileşmesini uyaran greftler, otolog veya homolog (allogreft) ya da giderek artan sayıda kullanılmakta olan sentetik materyaller veya biyoaktif maddeler olabilir. Greft, doku ile bütünleşince osteojenik hücreler tarafından kemik dokusu oluşturulur. Yeni sentezlenen kemik matriksi mekanik olarak o bölgedeki konak kemik ile devamlılık gösterince, mineralize olunca ve zarar görmeden fizyolojik yüklerle yeterli kuvvette karşı koyabilecek matür kemik dokusuna yeniden şekillenince (remodeling) füzyon gerçekleşmiş olur.

Tablo 2.1: Spinal füzyon sağlanmasında kullanılan yöntemler.

<p>MEKANİK İnternal tespit (vida, kanca, rod, plak, vb.) Eksternal cihazlar</p> <p>BİYOLOJİK KEMİK GREFT MATERYALLERİ a) Otojen kemik greftleri Kansellöz ve morselize Kortikal Kortikokansellöz b) Damarlı ve damarsız kortikal greft c) Allojenik kemik greftleri Taze (fresh) Donmuş (frozen) Dondurulup kurutulmuş (Freeze-dried) d) Hücre temelli otojen greftler Anfraksiyone taze kemik iliği Mezenşimal kök hücreler Genetik olarak değiştirilmiş hücreler Farklılaşmış osteoblastlar, kondrositler</p> <p>KEMİK GREFTİ GENİŞLETİCİLERİ a) Mineralize kemik matriksleri Seramikler (kalsiyum fosfat, trikalsiyum fosfat, kalsiyum sülfat) Kollajen Kompozit greftler b) Biyoaktif cam c) Sentetik polimerler d) Demineralize kemik matriksi (DKM)</p> <p>BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE SİTOKİNLER a) Dönüştürücü büyüme faktörü-β b) Kemik morfojenik proteinler (KMP) c) α ve β fibroblast büyüme faktörleri d) Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri e) İnsülin benzeri büyüme faktörleri f) Büyüme farklılaşma faktörleri</p> <p>GEN TEMELLİ TEDAVİ Canlı içinde ve canlı dışında</p> <p>BİYOFİZİKSEL Elektrik uyarımı Ultrason uyarımı</p>
--

Başarılı bir spinal füzyon diyebilmek için bir veya birkaç intervertebral hareket segmentinde klinik ve radyolojik olarak ispatlanmış hareket kaybı olmalıdır [4]. Kemik oluşumu, kaynama veya etkin yeniden şekillenmenin olmadığı durumlarda psödoartroz gelişir. Geniş erişkin hasta serilerinde [7] psödoartroz insidansı %5-%35 arasında değişmektedir. Bu oran idiopatik skolyoz serilerinde daha düşük olarak bildirilmiştir [7].

Başarılı bir spinal füzyon için temel gereksinimler; yeterli osteojenik hücre popülasyonunun, yeni kemik dokusu oluşumunun istendiği bölgede osteokondüktif bir matriksin, greft bölgesinden gelen osteoindüktif sinyallerin, kemik iyileşmesini destekleyecek yeterli lokal kan akımının ve kemik oluşumu için uygun lokal mekanik ortamın bulunmasıdır [7]. (Tablo 2.2, [4]) Bu konu şu başlıklar altında incelenebilir:

- A. Cerrah tarafından hazırlanan spinal füzyon bölgesine ait faktörler
- B. Greft materyaline ait faktörler
- C. Sistemik faktörler
- D. Lokal faktörler

2.1.1. Spinal Füzyon Bölgesine Ait Faktörler

Tüm kemik iyileşmelerinde olduğu gibi spinal füzyondaki kemik büyümesi de hücrel bir süreçtir; ve hücreler füzyon bölgesine eklenmediği takdirde bu bölgedeki dokular tek canlı hücre kaynaklarıdır. Otogreftlerle füzyon bölgesine osteojenik hücreler eklenmektedir, ancak bu hücrelerin sadece küçük bir kısmı canlı kalmaktadır. Bu nedenle füzyon bölgesinin hazırlanmasının ve bu bölgedeki doku yatağının korunmasının başarılı bir artrodez oluşturulmasında çok önemli bir rolü vardır. İyileşme sürecine en çok katkı sağlayan doku yatağı bileşenleri; lokal osteojenik kök hücre ve öncü hücreler [10-12], lokal vasküler dokular, inflamatuvar yanıt katılan hücreler ve greft bölgesindeki boşluklarda stabil bir pıhtı oluşmasıdır. Kemik, yağ ve kas dokularının tümünün yeni kemik oluşumuna katkı sağlayan osteojenik kök ve öncü hücreleri içerdikleri gösterilmiştir [7]. Greft yatağının temel elemanları lokal veya sistemik hastalıklar tarafından etkilenebilmektedir. Bununla birlikte

Tablo 2.2: Spinal füzyonun gelişimini etkileyen faktörler.**Kemik Greftine Bağlı**

Greft kaynağı
 Greft tipi (kortikal, kansellöz, sentetik)
 Greft kalitesi
 Greft materyalinin hazırlanma ve alınma tekniği
 Greft morselizasyonu

Füzyon sahasına bağlı

Füzyon sahasının hazırlanması
 Yumuşak dokuların ve füzyon yatağının kan desteğinin durumu
 Füzyon sahasının ışınlanması
 Daha önceki cerrahi
 Lokal kemik hastalıkları(enfeksiyon, tümör, infiltratif hastalıklar)
 Kemik homeostazisi(yaşa bağlı faktörler)
 Biyomekanik
 Füzyon segmentinin stabilitesi
 Füzyon segmentinin yüklenmesi ve impaksiyonu
 Füzyonun spesifik tipi
 Posterolateral transvers çıkıntılar arası füzyon
 Anterior cisimlerarası füzyon
 Anterior-posterior birlikte
 Omurga sütunu boyunca füzyon yeri(servikal, torasik,lumbosakral)
 Füzyon uygulanan seviye sayısı
 Spinal immobilizasyon tekniği(internal, eksternal)

Sistemik Faktörler

Sistemik metabolik kemik hastalıkları(osteoporoz, diabetes mellitus,vb)
 Hormonal (büyüme hormonu, anabolik hormonlar)
 Beslenme durumu
 İlaçlar (NSAİİ, deksametazon, kemoterapötik ilaçlar, bisfosfonatlar, kortikosteroidler)
 Enfeksiyonlar
 Sigara kullanımı ve nikotin
 Ciddi travma

Diğer Faktörler

Psikososyal faktörler
 Santral sinir sistemi yaralanması varlığı
 Birincil tanı (miyotonik hastalıklar, vb.)
 Fiziksel bariyerler (büyük enstrümantasyon, polimetilmetakrilat varlığı,vb.)

greft bölgesindeki bu elemanların kalitesi büyük ölçüde cerrahi tekniğe bağlıdır.

Lokal kan akımını korumak için o bölgedeki dokularda ekartasyon veya koterizasyon yaparken oluşan travma etkisi en aza indirilmeli ve avasküler, cansız veya çok haraplanmış dokular o bölgeden uzaklaştırılmalıdır [10, 13]. Lokal kan akımı şu nedenlerden dolayı çok önemlidir:

1. Lokal pH kontrolü için iyileşmekte olan dokuya gereken oksijen ve diğer besinlerin kaynağıdır.
2. Endokrin uyarı için bir araçtır.
3. Hem osteoblastik öncü hücrelerin erken çoğalmasına aracılık eden parakrin faktörler üreten hem de enfeksiyon ihtimalini azaltıcı rol üstlenen inflamatuvar hücrelerin o bölgede toplanmasını sağlayan bir yoldur [13].
4. Osteoblastik farklılaşmayı artıran parakrin faktörler salgılayan endotelial hücre kaynağıdır [14].
5. Vasküler perisitler [15] veya dolaşımdaki osteojenik hücreler [16] şeklinde potansiyel bir osteoblastik hücre kaynağıdır.

Cerrahi sonrası hematoma füzyon başarısı üzerine etkisi tartışılmaktadır. Osteokondüktif bir iskelet veya matriks oluşturarak kemik iyileşmesinin bazı ilk fazlarını kolaylaştırabilen, fibrinden zengin lokal hematoma uzaklaştırılmasına neden olduğu için spinal füzyon yaralarının drene edilmemesi önerilmiştir. Ayrıca hematoma içinde bulunan trombositler, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (TKBF), epidermal büyüme faktörü (EBF), temel fibroblast büyüme faktörü (tFBF veya FBF-2), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEBF), dönüştürücü büyüme faktörü- β (DBF- β) ve onarım sürecinde önemli rolleri olan diğer büyüme faktörlerini salgırlarlar [7]. Diğer taraftan büyük bir hematoma bulunması greft bölgesini çevreleyen vasküler dokuyu yerinden kısmen uzaklaştırarak greft bölgesinin vaskülarizasyonunda yavaşlamaya neden olabilir, ayrıca greftin yer değiştirmesi ve kaynamama veya istenen bölgenin dışında kemik oluşması ihtimalini de artırabilir.

Operasyon bölgesi ve greft yatağındaki inflamatuvar yanıt, iyileşme sürecinde çok önemli rol oynamaktadır. Bu yanıt, nekrotik dokuların uzaklaştırılması, lokal fibrin pıhtısının eritilmesi, o bölgedeki dokuların ve greftin kan akımının yeniden sağlanması ve hyalüronik asitten zengin bir ön matriks oluşturulmasını içerir [3, 17, 18].

Cerrahi işlemden sonra polimorfonükleer hücreler, lenfositler, monositler ve makrofajlar füzyon bölgesine göç ederek kendilerine ait çeşitli fonksiyonları yerine getirirler. Bunlar arasında greft bölgesindeki vasküler endotelyal hücreleri ve osteoblastik öncü hücreleri etkileyen en önemli faktör, lokal parakrin faktörlerin üretilmesidir. Bu faktörler sitokinler, kininler ve prostaglandinlerdir. Bu mesajlar kemotaktik sinyaller ve büyüme faktörleri şeklinde işlev görür ve çeşitli hücrelerin çoğalma, göç, farklılaşma ve aktivitelerini etkilerler ve ayrıca lokal kan akımı, damar geçirgenliği ve lokal endotelyal hücrelerin anjiojenik cevaplarının düzenlenmesinde rol oynarlar. Bu şekilde inflamatuvar yanıt kemik iyileşmesinin erken evrelerinin geliştiği lokal ortamı oluşturur. İnflamatuvar yanıtı durduran ajanların kemik iyileşmesini değiştirdiği veya yavaşlattığı gösterilmiştir [7, 19, 20].

Lokal kan akımı ve inflamatuvar yanıt yanında, kemik yüzeyinin kendisinin de spinal füzyonlardaki iyileşme sürecinde önemli etkisi olduğu bilinmektedir. Uygun şekilde hazırlandığında o bölgedeki kemik doku, bir osteojenik hücre ve osteoindüktif sinyal kaynağı olarak işlev görecektir; ayrıca bu doku greft bütünleşmesi için osteokondüktif bir yüzey sağlar ve greft bölgesindeki lokal kan akımının bir kısmını da oluşturur. Bu nedenle, cerrahi olarak bölgesel kemik yatağının hazırlanmasındaki amaç osteoprogenitör (öncü) hücrelerin ve kemik yüzeyinin osteokondüktif ve osteoindüktif özelliklerinin büyük ölçüde korunması yanında bu bölgedeki kemikte oluşacak hücresel ve mekanik hasarın en aza indirilmesidir [13]. Bu, genellikle subperiosteal diseksiyon ve dekortikasyon yoluyla alttaki kemiğin vasküler osteonal veya endosteal kemik boşluklarının açılmasıyla gerçekleştirilir. Dekortikasyon, osteotom veya ronjur gibi çeşitli aletlerle yapılabilir. Ayrıca yüksek hızlı burr cihazları da kullanılabilir [13]. Ancak burada kemikle burr arasındaki sürtünme nedeniyle ortaya çıkan ısıya bağlı

olarak termal nekroz ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle sürekli yıkama ile veya kemik ile burr arasındaki temas süresini kısaltarak nekroz oluşumundan kaçınılır [7, 13].

Spinal füzyon başarısını etkileyen diğeri bir faktörün de dekortikasyonla ortaya çıkarılan kansellöz kemik yüzey alanı olduğu düşünölmektedir. Mevcut yüzey alanının artırılmasıyla aynı zamanda füzyon bölgesindeki osteojenik hücre sayısı artırılmış olur. Böylece oluşan yeni kemik ve greftlerin bütünleşmesine olumlu yönde katkı sağlanmış olur. Ayrıca mevcut osteokondüktif yüzey alanındaki artış, osteojenik konak kemiği ve greft materyali arasındaki temas alanını da artırır ve böylece daha fazla mekanik güç ve bunu izleyen kemik kaynamasına neden olur. Bu, anterior füzyonlardaki allogreftlerin başarısının posterior füzyonlardakinden daha fazla olmasının nedeni olabilir [7]. (Posterior füzyonlarda dekortike edilen kemik yüzey alanı daha küçüktür) Benzer şekilde yüzey alanının az olması, aynı zamanda füzyon yüzeyi olarak kullanılan laminaların bulunmadığı myelomeningosel vakalarındaki düşük füzyon oranlarında da etkili olabilmektedir. Ayrıca cisimlerarası füzyondaki kompresif kuvvetler, laminalararası, transvers çıkıntılar arası füzyonlarda etkili olan distraksiyon kuvvetlerine göre daha çok kaynamaya neden olur [7, 10].

Teorik olarak lokal kemiğin mekanik gücünü aşırı zayıflatmayacak düzeyde lokal kemik yüzeyinin ortaya konulması, osteonal boşluk veya kemik kemik iliği boşluklarının ortaya çıkarılmasıyla greft bölgesindeki osteoblastik öncü hücre sayısı artmaktadır [21].

2.1.2 Greft Materyaline Bağlı Faktörler

Kemik greftlemesi, kemiğin normal rejeneratif kapasitesini hızlandırmak, artırmak veya yerine koymak amacıyla uygulanır. Kemik greftlerinin osteoindüktif, osteokondüktif, osteojenik ve yapısal bütünlük gibi özellikleri vardır [9, 10, 13]. (Tablo 2.3, [4]) Bütün bu özelliklerin tamamını mükemmel şekilde taşıyan tek bir greft tipi yoktur. Klinik uygulamada fonksiyonel

Tablo 2.3 : Greft materyallerinin özellikleri.

Özellikler	Tanımlama
Osteojenik	Doğrudan kemik oluşturma yeteneğine sahip hücreler içermesi
Osteoindüktif	Altta yatan dokudan pluripotent hücrelerin osteoblastik fenotipe farklılaşmasını indüklemeye yeteneği
Osteokondüktif	Kendi üzerinde kemik büyümesini destekleme özelliği
Osteointegratif	Araya giren fibröz doku olmaksızın kemik yüzeyine kimyasal olarak bağlanma özelliği
Biyouygunluk	Minimal immunolojik reaksiyon oluşturmaması veya reaksiyon oluşturmaması
Mekanik olarak stabil	Kemik oluşumunu artırmak için erken yüklenme ve impaksiyona olanak sağlaması
Biyoemilebilir	Yeniden şekillenebilme
Modüler	İdeal kemik greft yedeklerinin blok formda ve granüllü olarak bulunabilmesi (kullanım kolaylığı)
Diğer	Uygun maliyetli Hemen bulunabilir Yapısal olarak kemiğe benzer

gereksinimler ve her greft çeşidinin eksik kaldığı yönler değişkendir. (Tablo 2.4, [4, 7]) Bu noktada cerrahın tecrübesi, klinik değerlendirmesi ve klinikte kullanılan greft materyallerinin biyolojik iyileşme süreçlerinin altında yatan olayları iyi bilmesi önemlidir [7].

Bir greftin osteojenik potansiyeli içerdiği kök hücre ve öncü hücrelerden kaynaklanır. Bu hücrelerin bir kısmı yerleştirildikleri bölgede yaşayarak yeni kemik oluşumuna doğrudan katkı sağlarlar [9].

Osteoindüktif aktivite, yeni kemik oluşumuna katkı sağlayacak hücreleri uyuracak faktörleri bulundurma kapasitesi olarak tanımlanır.

Greft	Osteokondüksiyon	Osteoindüksiyon	Osteojenite	Yapısal sağlamlık	Diğer Özellikler
Otojen					
-kansellöz	Çok iyi	İyi	Çok iyi	Zayıf	Hızlı bütünleşme
-kortikal	Orta	Orta	Orta	Çok iyi	Yavaş bütünleşme
-vaskülarize	İyi	Orta	Orta	Çok iyi	
Allogreft	Orta	Orta	Yok	İyi	Taze; yüksek immünojenik
					Dondurulup kurutulmuş; En az immünojenik ve yapısal olarak en zayıf olan
					Taze dondurulmuş; KMP içerir
Seramik	Orta	Yok	Yok	Orta	
Kollajen	Orta	Yok	Yok	Yok	
DKM	Orta	İyi	Yok	Zayıf	
Kemik İliği	Zayıf	Zayıf	İyi	Zayıf	

Tablo 2.4: Greftlerin taşıdıkları özelliklerin karşılaştırılması.

Osteoindüktif faktörlerin prototipleri, kemik morfojenik proteinlerdir (KMP) (özellikle osteoindüktif özelliğinin en çok olduğu bilinenler KMP 2,4,6,7 ve 9 'dur). Ayrıca DBF- β , IBF-I, IBF-II ve bFbF de bu sürece katkı sağlar [4, 7].

Osteoindüksiyonun aksine osteokondüksiyon greft matriksinin yapısal ve yüzeye ait özelliklerinin bir sonucudur. Osteokondüktivite, osteoblastik kök ve öncü hücrelerin ve kemik iyileşmesi sürecine katkı sağlayan diğer hücrelerin göç etme, tutunma, çoğalma ve farklılaşmalarını kolaylaştırma kapasitesi olarak tanımlanır. Osteokondüksiyon kemik iyileşmesini, greftlenmiş bölgenin her tarafına taşımaya teşvik eder [9].

Spinal füzyonun başarılı bir şekilde gerçekleşmesi büyük oranda füzyon sahasına konulan greft materyalinin özelliklerine bağlıdır. Kemik grefti veya onun yerini tutacak greft materyallerinin ideal özellikleri tablo 2.4' de gösterilmiştir. Greft materyalleri de giderek artan sıklıkta greft olarak kullanılabilir. Bu materyaller extender (hacim artırıcı), enhancer (etkisini güçlendirici), substitute (greft yerini tutacak maddeler) olarak adlandırılır [4, 7, 9].

2.1.2.1. Otojen kemik greftlemesi:

Spinal füzyonda altın standarttır. Hem osteojenik, hem osteoindüktif, hem de osteokondüktif özellikler içerir [7, 9]. Tam doku uyumu sağlaması tamamen osteointegrasyona uğraması, verici ile ilişkili hastalık taşımaması ve immün red cevabı oluşturmaması otogreftin avantajlarıdır. Bunun yanında genellikle miktarı yetersiz kalabilmekte ve bazen verici saha sorunlarına yol açabilmektedir. Posterior iliak krest kansellöz ve kortikokansellöz greft içerdiğinden en çok greft alınan bölgedir. Alınan bu miktar en çok üç seviyeli füzyona kadar yeterli olmaktadır. Strut greftler anterior cisimler arası füzyonlarda kullanılırlar ve mekanik kompresif yüklere dayanabilme özelliği vardır [10]. Yükleneceğinin olmadığı ve tensil güçlerin egemen olduğu posterior ve posterolateral füzyonlarda ise kortikal bütünlük aranmaz. Bu bölgelerde kortikokansellöz morselize parçalar veya sadece kansellöz kemik yeterlidir [4].

2.1.2.1.1. Kansellöz kemik greftleri:

Başlangıçta çok az yapısal bütünlükleri vardır. İçerdikleri osteoblast ve osteositler erken evrelerde kemik yapma potansiyeline sahiptir. Bu greftlerin poröz (delikli) yapısı yeni kan damarlarının içeriye hızla büyümesine sebep olur ve dolayısıyla osteoblast öncü hücrelerinin bu bölgeye gelmesine imkan sağlar. Kemik yapımı ve yıkımı eş zamanlı devam eder. Osteoklastlar yavaşça ölü trabekülleri rezorbe ederken (creeping substitution) osteoblastlar da varolan trabeküllerin üzerine yeni kemik depolarlar. Sonuçta tüm kansellöz doku rezorbe edilir ve yerini yeni kemik ve kemik iliği alır. Omurga streslere maruz kaldıkça yeniden şekillenme ile olgun füzyon kitlesi oluşur [4, 10].

2.1.2.1.2. Kortikal (destek) greftleri:

Yapısal desteğin gerekli olduğu yerlerde kullanılırlar. Kansellöz kemikten daha yoğun yapıda olduğundan dolayı vasküler girişe ve yeniden şekillenmeye dirençlidir [7]. Osteojenik potansiyeli düşük olup %5 'den daha az kortikal kemik hücresi transplantasyondan sonra yaşamaya devam eder. Alıcının kan damarları ve hücreleri kortikal grefte daha önceden varolan Havers kanalları aracılığı ile girer. Kemikğin periferinde ise yoğun osteoklast aktivitesi ile ölü lameller kemik rezorbe edilir ve yerini yeni kemik alır. Konsolidasyon başlamadan önce kortikal greftin başlangıç gücünün 1/3'ü kaybolur. Bu rezorpsiyon fazı aylar veya yıllar sürebilir [10]. Bu çeşit greftler, omurga ile uçlardaki temas yüzeylerinden bütünleşir. Kortikal greftler asla tamamen yeniden şekillenmezler, ölü ve yaşayan kemik kombinasyonunu içerirler [10].

2.1.2.1.3. Morselize kortikal kemik greftleri:

Diğer kemik materyallerinin hacmini artırmak amacıyla kullanılırlar. Biyolojik aktiviteleri kansellöz kemik kadar fazla değildir.

2.1.2.1.4. Otojen kortikokansellöz kemik:

Spinal füzyonda en çok kullanılan grefttir. Kortikal komponenti yapısal destek görevini yüklenirken kansellöz kısmı osteojenik ve osteoindüktif özelliklerini sağlar [4].

2.1.2.1.5. Serbest vaskülarize kortikal greftler:

Alıcı yatağın beslenmesinin bozuk olduğu, daha önce cerrahi uygulanmış kaynamama olgularında ve radyasyon nedeniyle fibrozis gelişmiş dokularda faydalıdırlar. Osteojenik potansiyellerinin iyi olması, iyi kanlanmaları, düşük rezorpsiyon oranları, sağlımlıkları ve erken kemik kaynamasına olanak sağlamaları nedeniyle avantajlıdırlar [7].

Spinal kolonun bölgeleri arasında iyileşme potansiyeli açısından ön ve orta kolon; daha geniş yüzeyli olmaları, esas olarak kansellöz kemik içermeleri ve kompresif mekanik yüklenmeye daha çok maruz kalmaları sebebiyle greft iyileşmesi için daha uygundur. Arka kolonda ise, çoğunlukla kortikal kemik içermesi ve daha çok tensil güçlere maruz kalması sebebiyle yüksek oranda psödoartroz ortaya çıkabilir. Otojen kemik greftlerinin miktarındaki kısıtlılık ve yüksek verici saha morbiditeleri nedeniyle diğer greft alternatifleri spinal füzyonda giderek önem kazanmaktadır [4, 7, 22].

2.1.2.2. Allogreftler:

Otojen kemik grefti yerine en sık kullanılan greftlerdir. Bol miktarda kullanılabilmesi, çeşitli şekillerde hazırlanabilmesi ve verici saha morbiditesi taşımamaları nedeniyle avantajlıdırlar. Esas olarak osteokondüktiftirler [10]. Hücre içermediklerinden osteojenik özellikleri yoktur ve eğer demineralize ise osteoindüktif özellikleri de çok zayıfır. Hastalık taşıma riski dezavantajlarıdır. Taze, taze dondurulmuş ve dondurulup kurutulmuş tipleri vardır. Taze tipleri spinal cerrahide kullanılmaz. Taze dondurulmuş tipleri KMP içerirler. Taze dondurulmuşların mekanik güçleri, dondurulup kurutulmuş olanlardan %50 daha fazladır. Dondurulup kurutulmuş olanlar en az immünojenik özellik taşıyan greftlerdir. Ancak maruz kaldıkları sterilizasyon işlemleri nedeniyle yapısal sağlımlıkları en düşük olan

greftlerdir. Özellikle kompresyon altında bırakıldıkları için anterior füzyonlarda başarı oranları oldukça yüksektir [10]. Yetişkinlerde uygulanan posterior lomber füzyonlarda en iyi sonuçlar sadece otogreft kullanılan vakalarda elde edilirken sadece dondurulmuş kurutulmuş greft kullanılanlarda en kötü sonuçlar alınmıştır. Taze donmuş greftler %50 oranında, dondurulup kurutulmuş olanlar ise %100 rezorpsiyona uğrarlar [4, 7, 10].

2.1.2.3. Demineralize kemik matriksi (DKM) :

Kortikal kemiğin asit ile dekalsifikasyonu sonucu elde edilen allogreftin daha az immünojenik olan son maddesidir. Demineralizasyondan sonra allogreftin içinde tip 1 kollajen, kollajen dışı proteinler, osteoindüktif büyüme faktörleri (KMP ,DBF β 1,2,3, büyüme farklılaşma faktörleri(BFF'ler)) kalır [4, 7]. DKM nin birincil görevi osteoindüksiyondur. Preklinik hayvan çalışmaları sonucunda posterior spinal füzyon olgularında kemik grefti genişletici olarak kullanılabileceği fakat kemik grefti yerine geçen madde olarak kullanılamayacağı bildirilmiştir [9, 23].

2.1.2.4. Biyosentetik materyaller:

Seramik matriksler kemiğin mineral fazını taklit eden iyonik olarak bağlı inorganik preparatlardır. Bunlar esas olarak osteokondüktif greftler olarak kullanılırlar. En yaygın olarak özellikle hidroksiapatit ve trikalsiyum fosfat ayrı ayrı veya birlikte kullanılır [7]. Seramiklerin avantajları biyolojik olarak eriyebilir olmaları, doku uyumlu olmaları ve hastalık aktarma risklerinin olmaması, istenilen miktarda elde edilebilir olması ve verici saha sorunlarının olmamasıdır [10]. Deniz mercanlarından elde edilen doğal seramikler yerleştirildikten üç hafta sonra içlerine rejenerasyon dokusu girmeye başlar ve bu bölgelerde intramembranöz kemik oluşumu gerçekleşir. Kemik ile bütünleşme radyolojik olarak onikinci ayda belirginleşmektedir [4, 10, 24].

2.1.2.5. Kemik grefti yerine geçen materyaller:

Hücre temelli materyaller:

Kemik iyileşmesi için bugün dört tip hücre denenmektedir.

1. Anfraksiyone (ayrıştırılmamış)
2. Saflaştırılmış, kültürde geliştirilmiş mezenşimal kök hücreler
3. Farklılaşmış osteoblast ve kondrositler
4. KMP salgılayan genetik olarak modifiye edilmiş hücreler

Bugüne kadar sadece kemik iliği ile osteokondüktif ve osteoindüktif kompozitlerin karışımından ümit vadeden sonuçlar alınabilmiştir [4].

2.1.2.6. Spinal füzyonda büyüme faktörleri ve gen tedavisi:

Omurganın dekortikasyonundan sonra oluşan hematoma içindeki ve transplante edilen otojen kemik matriksi içindeki büyüme faktörleri osteoindüktif etkilidirler. DBF β 1- β 2, KMP 2-9 ve büyüme farklılaşma faktörleri (BFF'ler) kırık iyileşmesindeki en önemli büyüme faktörleridir. Kallus içindeki diğer büyüme faktörleri ise FBF ,TKBF ve IBF dir. Bu faktörler farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin göçünü tetikler ve bunlar çoğalarak kemik yapan hücrelere dönüşürler. KMP-2 ve KMP-7'nin, osteoblast farklılaşmasının başlatılmasında çok etkili oldukları bulunmuştur. KMP'ler embriyonik endokondral ve intramembranöz kemik oluşumunda rol oynarlar [4, 7, 10].

2.1.2.7. Spinal füzyonlarda saflaştırılmış KMP kullanımı:

Ticari olarak sığır KMP karışımı hayvanlarda kaynamama ve spinal füzyonlarda kullanılmıştır ve 18-24 hafta arasında %71 ' e varan oranlarda kaynama sağlanmıştır [4].

2.1.2.8. Spinal füzyonlarda rekombinant KMP kullanımı:

Hayvanlarda yapılan spinal füzyonlarda otojen grefte eşit hatta daha iyi sonuçlar elde edilmiştir [25]. Minimal invaziv tekniklerde, rKMP-2 ve rKMP-7 kullanımı daha az ağırlı ve daha az morbid fakat hızlı ve güçlü füzyon sağlamıştır [4, 10, 24, 26].

2.1.2.9. Spinal füzyonlarda gen tedavisi:

İnsanlarda rekombinant veya saflaştırılmış KMP kullanımı kemik gelişimini başlatmaktaysa da bunlar maliyeti pahalı olan tedavilerdir. Bu yüzden araştırmacılar kemik oluşumunu kontrol edebilmek için gen tedavisine yönelmişlerdir. Gen tedavisinde bir sitokin veya protein için spesifik DNA, bu proteinin sentezletilebilmesi için bir hücreye nakledilir. Tedavi sistemik veya bölgesel olarak uygulanabilir. Gen teknolojisiyle elde edilen kemiğin ince trabeküler yapısının rikMP-2'nin oluşturduğuna göre daha iyi olduğu deneysel olarak gösterilmiştir. Bu çalışmalar henüz çok yeni olup spinal füzyonlarda bölgesel gen tedavisi umut verici olduğundan bu alanda halen birçok çalışma sürmektedir [4, 27].

2.1.2.10. Spinal füzyonun biyofiziksel güçlendirilmesi:

Biyofiziksel güçlerin dışarıdan uygulanmasında, spinal iyileşme sürecinde eksik kalabilen ve iskeletin Wolff kanunları uyarınca fizyolojik yüklenme ile normalde maruz kalması gereken düzenleyici sinyallerin dışarıdan uygulanması temeline dayanılmaktadır. Bu amaçla elektromanyetik alan, düşük yoğunluklu ultrason ve doğrudan elektriksel uyarım kullanılır. Elektrik uyarımı, esas olarak uzun kemiklerin kaynamama sorunları için geliştirilmiş bir yöntemdir. Ancak bu yöntemin spinal füzyonda kullanımı ile, lomber spinal füzyon olgularında da füzyon oranlarında artmaya neden olduğu bulunmuştur. Seçilmiş endikasyonlar olan çok seviyeli füzyonlar, yeniden opere edilen psödoartroz olguları, osteoporoz, sigara kullanımı ve belirgin damar hastalığı varlığında kullanımı halinde iyi sonuçlar alındığı bildirilmiştir [4, 9, 24].

2.1.2.11. Ultrason ile stimülasyonun spinal füzyonda kullanımı:

Bazı deneysel çalışmalar sonucunda düşük yoğunluklu ultrason dalgalarının osteogenezisi hızlandırdığı, dolayısı ile kemik iyileşmesini güçlendirdiği bulunmuştur. Histolojik çalışmalarda da füzyon kitlesinde artmış kemik oluşumu gözlenmiştir [4].

2.1.3. Spinal Füzyonu Etkileyen Sistemik Faktörler

Laboratuvar ortamında birçok sistemik faktörün kemik iyileşmesini etkilediği gösterilmiştir. Bu faktörlerin klinik olarak da önemli rol oynama ihtimalleri vardır [7, 13]. (Tablo 2.5, [7,13])

Tablo 2.5 :Kemik iyileşmesini etkileyen sistemik faktörler.

Olumlu Faktörler	Olumsuz Faktörler
İnsülin	Kortikosteroidler
IBF ve diğer somatomedinler	Vitamin A intoksikasyonu
Testosteron	Vitamin D eksikliği
Östrojen	Anemi, Demir eksikliği
Büyüme hormonu	Negatif azot dengesi
Tiroksin	Kalsiyum eksikliği
PTH	NSAİD , metotreksat, adriamisin gibi ilaçlar
Kalsitonin	Romatoid artrit
Vitamin A ve D	Sepsis
Anabolik steroidler	Uygunsuz ADH salınımı sendromu
	Sigara
	Kastrasyon

Klinik ortamda çeşitli faktörlerin etkileri karmaşıktır. Bu nedenle bunların tek tek her vakadaki kırık iyileşmesi veya spinal füzyon sürecinin başarısı üzerine olan etkilerini göstermek zordur. Bununla birlikte mümkün olabildiği ölçüde her faktör en uygun duruma getirilmelidir.

Beslenme durumunun cerrahi işlemlerin klinik sonucuna, genel metabolizmaya [28] ve özellikle de kemik iyileşmesine [29] etkisi olduğu gösterilmiştir. Antropomorfik ölçümlerle elde edilen serum albumin düzeyleri, lenfosit sayısı, cilt antijen duyarlılık testi ve azot dengesi çalışmaları bazı

hastalarda son derece önemli olabilir. Son zamanlarda ortaya çıkan kilo kaybı, cilt testlerine yanıtızlık, 3,4 mg/dl altındaki serum albumin düzeyleri ve 1500/mm³'ün altındaki toplam lenfosit sayısı beslenme durumunun dikkatlice değeriendirilmesi ve muhtemelen besin desteği sağlanması gerektiğini düşündüren klinik işaretlerdir [7]. Lenke ve ark. çok seviyeli spinal füzyon cerrahisi geçiren hastalardaki perioperatif besin dengesi bozukluğunun düzelmesinin 6-12 hafta sürebildiğini göstermişler ve bu hastaların besinsel durumlarının daha ciddi değeriendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir [30].

Füzyon başarısını etkileyen en önemli dönemin, iyileşmenin ilk 3-7 günü (inflamasyon evresi) olduğunu gösteren birçok kanıt vardır. Bu nedenle bu dönemdeki sistemik faktörler dikkatlice kontrol altında tutulmalıdır. Özellikle radyasyon uygulanması, kemoterapötik ajanlar, steroid dışı antiinflamatuvar ilaçlar ve kortikosteroidlerin kullanımı konusunda dikkatli olunmalıdır. Tütün kullanımı (özellikle nikotin) büyük ölçüde olumsuz sonuçlara neden olan ancak önlenebilen bir faktördür [3, 7, 13].

2.1.4. Spinal Füzyonu Etkileyen Lokal Faktörler

Birçok lokal faktör de kemik iyileşmesini etkilemektedir. (Tablo 2.6, [7, 13]) Bazı vakalarda bu faktörlerden kaçınılamazken bazılarında olumsuz etkileri önlemek için çeşitli yöntemler kullanılabilir. Genelde osteoporozun kemik iyileşmesinde istenmeyen bir faktör olduğu düşünülür, ancak bunun direkt klinik kanıtı yoktur [13]. İnternal fiksasyon kalitesi, kemik kütlesiyle büyük oranda ilişkilidir ve spinal füzyonların sonucuna etki eden önemli bir değişkendir. Ayrıca yaşlı hastalarda lokal kemik iliği ve diğer bölgesel dokulardaki osteojenik kök hücre konsantrasyonu, prevalansı ve biyolojik potansiyellerinde azalma olabilmektedir [31]. Yaşa bağlı değerişiklikler doğrudan osteoporoz patofizyolojisi ile ilişkilili olabilir veya olmayabilir, ancak bunların spinal füzyon için oluşturulan greft bölgesinde olumsuz etki oluşturma ihtimalleri vardır. Bu etkiler kemik iliği ve diğer dokulardan elde

edilen osteojenik hücre konsantrasyonunun artırılması ile kısmen geriye döndürülebilir.

Toribatake ve ark., posterolateral intertransvers füzyon kitlesinin vaskülarizasyonu ile ilgili olarak yaptıkları çalışmada tavşan modelinde bilateral transvers çıkıntılar arası füzyon uygulamışlar ve otojen kemik greftinin vaskülarizasyonu için gereken en önemli interosseöz damarlanma desteğinin üst ve alt transvers çıkıntılardan kaynaklandığını bulmuşlardır. Burada, solid füzyon ve kartilaginöz füzyona oranla kaynamama gelişen hayvanların transvers çıkıntılarındaki vaskülarizasyon belirgin düzeyde düşük olarak bulunmuştur. Buradan yola çıkarak posterolateral transvers çıkıntılar arası füzyon kitlesinin vaskülarizasyon derecesi ile kemik bütünleşmesi arasında yakın ilişki olduğu öne sürülmüştür [32].

Tablo 2.6 : Kemik iyileşmesini etkileyen lokal faktörler.

Olumlu Faktörler	Olumsuz Faktörler
Artmış yüzey alanı	Osteoporoz
Lokal kemik iliği içeriği	Radyasyon skarı
Elektrik stimülasyonu	Radyasyon
Mekanik stabilite	Denervasyon
Mekanik yüklenme	Tümör
KMP	Kemik iliğini infiltre eden hastalıklar
Anjiogenezi uyaran faktörler	Lokal kemik hastalıkları
İyi kanlanma	Aşırı mekanik hareket
	Kemik mumu
	Enfeksiyon
	Yetersiz kemik grefti hacmi
	Aşırı büyük enstrümantasyon

Azar ve ark. ise dekortikasyonun spinal füzyon üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında kobay modeli kullanarak posterior füzyon uygulamışlardır. Çalışmada 3 grup oluşturulmuştur. Bu gruplarda uygulanan işlemler şu şekildedir: grup1; dekortikasyon+ otogreft, grup 2; dekortikasyon+ enstrümantasyon+otogreft, grup 3; enstrümantasyon+otogreft. Çalışma sonucunda 6 hafta sonunda öldürülen hayvanlarda sırasıyla %80, %95 ve %92,5 füzyon elde edilmiş. Bu bulgulara dayanarak spinal enstrümantasyon uygulanmayacak ise dekortikasyonun spinal füzyon için temel basamak olduğu, ancak stabil bir enstrümantasyon uygulanacak ise spinal füzyonun oluşumunda dekortikasyonun olumlu bir etkisinin olmadığı öne sürülmüştür [33].

Genellikle greft bölgesinin mekanik stabilitesi cerrahın kontrolündeki bir faktördür. İyi bir internal fiksasyon başarılı bir füzyon oluşturma ihtimalini belirgin şekilde artırır. Anatomik bölge, hastanın vücut ağırlığı, aktivite düzeyi ve dışarıdan immobilizasyon uygulanması, tümü önemli olan değişkenlerdir. Genellikle spinal kas atrofisi ve Duchenne kas distrofisinde görülen yüksek kaynama oranları istemli hareketlerdeki azalma ve lokal mekaniklerdeki düzelme nedeniyle olabilir [7, 13].

Kemik iliğini işgal eden talasemi majör gibi hastalıklar, kemik iliği büyüme faktörü ortamını ve/veya osteojenik kök hücre sayısını değiştirerek kemik iliğinin osteojenik potansiyelini azaltabilir. Benzer şekilde Paget hastalığı ve fibröz displazi gibi lokal kemik hastalıkları normal osteojenik hücrelerin yerini anormal hücrelerle değiştirerek başarılı bir füzyon kitlesi oluşumunu hasarlayabilir veya önleyebilir [7].

Radyasyon da özellikle postoperatif olarak uygulandığında olumsuz bir faktördür. Bu, radyasyonun çoğalan hücreler üzerindeki doğrudan sitotoksik etkisi veya radyasyon hasarına bağlı olarak oluşan yoğun vaskülit nedeniyle olabilir. Akut faz sonrasında radyasyona bağlı osteonekroz ve radyasyon uygulanan bölgedeki yoğun hipovasküler skar dokusu füzyon için olumsuz bir ortam oluşturabilir [34]. Bu nedenle bazı vakalarda, serbest damarlı greftlerin ve radyasyon sahası dışındaki verici damarların kullanımı ile lokal kan akımı

artırılarak başarılı bir füzyon elde edilebilir. Emery ve ark. [34, 35] radyasyon zamanlamasının spinal füzyon üzerinde belirgin etkisi olduğunu ve en az yan etkisinin greftlemeden 3 hafta sonra uygulandığında ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Radyoterapinin ameliyat öncesi dönemde ve ameliyat sonrasında ise geç dönemde uygulanması daha uygundur. Böylece ameliyat sonrası erken dönemdeki greft bölgesindeki vasküler invazyondan kaçınılır, çoğalmakta olan hassas osteojenik öncü hücreler korunmuş olur. Kemik iliği transplantasyonu, ışınlama veya diğer nedenlere bağlı bölgesel skarlaşma, lokal osteojenik hücre sayısını artırıcı olarak kullanılan yöntemlerden en fazla fayda gören durumlardır. Bununla birlikte halen bunların değeri klinik çalışmalarla ispatlanmış değildir [7, 13].

Elektrik uyarımının kaynamamaların, başarısız artrodezlerin ve konjenital psödoartrozların tedavisinde faydası olduğu gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda da hayvan modellerinde faydalı olabileceğini gösteren kanıtlar vardır [36]. Birkaç klinik çalışmada randomize kontrol grubu olmayan küçük seriler bildirilmiştir. Yeni bir çift kör çalışmada, sadece kadınlardan oluşan 201 hastada uygulanan enstrümantasyonsuz füzyon sonrasında faydalı olduğu bulunmuştur. Başka bir randomize çalışmada da hem enstrümanlı hem de enstrüman kullanılmayan 179 hastada kaynama oranı plaseboya kıyasla sırasıyla % 85 ve %65 olarak bulunmuştur [7, 13, 37].

Çalışmamızın esas çıkış noktası olan kırık iyileşme taslakları arasındaki farklılığa benzer bir olayın, spinal füzyonda da olup olmadığının daha iyi anlaşılabilmesi için öncelikle kırık iyileşmesi konusunun iyi anlaşılması gereklidir.

2.2. KIRIK KAYNAMASI TİPLERİ VE AŞAMALARI

Dıştan veya içten gelen zorlanmalarla kemik dokusunda olan ayrılmaya, yani kemiğin bütünlüğünün bozulmasına kırık denir. Kemiğin kırılması esnasında hücreler, kemik matriksi, periost da travmanın şiddeti ile orantılı olarak hasar görür. Kırık sonrası kemik iliğinde, kortekste, periostta ve çevre yumuşak dokuda; kırığın bölgesine, kırığın tipine ve uygulanan tedavi metoduna bağlı olarak iyileşme cevabı gelişir [38]. Yaralanan dokunun yerini fibröz skar dokusunun aldığı yumuşak doku iyileşmesinin tersine, kemik dokusundaki iyileşme yeni kemik dokusu oluşumu ile sonlanır. Kırık iyileşmesi kırığın olduğu anda başlar ve olgun organize kemik dokusu ile kemik uçları bütünleşinceye kadar devam eder. Bu dönem klasik olarak 3 ana aşama ve alt grupları altında incelenmektedir [3].

Kemiğin kırılması; **1) İnflamasyon, 2) Tamir, 3)Yeniden Şekillenme** aşamalarının sıra ile oluşmasını tetikler. Bu üç dönem birbirinin içine girmiş bir şekildedir ve en uzun dönem, yeniden şekillenme dönemidir. İnflamasyon travmayı takiben hemen başlar ve tamir aşaması bu olayı takip eder [39]. Tamir aşaması ile hasar görmüş olan hücreler ve matriks yerine yenileri yapıldıktan sonra uzamış bir yeniden şekillenme fazı başlar. Kırık iyileşmesi için enerji ihtiyacı inflamasyon safhasında hızla yükselir. Bu ihtiyaç tamir aşamasında kallus içindeki hücreler çoğalırken ve matriks sentezlenirken en yüksek değere ulaşır. Yeniden şekillenme aşamasının başlamasına kadar kırık iyileşmesi için de enerji ihtiyacı yüksek olarak devam eder ve sonra düşmeye başlar[3].

2.2.1. İnflamasyon

Kırık oluştuktan hemen sonra inflamasyon fazı başlar ve kırık sonrası 1-7. günlerde kıkırdak veya kemik oluşumu ortaya çıkana kadar devam eder. Başlangıçta hematoma oluşur ve yırtılan kan damarlarından iltihabi eksüda çıkışı olur. Kırık parçalarının uçlarında kemik nekrozu meydana gelir. Bu sırada kırık çevresindeki dokularda vazodilatasyon ve hiperemi görülür [40]. Daha sonra damar oluşturucu elemanlar ve kapiller damarlar hematoma içine doğru büyümeye başlar ve hücresel çoğalma önemli ölçüde artar. Bu

inflatuar sürece katılan hücreler polimorfonükleer nötrofiller, makrofajlar ve ilerleyen dönemlerde de fibroblastlardır. Hematomun içinde bir fibrin, retikülin ve kollajen lifleri ağı bulunur. Kırık hematomu tedrici olarak granülasyon dokusu ile yer değiştirir. Bu bölgedeki osteoklastlar, kırık uçlarındaki nekrotik kemik parçalarını ortadan kaldırır [3, 39, 40].

Kırık sonrası oluşan inflamasyon hemen hemen tüm kırıklarda aynı sırayı takip etmesine rağmen tamir dokusu miktarı ve tamir hızı, her kırık için farklıdır. Bu farklılık kırığın spongiöz kemikte, epifizde, metafizde, diafizde ve kortikal kemikte olmasına, kemiği çevreleyen yumuşak doku hasarına, hastaya ait faktörlere, travma türüne ve tedavi metotlarına bağlı olarak değişir [3, 39].

2.2.2. Tamir ve Yeniden Şekillenme

2.2.2.1. Rijit Olarak Tespit Edilmeyen Kırıklar

Kırık sahasında mezenşimal hücreler proliferer olur, farklılaşır ve fibröz doku, kırık ve örgümsü kemikten oluşan kırık kallusunu oluşturur. Kırık kallusu, kırık bölgesini doldurur ve çevreler. İyileşmenin erken evresi; 1) Yumuşak veya fibröz kallus 2) Sert veya kemik kallus olmak üzere ikiye ayrılır [3]. Kallusun periferinde erken dönemde intramembranöz kemikleşme ile oluşturulan kemik, sert kallustur. Yumuşak kallus merkezde düşük oksijenli bölgededir ve birincil olarak kırık ve fibröz doku içerir. Zaman içinde kırık, tedrici olarak endokondral ossifikasyon süreci ile kemiğe dönüşür. Sert kallus genişler ve kırığın stabilitesi artar. Bu süreç yeni kemik kırık sahasını köprüleyene kadar devam eder [3, 39]. Buradaki duruma benzer şekilde Boden ve ark.nın 1995'te yaptıkları bir çalışmada da ratlarda posterolateral transvers çıkıntılar arası füzyon oluşumu sırasında periferde intramembranöz kemikleşme görülürken santral bölgede endokondral kemikleşme görüldüğü bulunmuştur ve bu kırık içeren bölgenin muhtemelen daha sonra gelişebilecek kaynamama tablosu ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür [2].

Hücresel aktivite zincirinin bir sonucu olarak kırık kallusu mineralize olur. Osteoblastlar, tip 1 kollajenden zengin bir matriks sentezler ve sonra kollajen fibrillerinde kalsiyumhidroksiapatit kristalleri yığıcı depolanmasını yani mineralizasyonu arttıracak ortamı oluştururlar.

Mineralizasyon iki hücre fonksiyonuna ihtiyaç duyar. İlki; mineralizasyonu engelleyecek fibrokartilaj kallus matriksindeki yüksek GAG konsantrasyonu içeren lokal ortamın uzaklaştırılmasıdır. İkincisi de, hücreler arası matriks mineralizasyona hazırlandıktan sonra, kondrositlerin ve sonra da osteoblastların paketlenmiş kalsiyum-fosfat komplekslerini matrikse salgılamalarıdır [3, 41].

Kırık fragmanlarının stabilitesi internal ve eksternal kallus ile giderek artar. Sonuçta klinik olarak kaynama olur. Klinik olarak kaynama kırık sahasının stabil ve ağrısız olmasıdır. Radyolojik kaynama trabekül görüldüğünde veya kortikal kemik, kırık sahasını köprülediğinde oluşur. Genelde klinik kaynama radyolojik kaynamadan önce olur [39]. Ancak radyolojik kaynama sağlandığında bile iyileşme süreci tamamlanmamıştır. İmmatür kırık kallusu, normal kemiğe göre güçsüzdür. Kemik tam gücünü yeniden şekillenme safhası esnasında kazanır [3].

Kaynamanın son safhası tamir dokusunun yeniden şekillenmesi ile olur. Yeniden şekillenme örgümsü kemik ile lameller kemiğin yer değiştirmesi ve gereksiz kallus dokusunun rezorpsiyonu ile başlar.

2.2.2.2. Rijit Olarak Tespit Edilen Kırıklar

İkincil kemik iyileşmesinde kırık hattında belli sınırlar içinde oluşan hareket altında kırık kallusu ilerleyici şekilde oluşur ve kırığı stabilize eder. Ancak hem spongiöz hem de kortikal kemikte kırık iyileşmesi kallus gelişmeden olabilir. Bunun için kırık yüzeyleri rijit olarak temas halinde olmalıdır. Bu şekildeki kaynama "**birincil kemik iyileşmesi**" olarak adlandırılır [3]. Bu şekildeki kaynamada kırık kallusu oluşmaz ve rezorbe olmaz [3]. Çoğu impakte epifizyel, metafizyel ve vertebra cisim kırıklarında kırık uçları birincil kemik iyileşmesi için yeterli stabiliteyi sağlar. Schenck ve

Willenegger iki şekilde birincil kemik iyileşmesi tarif etmişlerdir. **1) Gap (boşluk) iyileşmesi 2)Haversiyen yeniden şekillenme.** Bu iki şekil iyileşme rijit olarak stabilize edilmemiş kırıklarda tamir ve yeniden şekillenme safhalarına karşılık gelmektedir [42]. Çalışmalarında kompresyon plağı ile rijit olarak tespit sonrası tüm kortikal kemik uçlarının yakın temas içinde olmayıp, kırık sahasında yer yer boşlukların olduğunu göstermişlerdir [3]. Kaynama mekanizması, iyileşme dokusunun yapısı ve yeni kemik oluşum hızı bu boşlukların boyutuna bağlıdır. Eğer kortikal kemik uçlarında doğrudan temas mevcut ise lameller kemik doğrudan kırık hattını kemiğin uzun aksına paralel olarak geçer. Bu olay osteonların genişlemesi ile olur. Osteoklast yığını kırık hattını keser. Osteoklastları takiben osteoblastlar yeni kemik depolarlar. Kan damarları osteoblastları takip eder. Bu yeni kemik matriks, çevrelenmiş osteositler ve kan damarları yeni Haversiyen sistemi veya birincil osteonları oluşturur. Bu sürece **temas iyileşmesi** denir. 150-200 µm arası mesafedeki veya yaklaşık osteonun dış çapı kadar olan küçük boşluklarda hücreler kemiğin uzun aksına dik olacak şekilde lameller kemik yaparlar. 200 µm-1 mm arası mesafedeki büyük boşluklarda hücreler defekti örgümsü kemik ile doldurur. **Boşluk iyileşmesini** takiben Haversiyen yeniden şekillenme başlar ve normal kortikal kemik yapısı tekrar kazanılır. Osteoklastları içeren kesim bölgelerini, osteoblastlar ve kan damarları takip eder ve kırık boşluğundaki yeni kemiği enlemesine geçer, lameller kemik depolar ve kırık hattını geçen kortikal kemik kanlanması yeniden sağlar. Haversiyen yeniden şekillenme nekrotik damarların izini takip eder ve yeni kan damarlarını keser. Eğer kortikal kemikte büyük bir segment nekrotik ise osteonların doğrudan genişlemesi ile yine de iyileşebilir. Ancak bu olay daha yavaş olur ve nekrotik kemik alanları yeniden şekillenmeye uğramamış şekilde uzun bir süre kalır[42-44].

Özetlenecek olursa kırık uçları arasında tam temasın olmadığı ve kısmi hareketin olduğu durumlarda kırık bölgesinde kallus oluşumu görülür. Bu duruma ikincil kemik iyileşmesi denir. Burada *endokondral kemikleşme* meydana gelir. Kırık uçları arasında mesafenin ve hareketin olmadığı veya

çok küçük olduğu durumlarda kallus oluşumu görülmeksizin kemik iyileşmesi olur. Burada *intramembranöz kemikleşme* görülür.

2.3. SPİNAL FÜZYONDA HAYVAN MODELLERİNİN KULLANIMI

Yeni spinal füzyon modellerinin ve cerrahide kullanılan greft materyallerinin klinik kullanım öncesi test edilmesinde kullanılan spinal füzyon hayvan modelleri son derece önemlidir. Bu noktadaki ilk model 1913'de Albee'nin köpek modeli kullanarak oluşturduğu spinal füzyon modelidir[45]. Bu modelden günümüze kadar hayvanların kullanıldığı birçok spinal füzyon çalışması yapılmıştır. Preklinik hayvan çalışmalarının sonuçlarını yorumlayabilmek için hayvan modellerinin net bir şekilde ortaya konulmuş olması gereklidir. Yöntemler açıkça ortaya konulmalı ve kontrol grubu verileri ortaya konulmuş olmalıdır. Yine bu veriler deneyler arası veya laboratuvarlar arasında tekrar uygulanabilir ve kullanılabilir olmalıdır. Eğer küçük hayvan modellerinde (fare, rat, tavşan) umutlandırıcı sonuçlar elde edilirse araştırmalarda genellikle daha yüksek filogenetik türlere (köpek, koyun, keçi, domuz) geçilir ve daha sonra da insan dışı primatlarda tekrarlanarak elde edilen sonuçlar karşılaştırılır ve en sonunda klinik çalışmalara geçilir[45].

Bazı merkezlerde boyutları, maliyeti ve bakım kolaylığı nedeniyle ratlar ve tavşanlar gibi küçük hayvanlar üzerinde çalışılmakta, daha büyük hayvanlarda (özellikle insan dışı primatlarda) çalışma yapılamamaktadır. Hayvanların bakımı standardize edilmeli ve çalışmalarda bundan kaynaklanan değişkenler mümkün olduğunca en aza indirilmelidir. Füzyon oluşana kadar geçen zaman göz önünde bulundurulmalıdır. Farklı türlerin izlem süreleri farklı olabilir [45].

Genellikle küçük hayvanların metabolizma hızlarının yüksek olması sebebiyle füzyon oluşumuna kadar geçen süre büyük hayvanlara göre daha kısadır.

Modelleri değerlendirirken temelde otogreft kullanılarak veya kullanılmaksızın oluşan füzyon oranları göz önünde bulundurulmalıdır. Deneysel sonuçlar net

bir şekilde ortaya konulmalıdır. Bazı sonuçlar in vivo elde edilebilirken çoğu sonuçların ex vivo yapılması gerekmektedir. Radyolojik inceleme yöntemlerinden radyografiler sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca bilgisayarlı tomografi de düz grafilere oranla daha sensitif ve daha spesifik olması nedeniyle füzyonu ve oluşan kemik miktarını değerlendirmede kullanılmaktadır [46, 47]. Standart bilgisayarlı tomografiye oranla daha duyarlı olması nedeniyle mikro-bilgisayarlı tomografi de birçok çalışmada kullanılmıştır [45].

Radyolojik yöntemlerin kullanımındaki sınırlılıklar nedeniyle mekanik test teknikleri, füzyon değerlendirmesinde geniş kabul görmüş yöntemlerdir. Bunlar arasında en sık kullanılanı el ile palpasyondur. Burada insanlardaki cerrahi eksplorasyona karşılık gelecek şekilde vertebralar arası hareket incelenir [48]. Ayrıca daha kesin ve kantitatif çok doğrultulu kuvvet uygulayabilen cihazlarla da spinal füzyonun çok yönlü stabilitesi değerlendirilebilmektedir [45].

Histoloji, kemik oluşumunu ve özelliklerini tam olarak değerlendirmenin diğer bir yoludur. Burada dekalsifiye veya andekalsifiye teknikler kullanılabilir. Kemik oluşumunun farklı özelliklerini ortaya çıkarmak için farklı boyalar kullanılır. Ayrıca füzyon esnasında gelişen kemik köprüleşme gösterilebilir. Ancak köprülerin ince olması nedeniyle kesit alırken bu köprülerin gözden kaçırılması ihtimali vardır [49]. Ayrıca histomorfometrik yöntemler de oluşan füzyon kitlesinin özelliklerini ve niceliklerini ortaya koymada kullanılmaktadır.

Moleküler teknikler de spinal füzyon sürecinde gelişen olayları değerlendirmede gittikçe artan sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle reverse (ters) transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile füzyon süreci esnasında ortaya çıkan farklı faktörlerin salgılanması incelenmektedir[50, 51].

2.4. SPİNAL FÜZYONDA İYİLEŞME MODELİ

Uzun kemiklerdeki kırık iyileşmesinin bütün safhaları stabilize edilen ve edilmeyen hallerde iyi şekilde ortaya konulmuş olmasına rağmen spinal

füzyondaki stabilizasyonun iyileşme taslağında histolojik açıdan böyle bir farklılığa neden olup olmadığı net olarak ortaya konulmuş değildir[2]. 1995 yılında Boden ve ark. tavşanlarda lomber posterolateral transvers çıkıntılar arası füzyon uygulamış, greft materyali olarak iliak kanattan alınan kortikokansellöz grefti kullanmış ve halen geçerliliğini koruyan spinal füzyonun histolojik evrelemesini öne sürmüşlerdir [2].

Bu çalışmaya göre spinal füzyon iyileşme süreci üç evreye ayrılmıştır . Birinci evre (erken veya inflamatuvar evre) 1-3 hafta sürmektedir. Bu evrede kırık iyileşmesinin inflamatuvar dönemindeki olaylara benzer hücresel ve dokusal yanıtlar ortaya çıkmaktadır. Birincil membranöz kemik oluşumu dekortike transvers çıkıntılar çevresinde görülmüştür. Kemik grefti parçaları arasında minimal kırık ve endokondral kemikleşme görülmüştür. Orta evrede (onarım evresi; 4.-5. haftalar) transvers çıkıntılarının çevresindeki kansellöz kemiğin yeniden şekillenerek solid hale gelmesi gerçekleşmektedir. Burada revaskülarizasyon, nekrotik dokuların rezorpsiyonu ve osteoblastik ve kondroblastik hücrelerin farklılaşması görülmektedir [2]. Her iki transvers çıkıntı arasındaki boşluk, transvers çıkıntılara yakın olan iki kesim ve orta bölge olarak üçe ayrılmıştır. Periferdeki bölgelerde birincil intramembranöz kemikleşme görülürken, santral bölgede endokondral kemikleşme görülmüş ve her iki periferik bölgeden santral bölgeye doğru yeni kemik uzanımı görülmüştür. Ayrıca endokondral kemikleşmenin füzyonun üst ve alt yarılarını birleştirdiği bölgenin merkezinde bir kırık ara yüzey oluşmuştur. Bu bölgede pluripotent hücrelerin daha az vasküler bir ortamda oldukları düşünülmüştür . Bu nedenle doğrudan membranöz kemik oluşumu yerine kırık ara yüzeyi oluşturduğunu düşünülmüştür [2].

Boden ve ark., daha önce yaptıkları bir çalışmada da başarılı bir füzyon oluşumu için eşik değer olarak kabul edilebilecek zamanın 4-5. haftalar olduğunu bildirmişlerdir [52]. O çalışmada eğer 5. haftaya kadar solid füzyon oluşmamışsa daha uzun süre izlem sonrasında füzyon oranında veya füzyon kitlesinin biyomekanik özelliklerinde herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Füzyon iyileşmesinin geç fazı (yeniden şekillenme fazı) 6-10. haftalar arasındadır. Bu evrede füzyon kitlesi çevresinde periferik kortikal

kemikte yeniden şekillenme ve kemik iliği hacminde artış görülmektedir. Kortikal kemik kalınlaştıkça füzyonun santrale uzanan trabeküler çıkıntılar artmaktadır. Öncelikle transvers çıkıntılar çevresinde yeni kemik oluşumu görülmesi bu bölgelerde dekortikasyonun besin ve osteoprogenitor hücrelerin esas kaynağı olduğunu düşündürmüştür. Daha önce yapılmış bazı çalışmalarda çelişkili ve birbiriyle uyumsuz bilgiler mevcut iken bu çalışmada Boden ve ark. daha önceki çalışmalardaki bu noktalara açıklık getirdiklerini düşünmüşlerdir. Bazı çalışmalarda kırıkdağın erken füzyon kitlesinin bir parçası olduğu bildirilirken[53, 54] diğer bazı çalışmalarda endokondral kemik oluşumunun iyileşme sürecinin bir parçası olmadığı öne sürülmüştür. Halbuki Boden ve ark. bu çalışmada hem birincil membranöz hem de endokondral kemik oluşumunun spinal füzyon iyileşmesinde görülen ardışık süreçler olduğu bildirmişlerdir [2].

Kanayama ve ark. yaptıkları bir çalışmada spinal enstrümantasyonun spinal füzyonun iyileşme sürecine etki edip etmediğini araştırmışlardır [55]. Bu çalışmada bir *invivo* koyun modeli kullanılmış, pedikül vidaları ile posterolateral spinal füzyon uygulanmıştır. 16 koyuna L2-L3 ve L4-L5 segmentlerine randomize seçim yapılarak fiksasyon yapılmış. 8. ve 16. haftalarda hayvanlar öldürülmüş. Füzyon durumu biyomekanik testler, elle palpasyon, radyografi, bilgisayarlı tomografi ve histolojik yöntemler kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda cerrahiden 8 hafta sonra yapılan değerlendirmede enstrümante edilen füzyon segmentlerinin enstrümante edilmeyen segmentlere oranla belirgin düzeyde daha solid olduğu bulunmuş. Histolojik olarak enstrümante edilen füzyonların 8. haftada enstrümante edilmeyen füzyonlara oranla daha fazla miktarda örgümsü kemik içerdiği bulunmuş. 16. haftada enstrümantasyon uygulanıp uygulanmamasından bağımsız olarak bütün füzyon kitlelerinin biyomekanik, radyografik ve histolojik olarak solid olduğu tespit edilmiş. Bu çalışma sonucunda yazarlar spinal enstrümantasyonun, spinal füzyonun iyileşme sürecinin erken evrelerinde daha stabil bir ortam sağladığını ve spinal füzyonun daha hızlı gelişimini teşvik ettiğini öne sürmüşlerdir. Bundan önceki bazı çalışmalarda da spinal enstrümantasyonun solid posterolateral füzyon

oluşumu için geçen zamanı kısaltarak füzyon oranında artış sağlayabileceği öne sürülmüştür [56, 57].

Lokal mekanik ortamın kemik iyileşmesinde önemli bir rolü vardır. Uzun kemiklerde cerrahi sahasındaki aşırı hareket osteoklastları uyararak kemik rezorpsiyonunda artışa ve böylece iyileşme sürecinde gecikmeye veya kaynamamaya neden olabilir [3, 58]. Bununla birlikte mikrohareket kemik oluşumunu ve iyileşme sürecini hızlandırır [59-61]. Posterolateral spinal artrodezde spinal enstrümantasyon, füzyon sahasında fizyolojik yüklere karşı koyabilecek güçte kemik dokusu gelişene kadar stabilizasyon sağlamak amacıyla kullanılmaktadır.

Birçok klinik çalışmada spinal enstrümantasyonun posterolateral spinal artrodezde füzyon oranını artırdığı öne sürülmüştür [56, 62, 63]. Zdeblick ve ark. pedikül vidası ile yapılan enstrümantasyonda füzyon oranının (%95), yarı katı fiksasyonla (%77) veya enstrümantasyonsuz (%65) elde edilen füzyonlardan daha yüksek olduğunu göstermişlerdir [64]. Schwab ve ark. pedikül vidası ile enstrümantasyonda füzyon oranını %91 olarak bildirirken bu oran enstrümantasyonsuz artrodezlerde %65 olarak bulunmuştur[63]. Bu bulgular spinal füzyon için kullanılan bazı hayvan modellerinde de doğrulanmıştır [65-67].

Johnston ve ark., posterolateral spinal füzyon modelinde daha rijit fiksasyonun daha solid füzyon kitlesi oluşturduğunu göstermişlerdir [65]. Kleiner ve ark., insanlardaki posterolateral spinal füzyonu prospektif olarak histomorfometrik açıdan incelemişler ve enstrümantate füzyon kitlesinin enstrümantate olmayan füzyon kitlesine oranla daha üstün histolojik özellikleri olduğunu göstermişlerdir. Bu nedenle spinal enstrümantasyonun, spinal füzyon için muhtemelen daha iyi bir mekanik ve biyolojik ortam oluşturduğu düşünülmüştür [67].

Uzun kemik kırıklarında internal fiksasyon kırık bölgesini stabilize etmek ve onarım dokusunun tekrarlayıcı şekilde hasar görmesini önleyerek kaynama oranını artırmak için kullanılır. İnternal fiksasyonla tedavi edilen kırıklarda kallus oluşumu minimaldir ve bunlar kırıkta veya bağ dokusu ara

bileşenleri olmadan doğrudan kemik onarımı yoluyla iyileşirler [3]. Bununla birlikte internal fiksasyonun kendisinin kırık iyileşmesini hızlandırmadığı düşünülmüştür [58]. Uzun kemiklerdeki bu durumun aksine bazı klinik çalışmalarda spinal enstrümantasyonun posterolateral spinal füzyon sürecini hızlandırdığı öne sürülmüştür [56, 57]. Yuan ve ark., bir kohort çalışmasında pedikül vidası ile enstrümante edilen füzyonlarda, enstrümantasyon uygulanmayan füzyonlara oranla solid füzyon oluşumuna kadar geçen sürenin daha kısa olduğunu bildirmişlerdir [56]. Bu çalışmada aynı zamanda pedikül vidası ile enstrümante edilen grupta enstrümantasyon uygulanmayan gruba oranla her takip değerlendirmesinde füzyon oranının daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Kornblatt ve ark., internal fiksasyonun spinal füzyondaki psödoartroz oranını istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığını ve spinal füzyon oluşumu için gereken zamanı kısalttığını bildirmişlerdir [57]. Bununla birlikte bu bulgular esas olarak radyografik değerlendirmeye dayanmaktadır. Füzyon durum değerlendirmesinde radyografinin güvenilirliğinin düşük olduğu düşünülürse cerrahi eksplorasyon veya histolojik inceleme gibi diğer tanı yöntemleriyle de bu bulguların desteklenmesi önerilmiştir.

Uzun kemik iyileşmesiyle spinal füzyon iyileşmesi arasında bazı farklar olduğu bildirilmiştir [3, 52, 55]. Bu farklılıkların muhtemel nedenlerinden biri kırık veya füzyon bölgesindeki lokal kan akımı değişiklikleri olabilir.

Otolog kemik grefti yerleştirildikten kısa süre sonra yetersiz dolaşım nedeniyle osteojenik hücrelerin çoğunun ölmesinden dolayı başarılı bir kemik iyileşmesinde çevre dokulardan revaskülarizasyon oluşması çok önemlidir [7, 22]. Uzun kemik kırıklarında intramedüller çivileme veya kompresyon plağı uygulanması gibi yöntemlerle kırık sahasındaki kan akımı bozulmaktadır[68]. Böylece vasküler rejenerasyon için gereken alan azalmakta ve muhtemelen internal fiksasyonun lokal mekanik ortam üzerine olan olumlu etkileri azalmaktadır. Bununla birlikte posterolateral spinal artrodezde transpediküler vida fiksasyonunun, omurganın damarsal anatomisi düşünüldüğünde

transvers çıkıntılar arası boşluklardaki kan akımını bozmadığı düşünülmektedir.

2.5. SPİNAL FÜZYON OLUŞUMUNUN RADYOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ:

Lenke ve ark., 1992 yılında istmik spondilolistezis vakalarındaki in situ füzyon sonuçlarını bildirdikleri çalışmalarında intertransvers füzyon için bir sınıflandırma sistemi ortaya koymuşlardır [69]. Bu sisteme göre değerlendirmeler düz grafler üzerinden yapılmaktadır. Bu sistem halen kullanılmaktadır, ancak gelişen tekniklere (BT, mikroBT, mikroMR) rağmen yeni ve geçerli bir radyolojik sınıflandırma sistemi ortaya konulmuş değildir. (Tablo 2.7, [69])

Tablo 2.7 : Lenke sınıflandırmasına göre radyolojik değerlendirme.

A	İki taraflı büyük solid trabeküle füzyon kitlesi (kesinlikle solid)
B	Tek taraflı büyük – karşı tarafta küçük solid füzyon kitlesi (muhtemel solid)
C	İki taraflı küçük, ince ve arada boşluk içeren füzyon kitlesi (muhtemel solid değil)
D	İki taraflı greft rezorpsiyonu veya iki taraflı aşikar düzeyde psödoartroz (kesinlikle solid değil)

2.6.SPİNAL FÜZYON OLUŞUMUNUN HİSTOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ:

Füzyon oluşumunun histolojik evrelemesi konusunda Emery ve ark.'nın 1994 yılında ortaya koydukları evreleme sistemi bulunmaktadır. (Tablo 2.8, [34]) Bu çalışmada Emery, radyasyonun füzyon üzerine olan etkilerini bir köpek modelinde incelemiş ve ameliyat öncesinde veya ameliyat

sonrası geç dönemde uygulanan radyoterapinin spinal füzyon oluşumunda olumsuz etkisinin olmadığı, ancak hemen cerrahi sonrası erken dönemde uygulanan radyoterapinin spinal füzyon oluşumunu önemli ölçüde olumsuz etkilediği sonucuna varmıştır [34].

Tablo 2.8 : Greft-vertebra cismi bileşmelerindeki iyileşmenin histolojik evrelendirmesi (Emery evreleme sistemi).

Skor (puan)	Mevcut Doku
7 puan	Sadece kemik doku
6 puan	Kemik doku, fibrokartilaj dokudan daha fazla
5 puan	Fibrokartilaj doku, kemik dokudan daha fazla
4 puan	Sadece fibrokartilaj doku
3 puan	Fibrokartilaj doku, fibröz dokudan daha fazla
2 puan	Fibröz doku, fibrokartilaj dokudan daha fazla
1 puan	Sadece fibröz doku
0 puan	Boş adacıklar

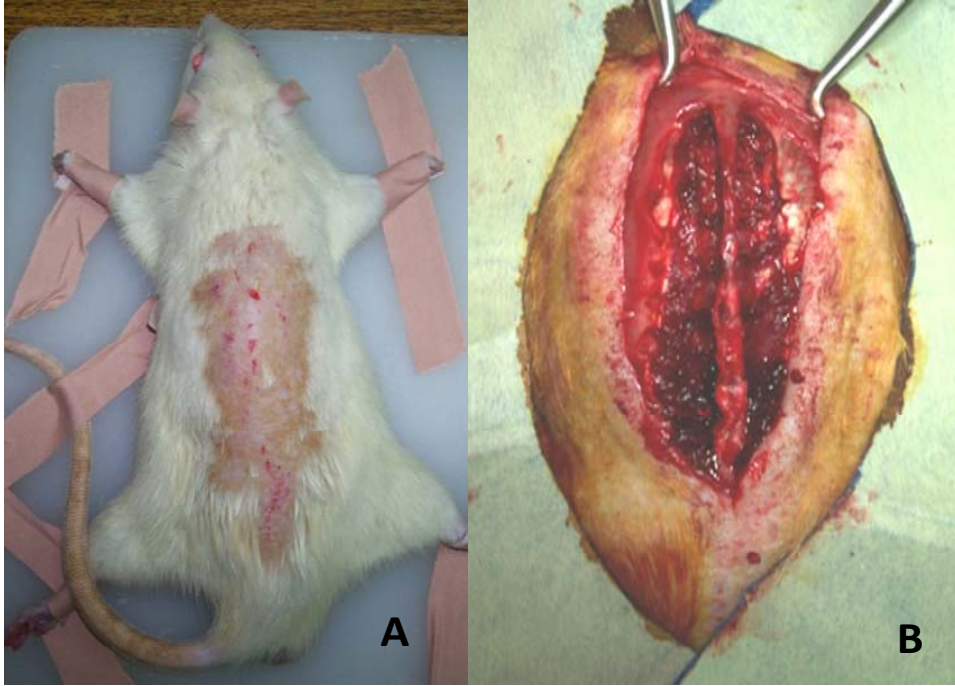
3. MATERYAL VE METOD

3.1. Cerrahi İşlemler

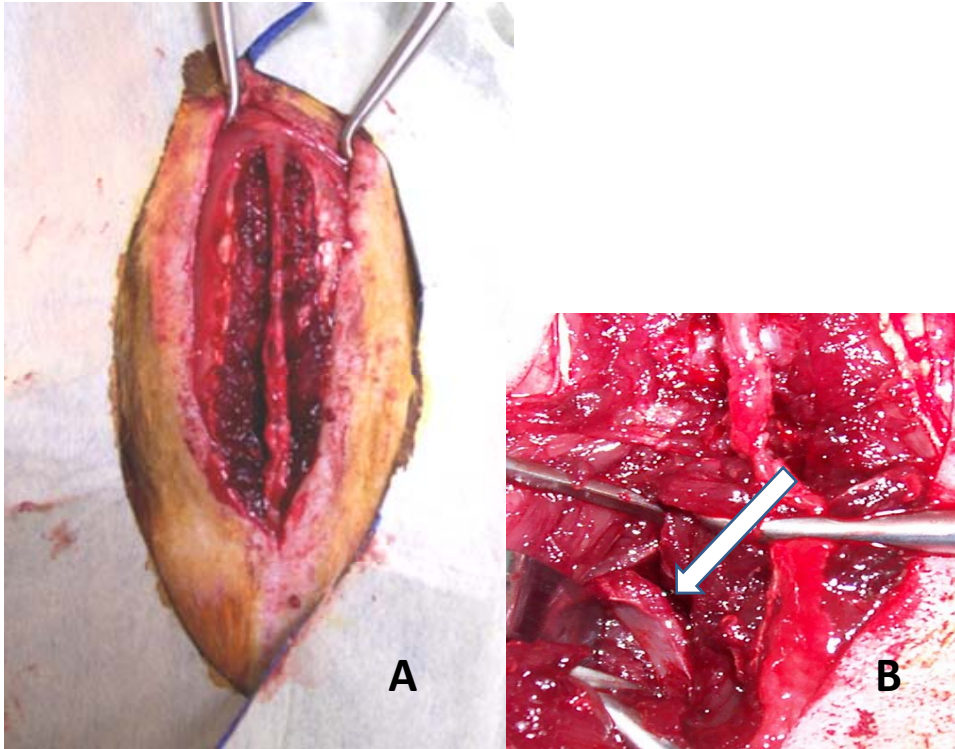
Bu deneysel çalışma, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarında yapıldı. Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulundan 09.05.2008 tarihinde 2008/41-9 karar numarası ile onay alındı. Çalışmada ortalama ağırlıkları 300-350 gram arasında olan ortalama 24 haftalık 27 adet Wistar cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar başlangıçta her grupta 12 hayvan olacak şekilde 2 gruba ayrıldı. Tüm ratlar cerrahi öncesi ve sonrasında sabit sıcaklıktaki ortamda korundu ve ad libitum şeklinde beslendi. Çalışma süresince kafesleri düzenli olarak temizlendi. Hayvanlardan herhangi birinde %15'ten fazla kilo kaybı olması durumunda spinal füzyonun da olumsuz etkilenebileceği düşünülerek, bu hayvan çalışmadan çıkarıldı.

Ratlara anestezik madde olarak Ketamin 90 mg/kg ve Ksilazin 10 mg/kg intraperitoneal olarak uygulandı. Ratlar, ağrıya yanıt ile anestezinin derinliği değerlendirildikten sonra yüzüstü pozisyonda ameliyat masasına sabitlendi ve sırt kısımları geniş şekilde tıraş edildi, %10 povidon iyot solüsyonu ile cerrahi saha temizlendi ve steril yapışkanlı örtüler ile cerrahi alan dış ortamdan ayrıldı. Standart posterior orta hat yaklaşımıyla girildi; cilt, ciltaltı ve fasya geçilerek paravertebral kaslara ulaşıldı. (Şekil 3.1)

Her iki tarafta fasya geçildikten sonra paraspinal bölgeye iki ayrı insizyonla ulaşıldı. Paravertebral kaslar, önce keskin diseksiyonla spinöz çıkıntıların yan kısımlarından ayrıldı, daha sonra laminalar üzerinden künt diseksiyonla kaldırıldı. Yüksek hızlı burr ile hem L1-L2 hem de L4-L5 segmentlerindeki posterior elemanlar(laminalar, faset eklemler, spinöz çıkıntıların her iki yan kısımları) dekortike edildi. Tüm ratların fasya altında kalan kısımlarından paravertebral kasları sağ ve sol taraflarda transekte edilerek her iki iliak kanada ulaşıldı ve her iki iliak kanatları çıkarılabilen maksimum büyüklükte çıkarıldı.(Şekil 3.2)



Şekil 3.1: Cerrahi İşlem. A) Anestezi sonrası rata ameliyat için pozisyon verilmesi, B) Posterior orta hat insizyonla girildikten sonra posterior vertebral yapıların eksplere edilmesi.



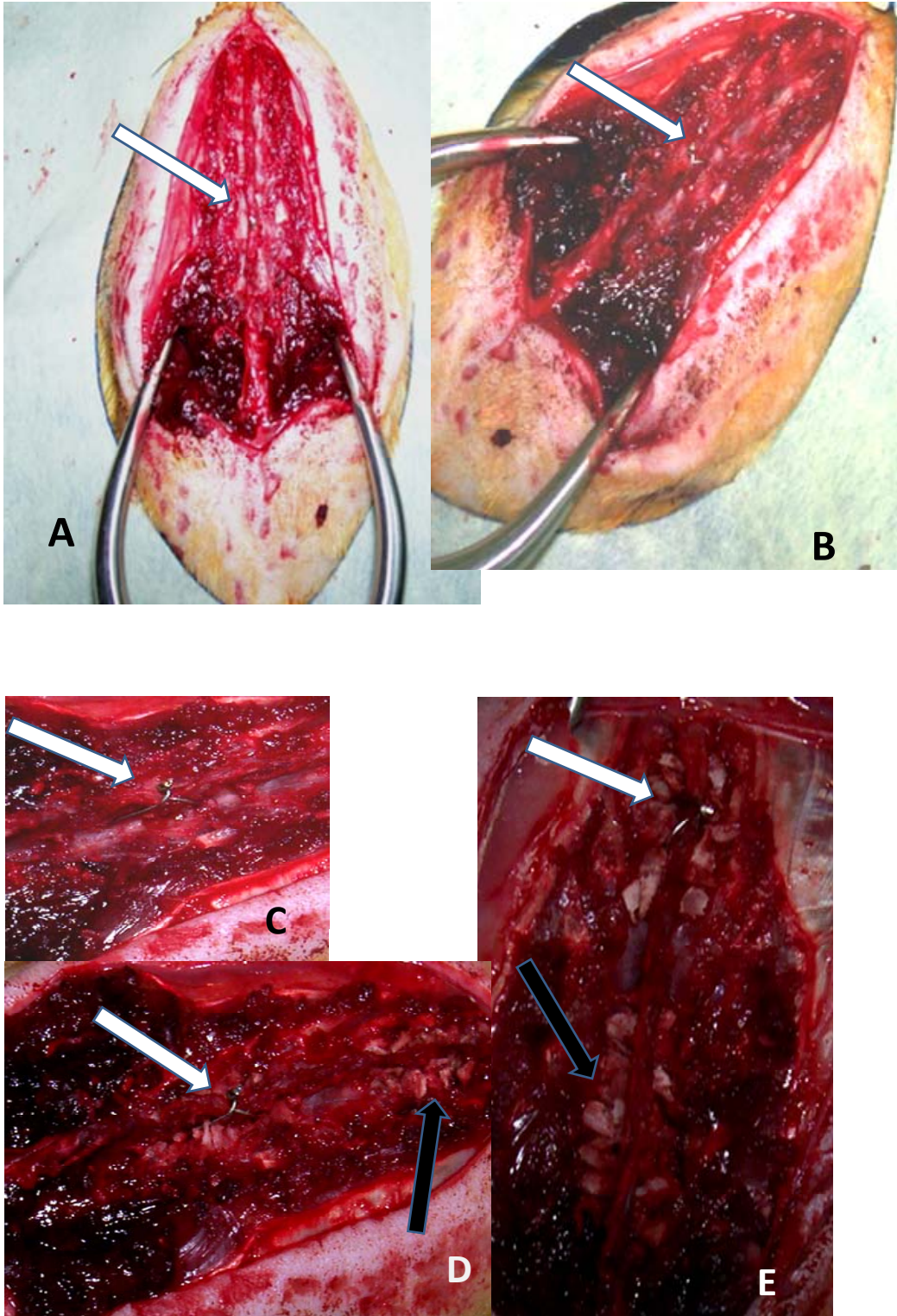
Şekil 3.2: Cerrahi İşlem. A) Posterior dekortikasyon sonrası görünüm B) Paravertebral kasların transekte edilerek iliak kanatlara ulaşılması.

Bu işlemler sırasında spinöz çıkıntılar arası ligamentlerin korunmasına dikkat edilerek ratların yarısına (12 adet) L1-L2 vertebraları arasına yüksek hızlı burr ile sadece dekortikasyon; L4-L5 vertebraları arasına dekortikasyon ve spinöz çıkıntılar arası telleme uygulandı. İnterspinöz telleme için 1 nolu çelik sternotomi dikiş teli kullanıldı. Diğer 12 rat için ise L1-L2 vertebraları arasına dekortikasyon ve spinöz çıkıntılar arası telleme; L4-L5 vertebraları arasına sadece dekortikasyon uygulandı.

Çıkarılan iliak kanatlar küçük parçalar haline getirildi ve elde edilen otogreft daha önce burr yardımı ile dekortike edilmiş olan vertebraların posterior elemanları üzerindeki füzyon planlanan bölgelere, üst ve alt seviyelerde eşit miktarda (2'şer cc) olacak şekilde yerleştirildi. (Şekil 3.3) Mümkün olduğunca korunmaya çalışılmış olan paravertebral kaslar, yerleştirilmiş olan greftlerin üzerine dikkatli bir şekilde kapatıldı.

Anatomik katlardan kas, fasya, ciltaltı emilebilen dikişlerle ve cilt emilemeyen ipek dikiş ile anatomiye uygun olarak dikildi. Hayvanlar ayılma döneminde ve sonrasında, stres durumlarında ratlarda görülebilen kanibalizm (yamyamlık) etkisinden her birini korumak amacıyla ayrı kafeslere yerleştirildi. Üç rat ameliyat sonrası ilk günde ölürken, bir rat ise yedinci günde öldü. Erken ölümlerin muhtemel nedeninin anestezi maddelerinin doz aşımı olduğu düşünülürken, yedinci günde ölen hayvanda ölümü açıklayabilecek herhangi bir neden (beslenme bozukluğu, enfeksiyon, vb.) bulunamadı. Bu ölen hayvanların yerine yeni ratlar alınarak aynı cerrahi işlemler uygulandı.

Her iki gruptaki ratlardan randomize olarak 3'er tanesi 1.,3.,6. ve 12. haftalarda yüksek doz pentobarbital enjeksiyonu ile öldürüldü. Posteriodan orta hat insizyonu ile girilerek üst torakal ve sakral bölgeler arasında kalan vertebral kolon tüm bir blok halinde füzyon bölgeleri üzerindeki yumuşak doku örtüsü korunacak şekilde çıkarıldı. Omurgalar blok şeklinde çıkarıldıktan sonra %10 PBS içinde tamponlanmış nötral formalin solüsyonuna konuldu. Füzyon oluşumunu olumsuz etkileyebileceği düşünülerek, bir hayvanda %15'ten fazla kilo kaybı olduğu için bu hayvan çalışma sonuçlarına dahil edilmedi.



Şekil 3.3: Cerrahi İşlem. A,B,C) Dekortike edilmiş yüzeyler ve interspinöz telleme. D,E) İliak kanattan alınan greftlerin parçalanıp füzyon planlanan bölgeye yerleştirilmesi. (Beyaz oklar; enstrümante edilen segment, Siyah oklar; enstrümante edilmeyen segment).

3.2. Radyolojik İnceleme

Vertebraların %10'luk tamponlanmış nötral formalinle fiksasyonunu takiben, vertebra blokları her iki uçtaki füzyon bölgeleri korunacak şekilde ortadan ikiye bölündü. Bu işlem örneklerin radyolojik olarak değerlendirmenin gerçekleştirileceği mikro-bilgisayarlı tomografi cihazına daha kolay yerleştirilebilmesi için yapıldı. Daha sonra örnekler Kanada Calgary Üniversitesi Hücre Biyolojisi ve Anatomi Bölümü bünyesindeki laboratuvarında mikrobilgisayarlı tomografi ile incelendi.

Rat vertebral kolonları, Scanco VivaCT System (Scanco Medical AG, Brüttsellen, Switzerland) mikro-bilgisayarlı tomografi cihazı kullanılarak 35 µm izotropik çözünürlükte tarandı. L1-L2 ve L4-L5 vertebral segmentlerin taramaları elde edildi. Standart kemik morfometrik değişkenleri, Scanco yazılımı kullanılarak daha önce tanımlandığı şekilde [70, 71] hesaplandı. Kemik mineral yoğunluğu, daha önce tanımlandığı şekilde [72] Scanco yazılımı ile standardize edilerek hesaplandı. Analizler, verilerin üç versiyonu üzerinde yapıldı. İlkinde, tüm örnek tarama alanı kullanıldı. İkincisinde, vertebra içerisindeki trabeküler kemik, Scanco yazılımındaki yarı otomatik ayırıcı cihaz kullanılarak hesaplandı. Üçüncüsünde, iki vertebra arasındaki füzyon kitlesi çevresinde dairesel bir ilgi alanı çizildi. Bu örnek alanlarının her biri için kemik mineral yoğunluğu, trabeküler kalınlık, total kemik hacmi, trabeküler ayrışma ve bağıl yoğunluk değerleri elde edildi. Elde edilen sonuçlar Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Burada ortalama¹ olarak ifade edilen değer, kemik ve kemik iliğinin dahil edilmiş olduğu haldeki kemik mineral yoğunluğudur (görünen yoğunluk); ortalama² olarak ifade edilen değer ise füzyon kitlesi içindeki sadece kemiği içeren doku yoğunluğudur.

3.3. Histolojik İnceleme

Örnekler %10'luk tamponlanmış nötral formalin çözeltisinde tespit edildikten sonra öncelikle mikro-bilgisayarlı tomografi ile tarama işlemleri yapıldı. Mikrotomografik ölçümler sonrasında dokular De Castro çözeltisinde kontrollü olarak dekalsifiye edildi ve sabit vakumlu otomatik bir doku takip

Tablo 3.1: Histolojik ve radyolojik ölçümlerin sonuçları.

Örnek adı	Top.füzyon alanı	Kıkırdak alanı/ top.füz.alanı	Trab. çapı	Y.trab.alan/ top.füz.	Osteobl. tab.kalın.	Emery skoru
1UIU1	4508709	0,219044077	6,9	0,17	23,87	2
1UIL1	9880086,5	0,120419634	5,9	0,10	19,79	2
1LIU2	7505804	0,23459289	8,96	0,12	43,57	3
1LIL2	14903461	0,074655075	32,02	0,08	39,87	3
1UIU3	5434266,5	0,12347224	29,19	0,36	49,97	4
1UIL3	3978006,5	0,198493869	4,7	0,15	32,8	4
1UIU4	6890956	0,054478508	5,49	0,08	19,67	2
1UIL4	9000317	0,104046169	29,82	0,23	31,09	5
1LIU5	984806	0,092073058	10,98	0,17	18,09	2
1LIL5	3208739	0,205941586	21,97	0,27	24,56	3
3UIU1	2346997	0,288770672	39,6	0,41	46,98	5
3UIL1	11987337	0,122286147	26,5	0,12	39,42	5
3UIU2	6820654,5	0,042415463	67,92	0,24	69,08	5
3UIL2	986877,3	0,114847003	34,08	0,20	45,08	5
3LIU4	5564323	0,082255829	46,89	0,22	56,7	5
3LIL4	14866112	0,079745927	78,99	0,11	56,89	6
3LIU5	13008009	0,076853614	23,9	0,21	36,89	5
3LIL5	967890	0,354469	67,9	0,40	59,2	5
3LIU6	3737110,75	0,105055348	47,45	0,25	31,09	5
3LIL6	2132988	0,333714864	56,9	0,39	61,9	5
6LIU1	9390901	0,018211536	29,86	0,45	76,07	6
6LIL1	8016678,5	0,016385575	38,14	0,75	55,96	6
6LIU2	11280744	0,056358417	28,87	0,35	50,78	6
6LIL2	78912223	0,120048969	78,98	0,54	87,04	7
6UIU3	99788677	0,143571279	89,04	0,53	76,98	7
6UIL3	4443677	0,12694442	29,07	0,24	45,97	6
6UIU4	997678	0,100912318	78,07	0,60	57,4	6
6UIL4	5912628,5	0,007324331	62,86	0,36	65,98	6
6LIU5	99807760	0,020010463	45,8	0,22	35,8	6
6LIL5	9987507	0,059082312	67,9	0,58	65,2	7
12UIU1	11665607,8	0,049513151	59,9	0,75	68,8	7
12UIL1	1006780,3	0,029676981	48,3	0,66	74,6	7
12LIU2	9876780	0,063898356	34,08	0,30	45,89	6
12LIL2	1456678	0,220529863	43,65	0,24	62,08	6
12LIU3	788698	0,015485015	67,8	0,68	59	6
12LIL3	1437658	0,022406511	70,9	0,66	75,07	6
12UIL4	877677,9	0,074448496	32,7	0,26	23,6	5
12LIU5	9890876	0,00145801	33,27	0,28	45,07	6
12LIL5	13612293	0,001303336	237,79	0,67	78,09	7
12UIU6	800976547	0,004841158	113,78	0,39	45,7	6
12UIL6	899976	0,259388028	68,98	0,40	87,09	6
12UIU7	9908765	0,015204115	144,09	0,30	68,9	6
12UIL7	2308765	0,29346208	75,09	0,34	59	6

Tablo 3.1 (Devamı): Histolojik ve radyolojik ölçümlerin sonuçları.

Örnek adı	VOX-TV	VOX-BV	VOX-BV/TV	Ortalama1	Ortalama2	Yeni trabeküler kemik alanı	Kıkırdak alanı
1UIU1	744,2488	129,4906	0,174	85,9599	770,8047	753023,1	987606
1UIL1	1113,128	198,9259	0,1787	128,163	767,9191	959586,2	1189756
1LIU2	585,292	123,7536	0,2114	184,4339	774,8447	879802,3	1760808
1LIL2	977,22	164,5401	0,1684	120,516	765,6105	1163505	1112619
1UIU3	573,2347	126,8937	0,2214	175,9211	742,02	1942177	670981,1
1UIL3	958,7343	169,3102	0,1766	108,1075	763,4462	608954,9	789609,9
1UIU4	745,1626	124,6028	0,1672	108,7568	783,2132	559056	375409
1UIL4	975,4827	206,034	0,2112	177,2196	763,9512	2091334	936448,5
1LIU5	600,3217	143,0412	0,2383	193,668	747,4307	167652	90674,1
1LIL5	1209,528	200,4551	0,1657	101,254	762,4363	867279,1	660812,8
3UIU1	851,1257	186,6863	0,2193	141,5093	782,131	956788	677743,9
3UIL1	1061,863	218,6918	0,206	153,7735	773,5461	1454901	1465885
3UIU2	706,0345	112,093	0,1588	80,3328	843,6683	1660142	289301,2
3UIL2	849,2295	209,7865	0,247	212,3528	855,5717	194552	113339,9
3LIU4	637,6864	109,6628	0,172	120,8767	870,3608	1245674	457698
3LIL4	1120,225	163,4698	0,1459	70,4494	801,8979	1575152	1185512
3LIU5	587,0211	96,9582	0,1652	105,1497	771,0933	2776088	999712,5
3LIL5	787,5492	133,2319	0,1692	112,5803	817,3364	388089	343087
3LIU6	535,889	117,0315	0,2184	173,1075	807,5251	938541,8	392603,5
3LIL6	1164,093	215,3484	0,185	64,173	755,222	840987,9	711809,8
6LIU1	597,5759	127,0707	0,2126	180,8989	827,8691	4223121	171022,7
6LIL1	1025,856	181,179	0,1766	104,3561	815,0278	6021325	131357,9
6LIU2	650,4193	106,5123	0,1638	81,92	742,8857	3979747	635764,9
6LIL2	1006,33	125,9641	0,1252	27,8855	743,1743	42630778	9473331
6UIU3	729,8817	111,7391	0,1531	81,9921	822,8192	53347554	14326788
6UIL3	793,0587	100,3593	0,1265	48,3017	832,4862	1077090	564100
6UIU4	940,7878	157,8148	0,1677	85,4549	833,5684	600897	100678
6UIL4	1104,66	182,0097	0,1648	113,0132	831,1155	2140371	43306,05
6LIU5	758,0178	142,4731	0,188	147,2807	804,6394	22445740	1997200
6LIL5	1126,998	225,5624	0,2001	130,5437	777,009	5780095	590085
12UIU1	447,0041	91,2344	0,2041	163,3684	889,3342	8771997	577601
12UIL1	665,8591	234,5253	0,3522	256,8645	795,6938	668812,8	29878,2
12LIU2	406,5534	68,1533	0,1676	109,6225	846,4096	3005654	631110
12LIL2	1031,497	161,0508	0,1561	70,6658	813,8735	344390	321241
12LIU3	467,256	93,787	0,2007	171,4483	901,0933	533432	12213
12LIL3	974,8763	183,4521	0,1882	109,2618	852,9024	945755	32212,9
12UIL4	1275,172	203,1051	0,1593	88,9899	829,3841	224545	65341,8
12LIU5	467,7887	85,6211	0,183	127,9466	870,5051	2777552	14421
12LIL5	996,522	188,8048	0,1895	94,8334	811,4929	9118052	17741,39
12UIU6	443,2433	80,0168	0,1805	132,708	896,6205	3,11E+08	3877654
12UIL6	863,8347	178,4439	0,2066	101,3983	818,4185	357899	233443
12UIU7	687,1061	100,0152	0,1456	81,7035	871,4429	2987123	150654
12UIL7	1014,284	156,5157	0,1543	82,2085	811,4207	788654,1	677535

cihazı ile izlenerek parafine gömüldü. Üç-beş mikrometre kalınlığındaki kesitler hematoxilen eozin (HE), Masson trikrom (MT) ve metilen mavisi azür II (MM) ile boyandı. MT ile kompakt kemiğin kırmızı, osteoid ve kıkırdakın yeşil, hücre sitoplazmalarının eflatun boyandığı yüksek kontrastlı görüntüler elde edildi. MM ile kıkırdak hücre dışı matriksi, çevre dokudan farklı olarak eflatun metakromatik olarak görüntüledi. Füzyon alanı, bilgisayar ve dijital kamera (Leica DFC 480, Westlar Almanya) bağlantılı Leica DMR (Westlar, Almanya) marka ışık mikroskopunda görüntüledikten sonra füzyon alanı en küçük büyütmede (x25) saklanıp Qwin plus marka görüntü analiz programı ile (Leica, Westlar, Almanya) kantitatif olarak değerlendirildi. Trabeküler kemik ve kıkırdak alanları total füzyon alanına oranlanarak piksel ölçümleri mikrometre kareye dönüştürüldü. Ortalama trabekül çapı mikrometre cinsinden hesaplandı. Bunun için her örnekte en az üç adet 200'lük büyütme alanında onar adet trabekül çapı ölçümü yapıldı. Osteoblastlarla döşeli osteoid/yeni kemik uzunluğu 200'lük üç büyütme alanında hesaplanarak bu alanlardaki toplam osteoid, yeni kemik uzunluğuna oranlandı; elde edilen oran yüzde olarak kaydedildi. Her örnek semikantitatif olarak daha önce Emery'nin bildirdiği derecelendirme sistemine göre de skorlandı [34]. (Tablo 3.1) Buna göre füzyon alanında sadece kemik varsa örnek 7, kıkırdaktan fazla kemik varsa 6, kemikten fazla kıkırdak varsa 5, fibröz dokudan fazla kıkırdak varsa 4, kıkırdaktan fazla fibröz doku varsa 3, sadece fibröz doku varsa 2, belirgin bir yarık varsa 1 skoru aldı.

Histolojik olarak şu parametreler değerlendirildi; osteoblast tabakası boyutları, trabekül çapı, yeni oluşan trabeküler alan, kıkırdak alanı, toplam füzyon alanı, kıkırdak alanı/toplam füzyon alanı oranı, yeni oluşan trabeküler kemik alanı/toplam füzyon alanı oranı ve Emery'nin tanımladığı sisteme göre histolojik olarak füzyon evrelemesi [34, 55, 73-75].

3.4. İstatistiksel İnceleme

Bağımsız değişkenler gruplar, bağımlı değişkenler histolojik ve radyolojik ölçümlerdir. Enstrümantasyonun oluşan füzyon kitlesi üzerine etkisinin tam olarak değerlendirilebilmesi için verilerin parametrik olarak hesaplanmasının daha uygun olacağı düşünüldü. Deney gruplarındaki hayvanlar özdeş kabul edilerek takip eden haftalardaki ardışık hayvanlardan elde edilen değerler aynı hayvanın devam eden süreçteki değerleri olarak ele alındı. Örneklerden elde edilen verilerle, tekrarlayan ölçümlerle değişkenlerin analizi(ANOVA) uygulanarak istatistik değerlendirme yapıldı. Tüm veriler ortalama ve standart sapma değerleriyle temsil edildi. Ölçümlerde öncelikle Mauchly küresellik testine bakıldı. $P < 0,05$ değerinin bulunması durumunda küreselliğin olmadığı kabul edildi. $P > 0,05$ olduğunda ise küreselliğin olduğu kabul edildi. Küresellik sağlandığında var sayılan küresellik testi değerine ve bunun, enstrümantasyon ve zamanla etkileşimleri olup olmadığına bakıldı. Mauchly testinde küreselliğin sağlanamaması durumunda Greenhouse-Geisser testi anlamlılığı değerlendirilmedi kullanıldı. Tüm bu testlerde fark, $p < 0,05$ 'ten küçük olduğunda anlamlı olarak kabul edildi. Ayrıca bakılan her histolojik ve radyolojik parametrenin ANOVA sonuçlarına göre grafikleri çizildi.(Şekil 4.1)

Ayrıca enstrümantasyonun uygulandığı ve uygulanmadığı durumlarda, füzyonun oluşup oluşmadığını değerlendirmek için her zaman aralığı içinde Ki-kare testi kullanıldı. Bunun için mikrotomografi ile elde edilen üç boyutlu görüntüler iki ayrı gözlemci tarafından ayrı ayrı ve birlikte Lenke'nin füzyon evreleme sistemi kullanılarak oluşan füzyonun niteliği açısından karşılaştırıldı. Bu evreleme sistemi aslında tranvers çıkıntılar arası füzyon için tanımlanmıştır, ancak biz çalışmamızda spinöz çıkıntıları orta sınır kabul ederek bunun her iki tarafında oluşan füzyonun tomografik niteliklerini değerlendirmek için evreleme sistemini modifiye ederek kullandık. İki ayrı gözlemcinin değerlendirmesi ile elde edilen sonuçlardan A ve B olanlarda füzyon olduğu kabul edilirken; sonuçları C ve D olanlarda füzyon oluşmadığı kabul edildi. Sonuçlar her zaman dönemi için ayrı ayrı Ki-kare testi ile değerlendirildi. (Tablo 4.1, 2, 3, 4)

4. BULGULAR

4.1. Füzyon Oranları

Enstrümantasyonlu ve enstrümantasyonsuz durumlarda füzyon oluşumu oranı açısından fark olup olmadığını değerlendirmek için Ki-kare testi uygulandı. Her zaman dilimi (1, 3, 6 ve 12. haftalar) için enstrümantasyonlu ve enstrümantasyonsuz durumlarda füzyon oluşup oluşmadığı değerlendirildi. (Tablo 4.1,2,3,4)

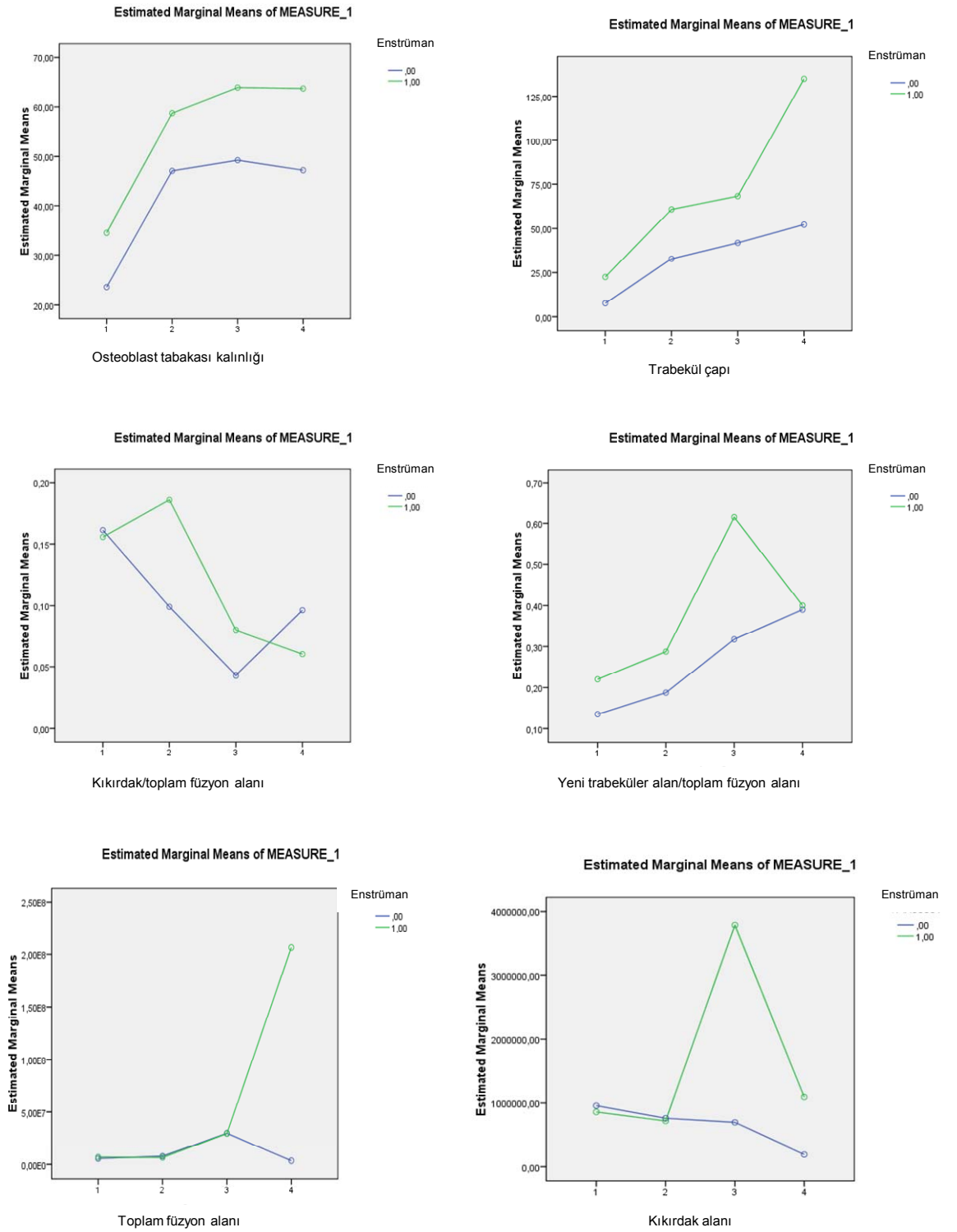
Birinci haftada toplam 10 örnek bulunuyordu. Enstrümantasyonlu ve enstrümantasyonsuz gruplardan birer hayvanda füzyon görülürken diğer dörder hayvanda füzyon görülmedi.

Üçüncü haftada toplam 10 örnek bulunuyordu. Enstrümantasyonlu ve enstrümantasyonsuz gruplardan üçer hayvanda füzyon görülürken diğer ikişer hayvanda füzyon görülmedi.

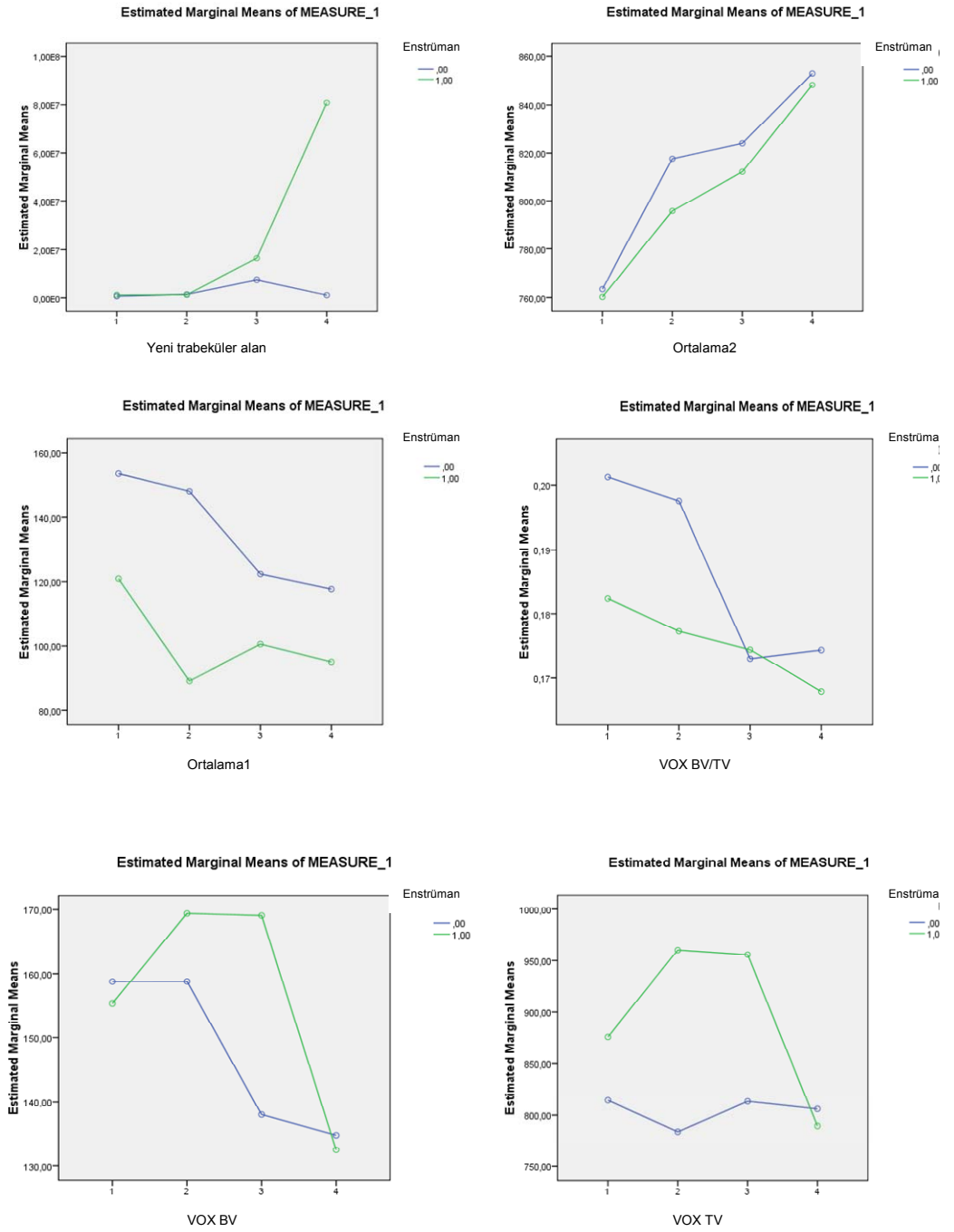
Altıncı haftada toplam 9 örnek bulunuyordu. Enstrümantasyonlu gruptaki 4 hayvanda füzyon görülürken, enstrümantasyonsuz gruptaki 3 hayvanda füzyon görüldü. Her iki grupta birer hayvanda füzyon görülmedi.

Onikinci haftada toplam 13 örnek bulunuyordu. Enstrümantasyonlu gruptaki 3 hayvanda füzyon görülürken, enstrümantasyonsuz gruptaki 5 hayvanda füzyon görüldü. Enstrümantasyonlu gruptaki 3 hayvanda ve enstrümantasyonsuz gruptaki 2 hayvanda füzyon görülmedi.

Elde edilen sonuçlara bakıldığında birinci haftada enstrümantasyonlu ve enstrümantasyonsuz gruplar arasında füzyon oranı açısından fark gösterilemedi ($P= 0,778$). Üçüncü, altıncı ve onikinci haftalarda da her iki grupta elde edilen füzyon oranları arasında anlamlı fark gösterilemedi (3., 6. ve 12. haftalarda P değerleri sırasıyla 0,738 , 0,722 ve 0,413 olarak bulundu). Yani, meydana gelmiş olan füzyon oranlarında enstrümantasyona bağlı olarak gruplar arası farklılık görülmedi. Tüm haftalarda elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, enstrümantasyonlu ve edilmeyen omurgalarda meydana gelen füzyon oranları açısından enstrümantasyona bağlı olarak anlamlı bir fark oluştuğu gösterilemedi.



Şekil 4.1: Bakılan histolojik ve radyolojik parametrelerin dört zaman dilimindeki değişimlerine ait grafikler.



Şekil 4.1 (Devam): Bakılan histolojik ve radyolojik parametrelerin dört zaman dilimindeki değişimlerine ait grafikler.

Tablo 4.1: Ki-kare testi ile birinci haftada tespit edilen füzyon oranları.

1.Hafta	Füzyon		Toplam
	-	+	
Enstrüman -	4	1	5
+	4	1	5
Toplam	8	2	10

Fisher's Exact teste göre $P= 0,778$

Tablo 4.2: Ki-kare testi ile üçüncü haftada tespit edilen füzyon oranları.

3.Hafta	Füzyon		Toplam
	-	+	
Enstrüman -	2	3	5
+	2	3	5
Toplam	4	6	10

Fisher's Exact teste göre $P= 0,738$

Tablo 4.3: Ki-kare testi ile altıncı haftada tespit edilen füzyon oranları.

6.Hafta	Füzyon		Toplam
	-	+	
Enstrüman -	1	3	4
+	1	4	5
Toplam	2	7	9

Fisher's Exact teste göre $P= 0,722$

Tablo 4.4: Ki-kare testi ile onikinci haftada tespit edilen füzyon oranları.

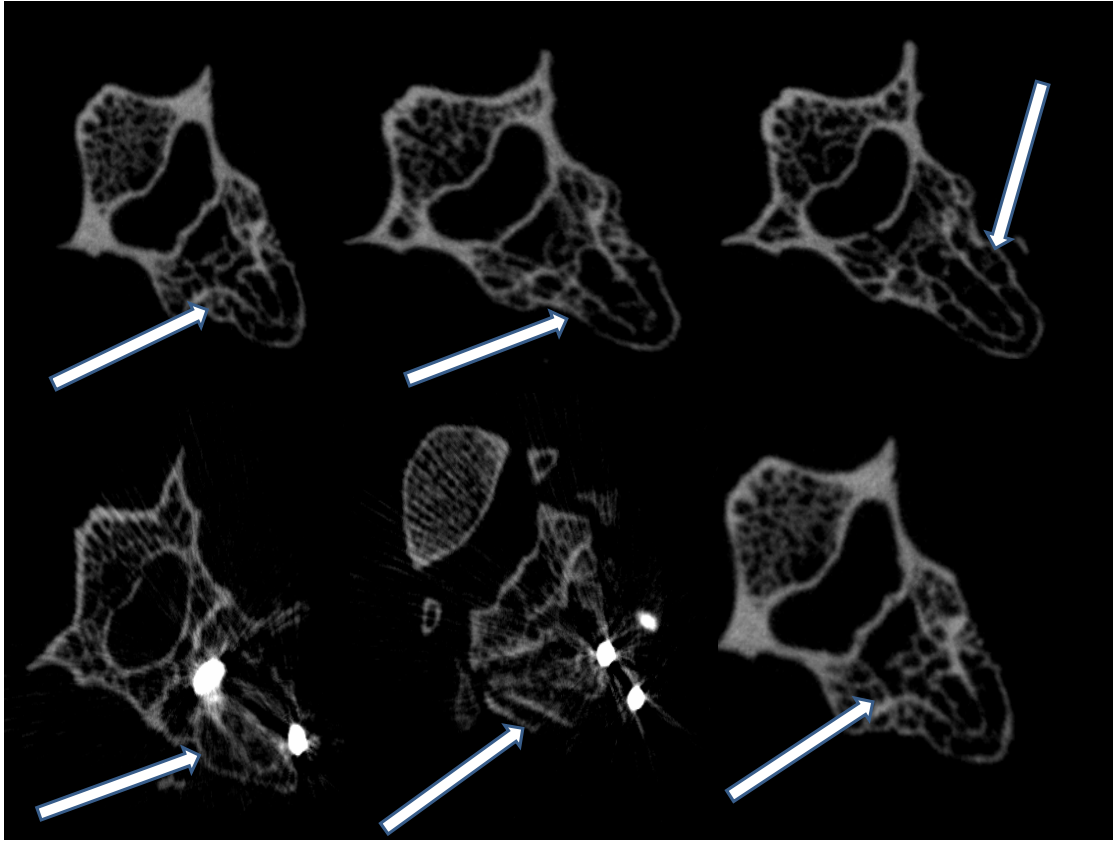
12.Hafta	Füzyon		Toplam	
	-	+		
Enstrüman	-	2	5	7
	+	3	3	6
Toplam		5	8	13

Fisher's Exact teste göre $P= 0,413$

4.2. Radyoloji (Mikro-bilgisayarlı tomografi)

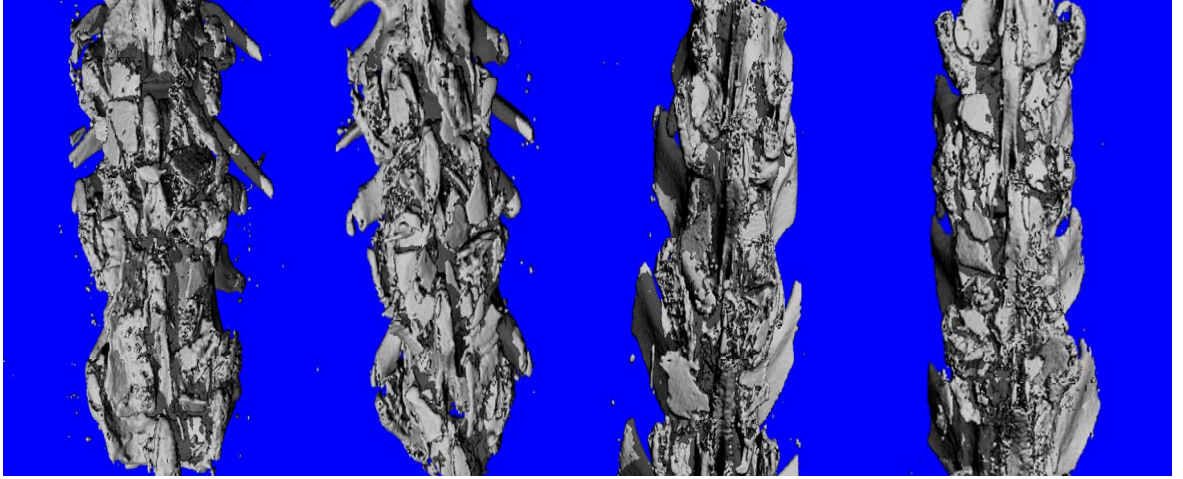
Mikro-bilgisayarlı tomografi ile tüm vertebral segmentler tarandı. Elde edilen veriler, görüntü analizi sırasında voksellerin (volümetrik piksel - bir noktayı üç boyutlu uzayda tanımlayan grafik bilgileri) sayılmasıyla oluşturuldu. Toplam doku hacmi (TV), kemik hacmi (BV), bağıl kemik hacmi (BV/TV), kemik ve kemik iliğinin dahil edilmiş olduğu halde ölçülen kemik mineral yoğunluğunun (görünen yoğunluk) ortalama değeri ortalama¹ ve sadece füzyon kitlesi içindeki kemiği içeren doku yoğunluğunun ortalama değeri ortalama² olarak ifade edildi.

Mikro-bilgisayarlı tomografi ile elde edilen verilerin istatistiksel analizinde enstrümante edilen ve enstrümante edilmeyen gruplar arasında yalnızca ortalama¹ değerinde fark olduğu görüldü. Zaman içindeki değişimin, yalnızca ortalama² değeri için anlamlı olduğu görüldü. (Yani füzyon bölgesindeki kemik doku yoğunluğunun giderek artmış olduğu görüldü. Ancak gruplar arasında fark gösterilemedi.) Diğer parametrelerde meydana gelen değişikliklerin her iki grupta paralel olması nedeniyle gruplar arası fark gösterilemedi. Taramalar sonucunda elde edilen transvers kesitlerde (Şekil 4.2) ve üç boyutlu rekonstrüksiyonlarda (Şekil 4.3) füzyon oluştuğu izlendi. Bu görüntüler, Lenke'nin radyolojik füzyon evrelemesinin modifiye edilerek uygulanabilmesi amacıyla kullanıldı.

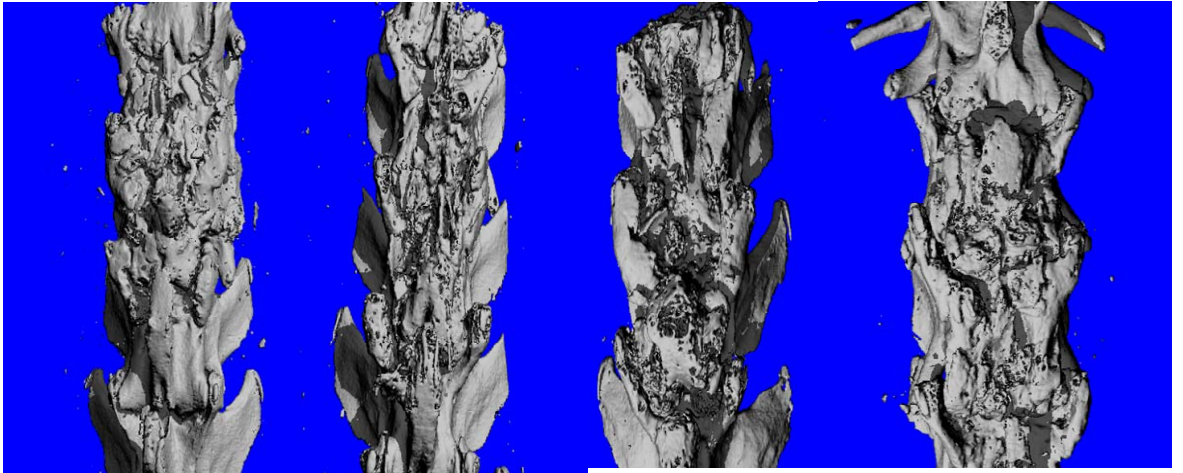


Şekil 4.2: Mikro-bilgisayarlı tomografi kesitlerinden örnekler. Alınan mikro-bilgisayarlı tomografi kesitlerinde daha önce greftlerin yerleştirilmiş olduğu bölgelerde yer yer vertebranın anteriorunda kalan toplam kemik alanını da geçebilecek düzeyde yeni kemik oluşumu gözlemlendi. Şekilde 12 haftalık bir rata ait olan kesitlerde oklarla gösterilmiş olan bölgelerde spinöz çıkıntıların eski sınırları görülebilmekte ve dekortikasyon sonrasında yerleştirilmiş olan greftlerin vertebra ile çok iyi bütünleştikleri ve yeniden şekillenme sonucu trabeküle oldukları gözlenmektedir.

Şekil 4.3: 1,3,6 ve 12.haftalarda oluşmuş olan füzyon örneklerinden bazılarına ait üç boyutlu rekonstrüksiyonlar.

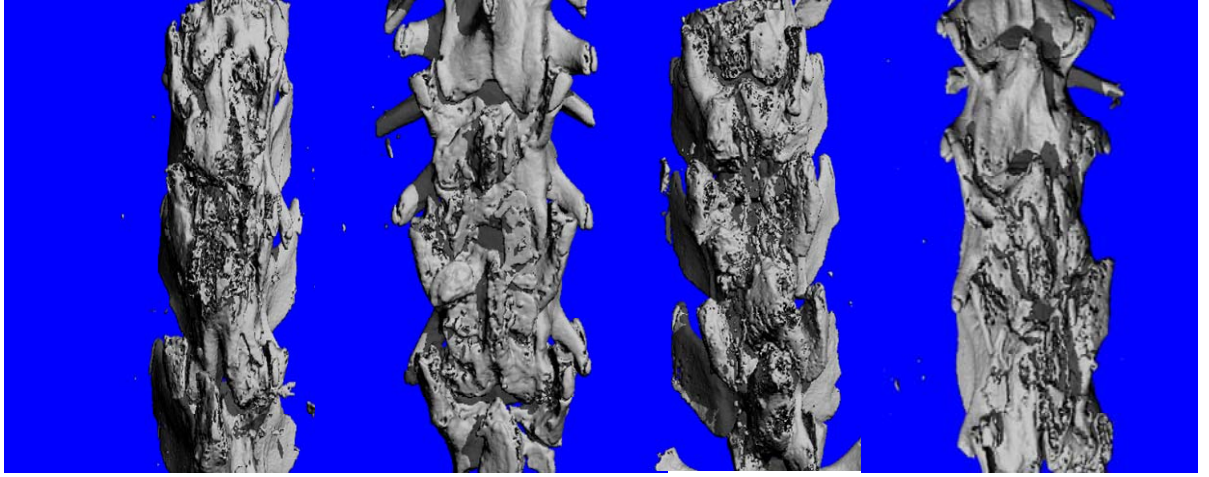


A) Bir haftalık grupta üç boyutlu rekonstrüksiyonla füzyonların değerlendirilmesine ait birkaç örnek.

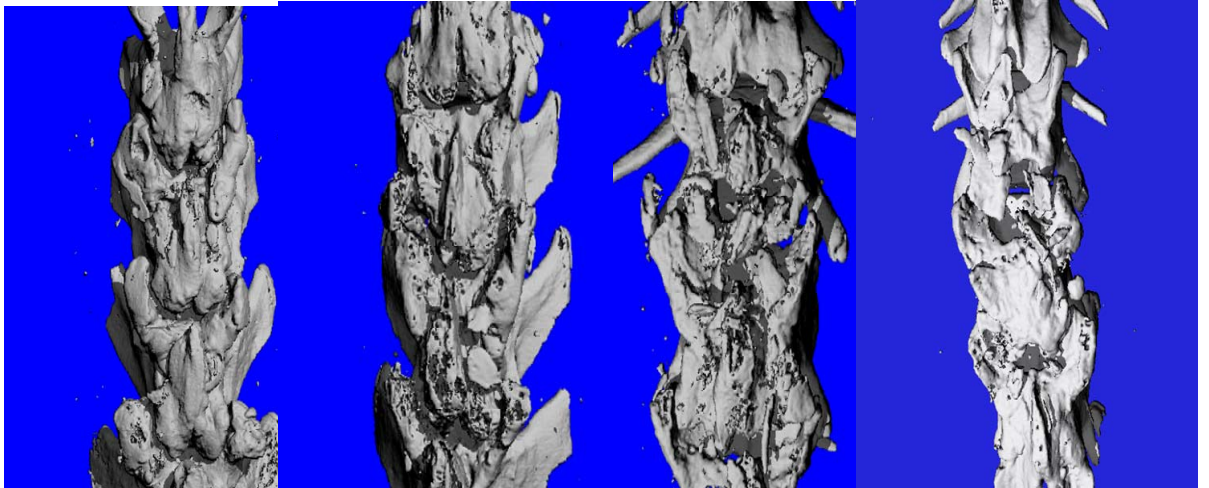


B) Üç haftalık grupta üç boyutlu rekonstrüksiyonla füzyonların değerlendirilmesine ait birkaç örnek.

Şekil 4.3 (Devamı): 1,3,6 ve 12.haftalarda oluşmuş olan füzyon örneklerinden bazılarına ait üç boyutlu rekonstrüksiyonlar.



C) Altı haftalık grupta üç boyutlu rekonstrüksiyonla füzyonların değerlendirilmesine ait birkaç örnek



D) Oniki haftalık grupta üç boyutlu rekonstrüksiyonla füzyonların değerlendirilmesine ait birkaç örnek.

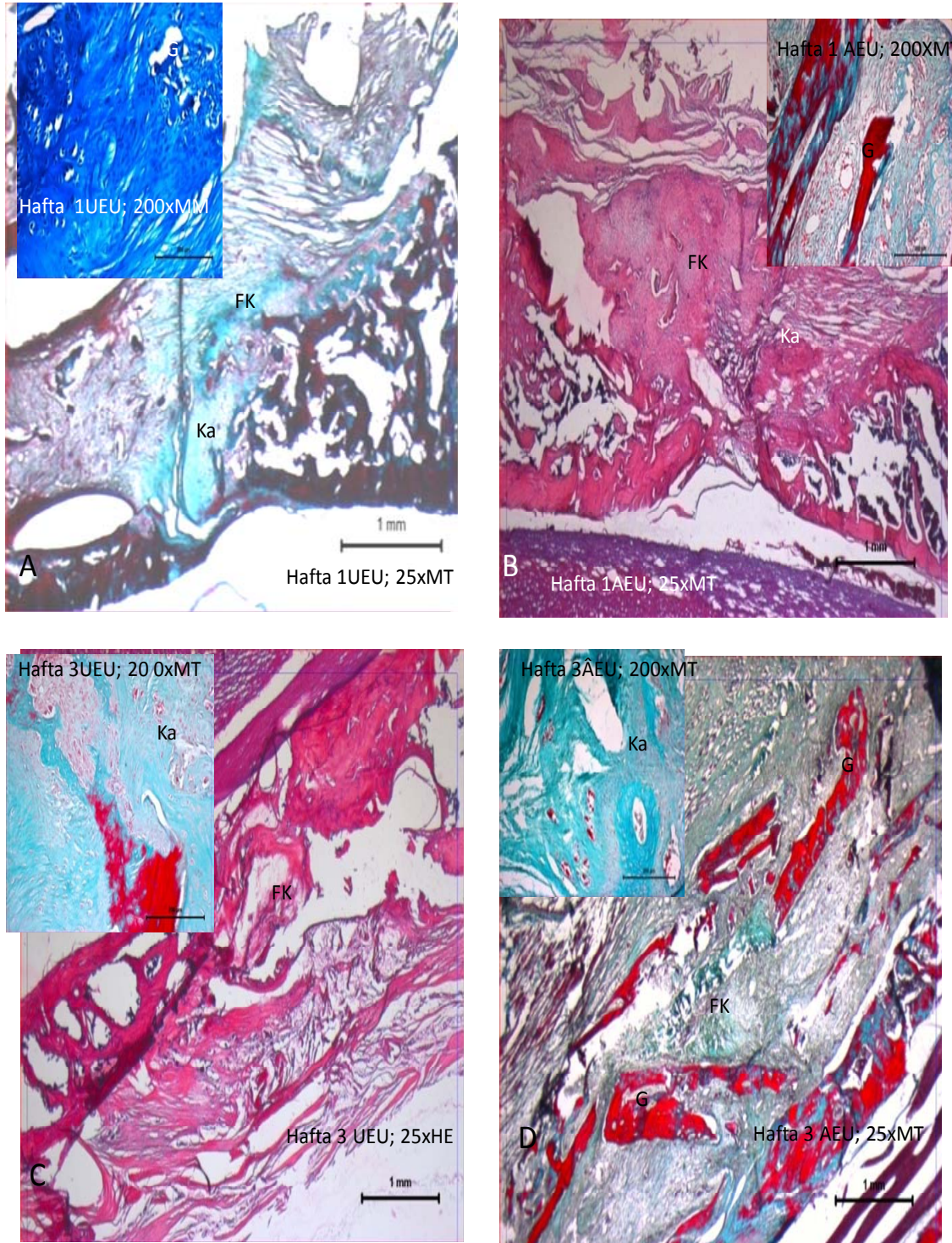
Ortalama1 değerleri, zaman içinde her iki grupta da giderek azalmıştır. Ortalama2 değerleri, aynı zaman dönemlerinde giderek artmıştır. Yani, yeni oluşan füzyon kitlesi içindeki kemik doku yoğunluğu her iki grupta da artmaktadır. Ancak her iki gruptaki artış oranları benzer olduğu için istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır.

4.3. Histoloji ve Histomorfometri

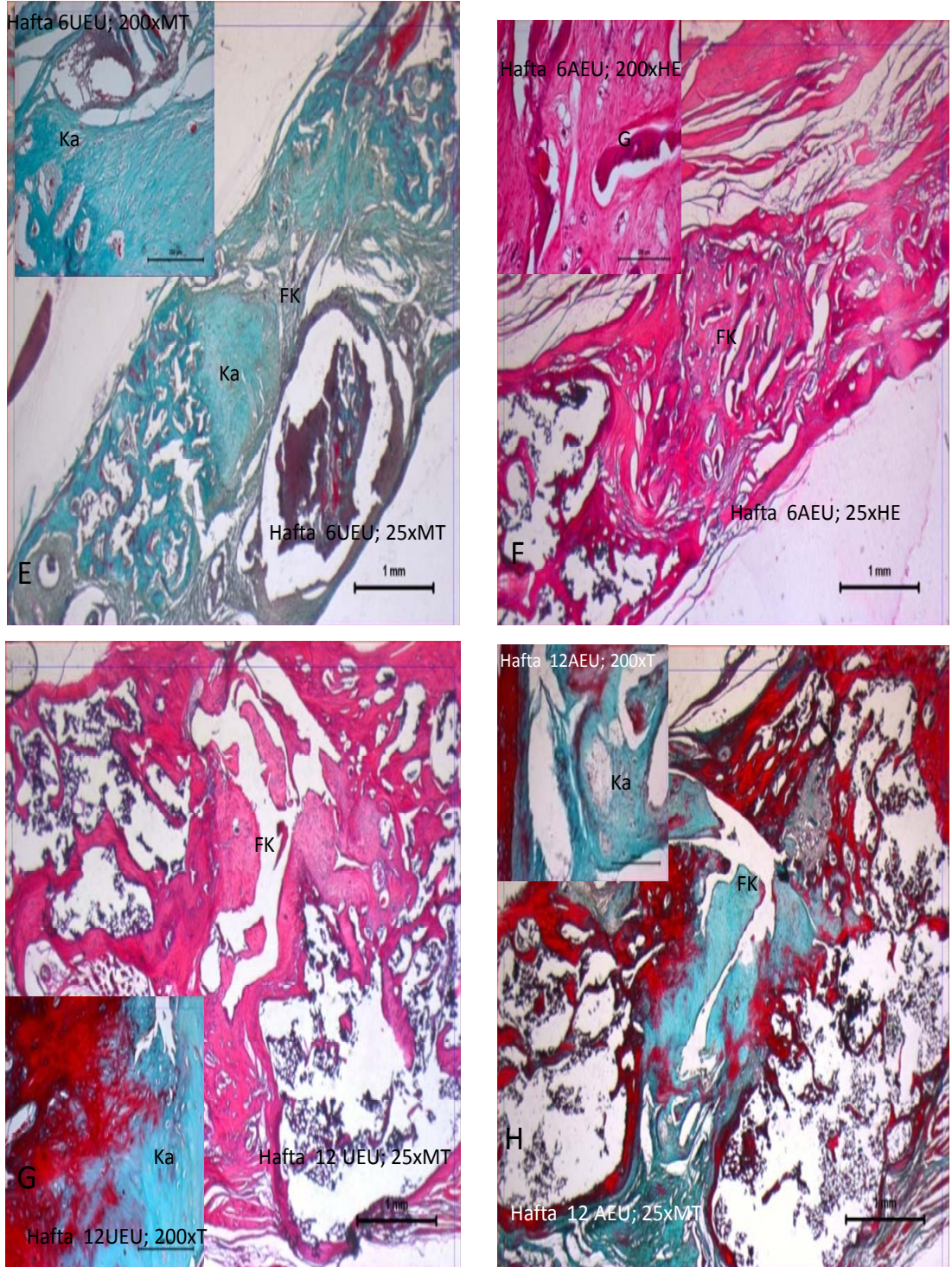
Tüm greftlenmiş örneklerde ileri dönemde kemikleşerek yeniden yapılanacak olan bir füzyon kitlesi izlendi. Enstrümantasyonun histolojik olarak füzyon oranını değiştirdiği gösterilemedi. Yeni kansellöz kemiğin vertebraların spinöz çıkıntılarının dekortike edilen kenarları ile laminalarından itibaren oluştuğu saptandı. Füzyon kitlesi içinde iyi damarlanmış bağ dokusu alanlarının otogreft parçacıklarıyla temas ederek intramembranöz ve endokondral kemikleşmeyi başlattığı tespit edildi. Dekortike edilen yapılarla greftlerin tam temasta olduğu kısımlarda intramembranöz kemikleşme görülürken, tam temasın olmadığı diğer kısımlarda endokondral kemikleşme görüldü. Sekestre olmuş ölü kemik parçaları nadiren izlendi. MT ile yeşil, MM ile eflatun boyanan sağlıklı kıkırdak plaklarının önce osteoid matriks, ardından da kalsifiye olan kemik trabekülleri ile yer değiştirdiği gözlemlendi.

(Şekil 4.4, 5, 6, 7)

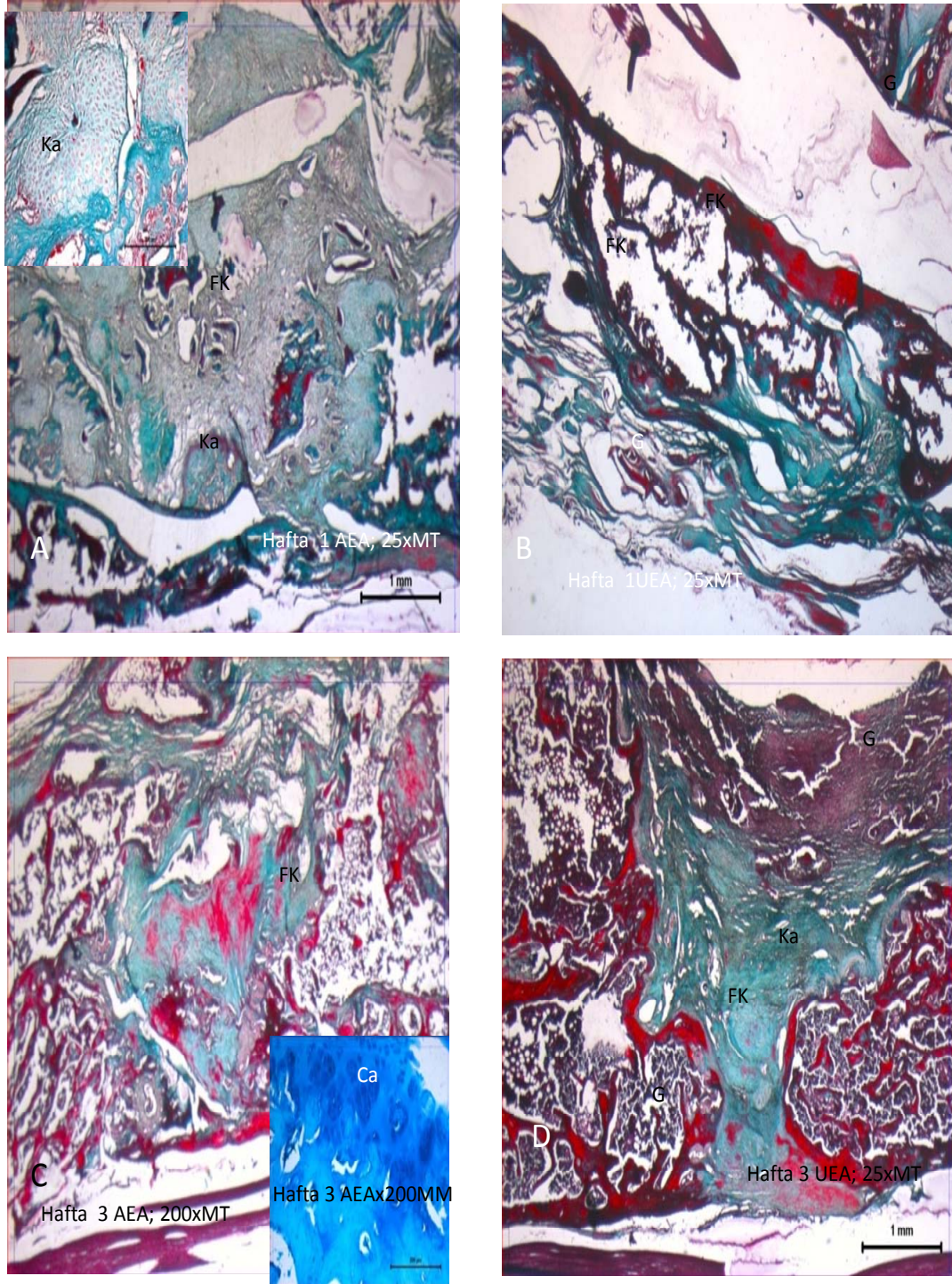
Tekrarlayan ölçümlerle değişkenlerin analizi (ANOVA) sonuçlarında histolojik parametrelerden osteoblast tabakası boyutları (var sayılan küresellik testi= 0,006), trabekül çapı (Greenhouse-Geisser= 0.030) ve yeni oluşan trabeküler kemik alanı/toplam füzyon alanı oranında (var sayılan küresellik testi= 0,000); radyolojik parametrelerden ise ortalama-2 (var sayılan küresellik testi= 0,000) değerlerinde zaman içinde değişim anlamlı olarak bulundu. Grup-zaman etkileşimi açısından hiçbir radyolojik ve histolojik parametrede anlamlı fark olduğu gösterilemedi. Enstrümantasyon uygulanan ve uygulanmayan gruplar arası fark, osteoblast tabakası kalınlığı (P= 0,011)ve ortalama1 (P= 0,033) değerlerinde anlamlı olarak bulundu.



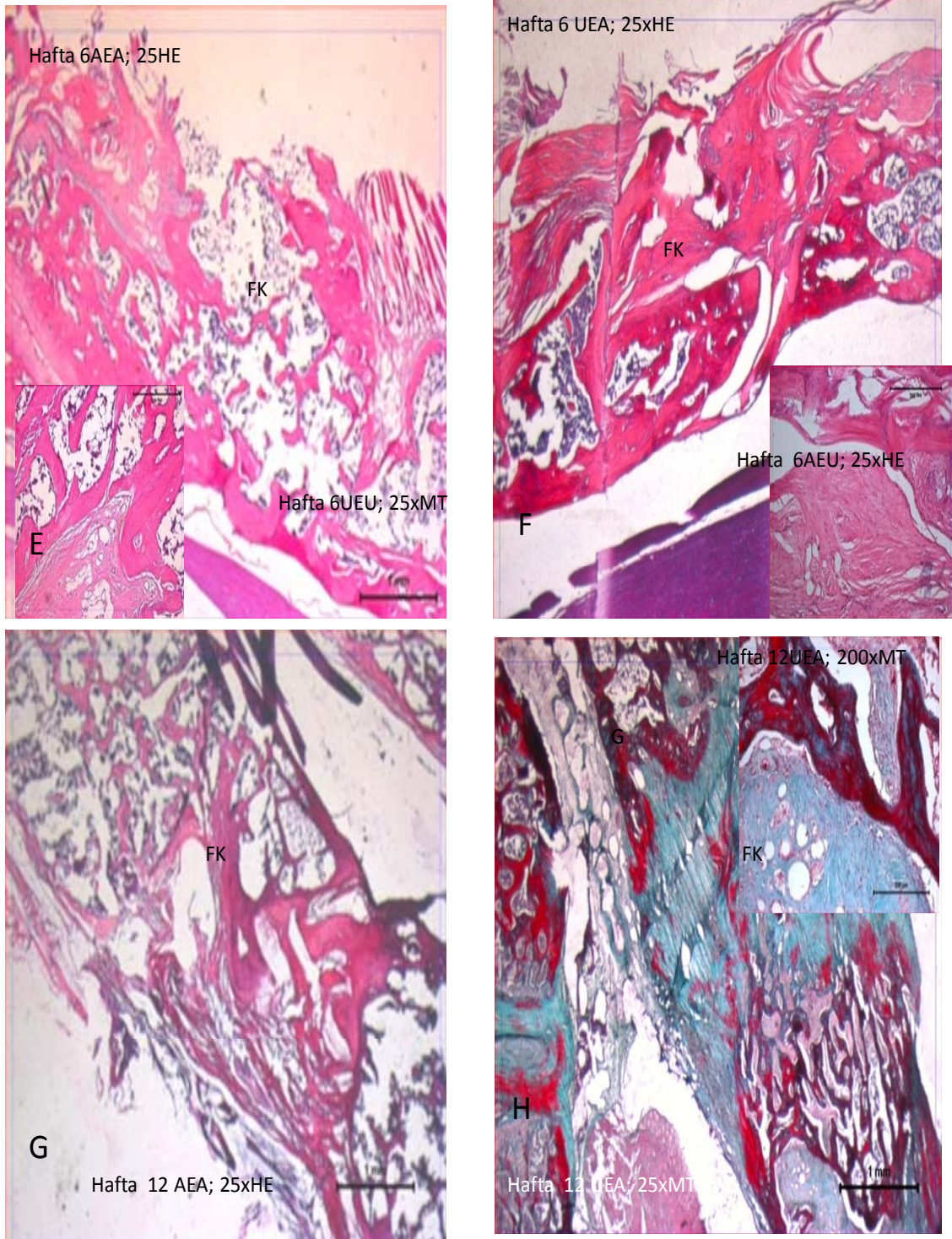
Şekil 4.4: Mikroskopik kesitler. Enstrümente edilmiş (A, C) ve enstrümente edilmemiş (B, D) üst segmentlerde hem endokondral hem de intramembranöz (A, B, C, D iç resimler) kemikleşme görülmektedir. FK: Füzyon kitlesi, Ka: Kartilaj, G: Greft, MT: Masson trikrom, HE: Hematoksilen eozin, MM: Metilen mavisi, AE/ UE: Alt/ üst enstrümente, A/U: resimde görülen kısım (Alt/ Üst).



Şekil 4.5: Mikroskopik kesitler. Enstrümente edilmiş (E, G) ve enstrümente edilmemiş (F, H) üst segmentlerde hem endokondral hem de intramembranöz (E-H iç resimler) kemikleşme görülmektedir. FK: Füzyon kitlesi, Ka: Kartilaj, G: Greft, MT: Masson trikrom, HE: Hematoksilen eozin, MM: Metilen mavisi, AE/ UE: Alt/ üst enstrümente, A/U: resimde görülen kısım (Alt/ Üst)



Şekil 4.6: Mikroskopik kesitler. Enstrümente edilmiş (A, C) ve enstrümente edilmemiş (B, D) alt segmentlerde hem endokondral hem de intramembranöz kemikleşme (A, C iç resim) görülmektedir. FK: Füzyon kitlesi, Ka: Kartilaj, G: Greft. MT: Masson trikrom, HE: Hematoksilen eozin, MM: Metilen mavisi, AE/ UE: Alt/ üst enstrümente, A/U: resimde görülen kısım (Alt/ Üst).



Şekil 4.7: Mikroskopik kesitler. Enstrümente edilmiş (E, G) ve enstrümente edilmemiş (F, H) alt segmentlerde hem endokondral hem de intramembranöz (E, F, H iç resim) kemikleşme görülmektedir. FK: Füzyon kitlesi, Ka: Kartilaj, G: Greft. MT: Masson trikrom, HE: Hematoksilin eozin, MM: Metilen mavisi, AE/ UE: Alt/ üst enstrümente, A/U: resimde görülen kısım (Alt/ Üst) .

Osteoblast tabakası kalınlığı, trabekül çapı, yeni oluşan trabeküler alan değerlerinin enstrümantasyonlu grupta enstrümantasyonsuz gruptaki değerlere oranla bir miktar daha yüksek olduğu görüldü, ancak bunların istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilemedi.

Elde edilen sonuçlarda enstrümantasyonlu grup ile enstrümantasyonsuz grup arasında belirgin bir farklılık gösterilememiş olsa da 12. haftada her iki gruptaki füzyon örneklerinde de füzyon kitlesi matürasyonunun tamamlanmadığı ve halen devam etmekte olduğu görüldü.

Enstrümantasyonlu ve enstrümantasyonsuz durumlarda füzyon oluşumu oranı açısından fark olup olmadığını değerlendirmek için Ki-kare testi uygulandı. Elde edilen sonuçlar, füzyon oranları bölümünde bildirilmiştir.

5. TARTIŞMA

5.1. Füzyon Oranlarının Karşılaştırılması

Çalışmamızda elde edilen sonuçlara bakıldığında birinci haftada enstrümantasyonlu ve enstrümantasyonsuz gruplar arasında füzyon oranı açısından fark gösterilemedi ($P= 0,778$). Üçüncü haftada $P= 0,738$, altıncı haftada $P= 0,722$ ve onikinci haftada $P= 0,413$ olarak bulundu). Yani, meydana gelmiş olan füzyon oranlarında enstrümantasyona bağlı olarak gruplar arası farklılık gösterilemedi.

Tüm haftalarda elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, enstrümanle edilen omurgalarda meydana gelen füzyon oranları ile enstrümanle edilmeyen omurgalarda oluşan füzyon oranları arasında (enstrümantasyona bağlı olarak) anlamlı bir fark olduğu gösterilemedi.

Uzun kemik kırıklarında internal fiksasyon, kırık bölgesini stabilize etmek ve onarım dokusunun tekrarlayıcı şekilde hasar görmesini önleyerek kaynama oranını artırmak için kullanılır. Internal fiksasyonla tedavi edilen kırıklarda kallus oluşumu minimaldir ve bunlar kırıkta veya bağ dokusu ara bileşenleri olmadan doğrudan kemik onarımı yoluyla iyileşirler [3]. Bununla birlikte internal fiksasyonun kendisinin kırık iyileşmesini hızlandırmadığı düşünülmüştür [55]. Uzun kemiklerdeki bu durumun aksine bazı klinik çalışmalarda spinal enstrümantasyonun posterolateral spinal füzyon sürecini hızlandırdığı öne sürülmüştür [55-57].

Lokal mekanik ortamın kemik iyileşmesinde önemli bir rolü vardır. Uzun kemiklerde cerrahi sahasındaki aşırı hareket osteoklastları uyararak kemik rezorpsiyonunda artışa ve böylece iyileşme sürecinde gecikmeye veya kaynamamaya neden olabilir [3, 58]. Bununla birlikte mikrohareket kemik oluşumunu ve iyileşme sürecini hızlandırır [60, 61]. Posterolateral spinal artrodezde spinal enstrümantasyon, füzyon sahasında fizyolojik yüklerle karşı koyabilecek güçte kemik dokusu gelişene kadar stabilizasyon sağlamak amacıyla kullanılmaktadır.

Omurga füzyonunun iyileşmesi çok faktörlü bir süreçtir. Bunun klinikte değerlendirilmesi zor olabilir. Noninvaziv tekniklerle bir füzyonun başarısını

veya başarısızlığını değerlendirmek zordur. Bu nedenle bu değerlendirmeleri yapmak için pratikte hayvan modelleri kullanılır [45]. Boden'in [9] bildirdiğine göre 1990 öncesinde kullanılan hayvan modellerinin çoğunun şu nedenlerden bir veya birkaçı sebebiyle kullanılabilirlikleri kısıtlı kalmıştır; 1) Bu modellerde başarılı füzyon oranı %100'e yakındı ve bu oran klinikte görülenden çok daha yüksekti, 2) İskelet sistemleri olgunlaşmamış hayvanlar kullanılmıştı, 3) Oluşturulan füzyon transvers çıkıntılar arası füzyondan çok laminalar veya fasetler arası füzyon şeklindeydi. 4) Omurgaların stabilize edilmesiyle internal fiksasyonun olmadığı durumlarda başarılı füzyon oranı %0 idi. Eski modellerdeki bu kısıtlılıklar nedeniyle klinikte insanlarda görülen duruma daha iyi uyarlanabilen transvers çıkıntılar arası artrodez modeli geliştirilmiştir. Transvers çıkıntılar arası füzyon modelinin en belirgin faydasının insanlarla kıyaslanabilir oranda spontan kaynamama görülmesi olduğu bildirilmiştir [9].

Çalışmamızda model olarak daha önceleri farklı hayvanlarda olumsuz yönleri olabileceği bildirilmiş olan bir modeli [76, 77] ratlara uyarlayarak kullandık. Çünkü transvers çıkıntılar arası füzyonun özellikleri daha önce Boden [2] tarafından iyice çalışılmış ve aydınlatılmıştır. Çalışmamızın birinci amacı fiksasyonun füzyon oranını artırdığını göstermek idi. İkinci amacımız ise füzyon oluşum sürecinde fiksasyonun intramembranöz iyileşmeyi artırıp artırmadığını tespit etmektir. Transvers çıkıntılar arası füzyon modelinde arada kalan boşluklar büyük olduğu için muhtemelen bu bölgelerde intramembranöz iyileşme görülemez [2]. Bu nedenle sıkı kemik temasının da mümkün olabileceği izole posterior füzyon kullanmayı tercih ettik.

Çalışmamızdaki enstrümantasyonlu ve enstrümantasyonsuz gruplarda füzyon oranı açısından belirgin fark bulunamamasının muhtemel nedeninin, kullandığımız modelde elde ettiğimiz fiksasyonun yeterince stabil olmaması olabileceğini düşündük. Çünkü daha gelişmiş hayvanlarda (tavşan, koyun, vb.) omurga büyüklükleri daha uygun olduğu için daha stabil fiksasyon sağlanması mümkün olabilmektedir [45, 73, 74]. Ayrıca spinal füzyonlarda aşırı hareketliliğin psödoartroza neden olabileceği de bildirilmiştir [78].

Birçok klinik çalışmada spinal enstrümantasyonun posterolateral spinal artrodezde füzyon oranını artırdığı öne sürülmüştür [55, 56, 62-64, 79]. Zdeblick ve ark., pedikül vidası ile yapılan enstrümantasyonda füzyon oranının (%95), yarı katı fiksasyonla (%77) veya enstrümantasyonsuz (%65) elde edilen füzyonlardan daha yüksek olduğunu göstermişlerdir [64]. Schwab ve ark. pedikül vidası ile enstrümantasyonda füzyon oranını %91 olarak bildirirken bu oran enstrümantasyonsuz artrodezlerde %65 olarak bulunmuştur [63]. Bu bulgular spinal füzyon için kullanılan bazı hayvan modellerinde de doğrulanmıştır [65, 66, 80].

Kanayama ve ark. yaptıkları bir çalışmada spinal enstrümantasyonun spinal füzyonun iyileşme sürecine etki edip etmediğini araştırmışlardır. Bu çalışmada bir in vivo koyun modeli kullanılmış, pedikül vidaları ile posterolateral spinal füzyon uygulanmıştır. Çalışma sonucunda cerrahiden 8 hafta sonra yapılan değerlendirmede enstrümante edilen füzyon segmentlerinin enstrümante edilmeyen segmentlere oranla belirgin düzeyde daha solid olduğu bulunmuştur. Histolojik olarak enstrümante edilen füzyonların 8. haftada enstrümante edilmeyen füzyonlara oranla daha fazla miktarda örgümsü kemik içerdiği bulunmuştur. Ancak 16. haftada enstrümantasyon uygulanıp uygulanmamasından bağımsız olarak bütün füzyon kitlelerinin biyomekanik, radyografik ve histolojik olarak solid olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda yazarlar spinal enstrümantasyonun spinal füzyonun iyileşme sürecinin erken evrelerinde daha stabil bir ortam sağladığını ve spinal füzyonun daha hızlı gelişimini teşvik ettiğini öne sürmüşlerdir [55].

Bizim sonuçlarımızda da enstrümantasyonun özellikle iyileşmenin erken evrelerinde füzyon oluşumunu hızlandırabileceği düşünülmüştü, ancak çalışma sonunda oluşan füzyonlar açısından belirgin fark olduğu gösterilemedi.

Johnston ve ark., posterolateral spinal füzyon modelinde daha rijit fiksasyonun daha katı füzyon kitlesi oluşturduğunu göstermişlerdir [65, 81]. Kleiner ve ark., insanlardaki posterolateral spinal füzyonu prospektif olarak

histomorfometrik açıdan incelemişler ve enstrümante füzyon kitlesinin enstrümante olmayan füzyon kitlesine oranla daha üstün histolojik özellikleri olduğunu göstermişlerdir [67]. Bu nedenle spinal enstrümantasyonun, spinal füzyon için muhtemelen daha iyi bir mekanik ve biyolojik ortam oluşturduğu düşünülmüştür.

Biyomekanik ve histolojik incelemeler füzyon sahasının durumunu en doğru şekilde değerlendirebilecek yöntemlerdendir. Ancak bunların klinikte uygulanmaları zordur [74]. Kanayama ve ark., ameliyat sonrası posterolateral füzyon kitlesinin yaklaşık 8 haftada matüre olduğunu, ancak radyografik solid kemik kaynamanın bundan sonra gerçekleştiğini göstermişlerdir. Buna dayanarak füzyon kitlesindeki mineralizasyonun kitlenin yeterli mekanik gücü ortaya çıktıktan sonra da devam ettiği görülmüştür [74]. Bu sonuçlar, Slater ve ark.'nın yaptığı biyomekanik çalışmanın sonuçlarıyla da uyumludur. Slater, çalışmalarında koyun modelinde ameliyat sonrası 12. haftada füzyon kitlesinin kansellöz kemik grefti gibi homojen maddelerden oluştuğunu göstermiştir [82].

Her ne kadar bazı araştırmacılar kemik grefti iyileşmesinin ardışık aşamaları boyunca histolojik incelemeler yapmış olsalar da posterolateral spinal artrodezin iyileşme mekanizması halen tartışmalıdır ve tam olarak açıklanamamıştır [52, 83]. Ayrıca posterolateral füzyon kitlesinin histolojik özelliklerinin, iyileşme süreci boyunca mekanik gücü ile korelasyonu tam olarak aydınlatılamamıştır. Kanayama'nın çalışmasında füzyon kitlesinin ameliyat sonrası 8. haftada olgunlaşmamış örgümsü kemik içerdiği ancak yeterli mekanik sağlamlığı sağladığı görülmüştür. Buna dayanarak, olgunlaşmamış örgümsü kemiğin de füzyon kitlesinde temel dayanıklılığı sağlayabildiği düşünülmüştür [74].

Daha önceki bazı çalışmalarda koyunlarda enstrümante edilmeyen füzyonun 6. haftada kalsifiye olmaya başladığı bildirilmiştir [82]. Ancak posterolateral füzyon kitlelerindeki mekanik dayanıklılığın 4. haftadan sonra da arttığı ve mineralizasyonun 8. haftaya kadar devam ettiği bildirilmiştir. Bu sırada immatür örgümsü kemik dokusu, radyografik olarak solid füzyon

görülmeden önce erken mekanik sağlamlık sağlamış ve enstrümantasyon üzerindeki gerilimin azalmasına neden olmuştur [74].

Zdeblick, insanlarda dejeneratif omurga ameliyatlarında fiksasyonsuz, yarı rijit ve rijit fiksasyon uygulanarak elde edilen füzyonları karşılaştırmış. Her ne kadar klinik olarak rijit ve yarı rijit enstrümanlarla daha iyi sonuçlar görülse de, rijit enstrümanlarla diğer iki gruba kıyasla daha fazla füzyon oranı elde etmiştir [64].

Feighan ve ark., füzyon kuvvetlendirilmesi ile ilgili olarak tavşanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada hayvanlara L4-L6 posterior füzyon uygulamışlardır. Bu çalışmada 8. haftada sadece en stabil fiksasyon uygulanan grupta kemik füzyon görülürken, daha az stabil fiksasyon uygulanan grupta fibrokartilaj kaynama görülmüştür. Öncelikli olan kaynamanın endokondral ossifikasyon şeklinde olduğu bildirilmiştir. Fiksasyonsuz gruba oranla stabil fiksasyon yapılan hayvanlarda füzyonun daha solid olduğunu bulmuşlardır. Fiksasyon rijiditesi arttıkça daha solid füzyon ve daha başarılı füzyon oranı elde edildiğini bildirmişlerdir [84].

Nagel ve ark., hareketli segmentteki yer değişimi ve gerilimin başarılı bir füzyonun oluşumunda önemli bir gösterge olduğunu göstermişlerdir. Koyun lomber füzyon modelinde %10 gerginlik ile füzyon sağlanabilirken %36 gerginlik ile füzyon sağlanamamaktadır [85]. Bu bulgu stabilite arttıkça kemik kaynama oranlarının arttığını düşündürmektedir. Benzer şekilde, Johnston ve ark. da keçi posterior füzyon modelinde posterior rodların çaplarını artırarak ve çapraz bağlanma yaparak füzyon kitlelerinin daha katı hale getirilebildiğini göstermişlerdir [65].

Kornblatt ve ark., internal fiksasyonun spinal füzyondaki psödoartroz oranını istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığını ve spinal füzyon oluşumu için gereken zamanı kısalttığını bildirmişlerdir [67]. Bununla birlikte bu bulgular esas olarak radyografik değerlendirmeye dayanmaktadır. Füzyon durumunun değerlendirilmesinde radyografinin güvenilirliğinin düşük olduğu düşünülürse cerrahi eksplorasyon veya histolojik inceleme gibi diğer tanı yöntemleriyle de bu bulguların desteklenmesi önerilmiştir [55].

Yuan ve ark., bir kohort çalışmasında pedikül vidası ile enstrümante edilen füzyonlarda, enstrümantasyon uygulanmayan füzyonlara oranla solid füzyon oluşumuna kadar geçen sürenin daha kısa olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda pedikül vidası ile enstrümante edilen grupta enstrümantasyon uygulanmayan gruba oranla her takip değerlendirmesinde füzyon oranının daha yüksek olduğu bulunmuştur [56].

Spinal enstrümantasyonun klinik sonuçları iyileştirip iyileştirmediği konusunda halen tartışmalar sürmektedir. Fischgrund ve ark. pedikül vidası kullanımı ile daha yüksek kaynama oranları bulunduğunu ancak klinik sonuçların değişmediğini bildirmişlerdir [86]. Bununla birlikte Zdeblick enstrümantasyon uygulanan füzyonlarda klinik sonuçların enstrümantasyon uygulanmayanlara göre daha iyi olduğunu bildirmiş, ayrıca solid posterolateral füzyonun her zaman daha iyi klinik sonuçlarla korele olmadığını öne sürmüştür [64].

Spinal implantların yaygın kullanımı ile bunların füzyon kitlesi üzerindeki negatif etkileri de bildirilmiştir. Greft boyutlarında küçülme ve kemik greftinin kaybolması bildirilmiştir. Heggeness ve Essess, hastada spinal implantların bulunmasının atrofik kaynamama ile kuvvetli ilişkisi olduğunu ve implantların stres kalkanlaması etkisinin greft atrofisinde rol alabildiğini öne sürmüşlerdir [87]. Kleiner ve ark. yaptıkları bir çalışmada spinal implantların füzyon kitlesinin enstrümante edilmeyen füzyonlara oranla daha küçük olduğunu bildirmişlerdir [67]. Bununla birlikte bu çalışmanın zayıf noktası füzyon kitlesinin tek planlı radyografi ile belirlenmiş olmasıdır. Greft hacmi arttıkça transvers çukurluklar arası füzyonun etkinliğinin azaldığı düşünülmüştür. Başlangıçtaki kemik grefti hacmi ne kadar fazla olursa 18 ay sonundaki füzyon kitlesinin de o kadar geniş olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte başlangıçtaki greft hacmi arttıkça bununla orantılı olarak grefte meydana gelen hacim kaybının da arttığı bulunmuştur [88].

Omurga cerrahları tarafından genellikle kalın bir kemik kitlesine dönüşürken daha önce yerleştirilmiş kemik grefti hacminde azalma olduğu kabul edilmektedir [93]. Füzyon kitlesinin dinamik mineral birikimi ve kemik

oluşum oranı göz önüne alındığında transvers çıkıntılar arası füzyondan 1,5 yıl sonra metabolik dengeye ulaştığı bildirilmiştir. Bu metabolik olarak aktif dönem boyunca füzyon kitlesindeki materyalin özellikleri kadar kemik grefti hacmindeki değişiklikler de başarılı bir füzyonu belirlemede objektif göstergelerdir [88]. Klinik çalışmalarda sadece radyografiye dayanarak tek planda değerlendirmeler yapılmıştır. Bunların sonucunda spinal implantlara bağlı stres kalkanlaması nedeniyle füzyon kitlesi hacmi küçülmekte veya greft atrofisi gelişmektedir. Füzyon kitlesinin genellikle ilk olarak yerleştirildiği zamanki boyutundan daha çok büyümediği daha küçük ve yoğun bir kitle şeklinde konsolide olduğu düşünülür. Konsolidasyon dönemi boyunca greft hacminde meydana gelen değişiklik önemlidir, çünkü greft materyalinin özelliği kadar hacmi de başarılı bir füzyon ve segmental stabilizasyonu belirleyebilen önemli göstergedir [88]. Greftteki doğal volümetrik değişiklikleri değerlendirmek için BT kullanılmaktadır. Deneysel hayvan modellerinde BT sıklıkla kullanılırken insanlarda daha az kullanılmıştır.

Ki-Won Kim tarafından yapılan, 1999'da yayınlanan bir çalışmada tek seviyeli lomber ve lumbosakral transvers çıkıntılar arası füzyon uygulanan 15 hasta seçilmiş; hastalardan enstrümante edilenler ve enstrümante edilmeyenlerde kemik greftindeki volümetrik değişiklikleri incelemek için cerrahiden 2 hafta sonra ve 18 ay sonra bilgisayarlı tomografi taraması yapılmıştır. Her gruptaki greft hacmi izlem süresince anlamlı şekilde azalmıştır. Başlangıçtaki greft hacmi ile 18. aydaki greft hacminin ve hacim kaybının pozitif korele iken, kalan hacim oranının negatif korele olduğu bulunmuştur. Sonuçta bu bulgulara dayanarak, başlangıçtaki kemik greftinin yarısından fazlasının greftin konsolidasyon sürecinde rezorbe olduğu ve bu dönemdeki hacim kaybının spinal enstrümantasyondan etkilenmediği bulunmuş, aynı zamanda başlangıçtaki kemik grefti ne kadar fazla olursa 18 ay sonraki füzyon kitlesinin de o kadar büyük olacağı düşünülmüştür. Başlangıçtaki greft hacmi arttıkça transvers çıkıntılar arası füzyonun etkinliğinin (kalan hacim / başlangıçtaki greft hacmi) de azalma eğiliminde olduğu bildirilmiştir [88].

Bizim çalışmamızda da yapılan tomografik incelemelerde elde edilen üç boyutlu rekonstrüksiyonlarda özellikle ileri haftalardaki bazı örneklerde konulan greftlerin hacminde önemli ölçüde azalma (yer yer kaybolma) olduğu düşünülmüştür. Ancak yapılan histolojik değerlendirmede bunların bazılarının rezorbe olmaktan çok, iyi bir şekilde ana füzyon kitlesi ile bütünleştikleri görülmüştür.

Bazı yayınlarda enstrümantasyonun kemik kaynama oranında artışa neden olduğu ve rijit spinal enstrümantasyonun daha solid füzyon kitlesi oluşumuna neden olduğu kabul edilmektedir. Bununla birlikte enstrümantasyonun optimal rijiditesi, muhtemel stres kalkanlamasına bağlı vertebral osteopeni nedeniyle tartışmalıdır [73].

Oluşmakta olan füzyon üzerindeki stres kalkanlamasında, mekanik kuvvetlerin etkisi olduğu düşünülmektedir. Bu konuyla ilgili olarak Foster ve ark., kemik füzyon gelişiminde katkısı olan biyolojik süreçleri düzenleyen mekanik kuvvetler konusundaki hipotezi test etmek için 14 iskelet yaşı olgun koyuna spinal füzyon uygulamış. Kontrol grubunda anteriora kafes posteriora pedikül vidası koyarak stabil fiksasyon uygulamış; deney grubunda ise anulektomi uygulamış ön tarafa implant konulmamış ve posteriora 2 mm ön-arka harekete izin veren pedikül vidaları uygulanmıştır. Hayvanlar 6 ve 12. haftalarda öldürülmüş ve her iki zaman aralığında da füzyon kitlesinin radyografik olarak tam konsolide olmadığı ancak matüre olmaya devam ettiği görülmüştür [73].

Woo ve ark., internal fiksasyon rijiditesini azalttıkça kemik ve fiksasyon arasında daha fazla yük paylaşımı sağlanabildiğini ve böylece stres kalkanlamasının azaltılabildiğini bildirmişlerdir [89]. Goel ve ark. rijiditesi zamanla azalan modifiye bir rijit fiksasyon aygıtı kullanarak oluşturulan füzyonda vertebra gövdesinde daha az osteopeni ortaya çıktığını göstermiştir [90].

McAfee ve ark. [80, 91] ve Gurr ve ark. [92], köpek modelinde anterior ve posterior kolon defekti uygulanan spinal enstrümantasyon ile başarılı füzyon oluşturulabildiğini göstermişlerdir. McAfee aynı zamanda kullanılan

enstrümanların rijiditesini artırdıkça omurga gövdesinde daha fazla stres kalkanlanması oluştuğunu ancak bunun klinik olarak öneminin belirgin olmadığını göstermiştir[91].

Klinik olarak insanlarda posterolateral spinal artrodezde kaynamaya kadar geçen süreyi gösteren birçok radyografik çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardaki başarılı bir spinal füzyon oluşumu görülene kadar geçen süre ameliyat sonrası 6 aydan 10 aya kadar değişiklik göstermiştir [57, 94]. Bazı araştırmacılar ameliyat sonrası erken dönemde füzyon durumunu belirlemek için füzyon bölgesini cerrahi olarak explore etmiştir [74, 95, 96]. Outland ve ark. ameliyat sonrası 4-5 . aylarda böyle bir cerrahi uygulamış ve skolyoz için cerrahi uygulanmış 71 hastanın 63'ünde (%89) solid füzyon tespit etmişlerdir [74]. James'in yaptığı bir çalışmada cerrahi eksplorasyon ile yine skolyoz nedeniyle tedavi edilen 87 hastanın 70'inde (%80) ameliyat sonrası 5. ayda başarılı füzyon görülmüştür [74]. Bu sonuçlardan da anlaşılacağı gibi radyografik değerlendirme ve cerrahi eksplorasyon sonuçları arasında bir uyumsuzluk ortaya çıkabilmektedir ve posterolateral spinal artrodez sonrasında kaynamaya kadar geçen süre tartışmalıdır [97, 98].

Bizim bulgularımızda da bu çalışmalarla uyumlu olan ve olmayan bazı durumlar mevcuttu. Bazı ratlardaki füzyon kitlesi oluşum sürecinde greftler büyük ölçüde rezorbe olmuş gibi görünmesine rağmen bunların iyi şekilde ana füzyon kitlesi ile bütünleştikleri görülürken; bazılarında ise ilk başta konulan greft hacminden daha fazla ve hatta greft konulan bölgenin sınırlarını aşabilecek kadar çok füzyon kitlesi oluştuğu görüldü.

5.2. İyileşme Taslağı Farkı

Çalışmadaki ikinci amacımız; uzun kemiklerdeki iyileşme taslağına benzer şekilde daha stabil bir ortam sağladığı için internal fiksasyonun uygulandığı grupta intramembranöz kemikleşme oluşup oluşmadığının tespit edilmesidir. Burada da intramembranöz kemikleşmenin artıyor olabileceği hipotezini ele aldık.

Bizim bulgularımızda 1.,3.,6. ve 12. haftalar olmak üzere dört ayrı zaman diliminde yapılan değerlendirmelerde füzyon oluşum sürecinin, 12.haftaya kadar devam ettiği ve trabekül çapı, toplam füzyon alanı, yeni trabeküler alan ve ortalama² değerlerinde her dört zaman diliminde artış olurken, kıkırdak hacminde ve VOX BV/TV değerlerinde azalma olduğu görülmüştür. Ortalama² değerleri, oluşan füzyon kitlesinin esas tomografik göstergeleri olarak kabul edilmiştir. Burada belirtilen değerler arasında grafiklerde görülen farklılıkların istatistiksel hesaplamalara yansımamasının örnek sayısının yetersiz kalmasına bağlı olduğu düşünülmüştür.

Histomorfometrik ölçümlerde (trabeküler kemik hacmi/ toplam füzyon kitlesi) tam kalsifiye olmamış ancak organik matriksi sentezlenmiş “osteoid” yapısındaki yeni kemik de değerlendirilmektedir. Mikro-BT bu kemiği ölçmemektedir. İzlenen zaman dilimlerinde endokondral ve intramembranöz kemikleşme süreçleri eş zamanlı olarak devam etmektedir. Henüz tüm füzyon kitlesi tam kalsifiye ve ossifiye olmamıştır. Bu nedenle mikro-BT ve histomorfometri ölçümleri her zaman korelasyon göstermeyebilir.

Spinal füzyon gelişimi sırasında iyileşme taslak farklılıklarının belirlenmesi konusunda bazı çalışmalar yayınlanmıştır [2, 73]. Bu çalışmalarda genellikle tavşan ve daha gelişmiş hayvanlar kullanılmıştır. Bu hayvanlarda transvers çıkıntılar arası füzyon uygulanmış ve sonuçlar radyolojik, histolojik, histomorfometrik ve biyomekanik olarak karşılaştırılmıştır. Bu modellerde transvers çıkıntılar arası boşluğun büyük olması nedeniyle, muhtemelen bu bölgelerde birincil (intramembranöz) kemik iyileşmesinden çok ikincil (endokondral) kemik iyileşmesi görülmüştür. Ancak füzyon kitlesinin periferinde bulunan transvers çıkıntılarla greftlerin temas ettikleri noktalarda birincil kemik iyileşmesi görülmektedir.

Çalışmamıza başlarken hangi iyileşme taslağının daha baskın olduğunu eşit koşullarda değerlendirmek gerektiği düşüncesi ile transvers çıkıntılar arası füzyon yerine izole posterior füzyon uygulamayı tercih ettik. Çünkü muhtemelen transvers çıkıntılar arası mesafede greftler ve kemik yüzeyleri arasında tam temas olmayacağı için bu bölgede daha önceden de

tanımlandığı şekilde ikincil iyileşme görülecekti. Oysa bu durum daha baştan bizi yanlış yönlendirmiş olacaktı. Bunun için greftler ve kemik yüzeyleri arasında tam temasın olduğu izole posterior füzyonu kullandık. Böylece hangi iyileşme taslağının daha hakim olduğunu daha doğru değerlendirebilmemiz mümkün oldu.

Çalışmamızda, oluşan füzyondaki hakim sürecin (intramembranöz-endokondral) hangisi olduğunun belirlenmesi için yapılan histolojik değerlendirmelerde, füzyon oluşum sürecinde hem intramembranöz hem de endokondral iyileşmenin başlangıçtan itibaren birlikte devam ettiği ve daha önceki çalışmalara benzer şekilde özellikle dekortike edilmiş yüzeylerle doğrudan temasın olduğu bölgelerde intramembranöz kemikleşme görülürken, doğrudan temasın olmadığı yerlerde ve aradaki boşlukların doldurulmaya çalışıldığı bölgelerde endokondral kemikleşmenin görüldüğü tespit edildi. Muhtemelen her bölgede doğrudan temasın sağlanması mümkün olamayacağından ve doldurulması gereken boşlukların daha fazla miktarda olması nedeniyle endokondral iyileşmenin göreceli olarak daha baskın olduğu sonucuna varıldı. Bu bulgu Foster'ın çalışması ile uyumlu olarak değerlendirildi [73].

Çalışmamızın daha önce Boden tarafından tanımlanmış ve yaygın kabul görmüş iyileşme modelinden [2] ayrıldığı nokta; Boden'in tanımladığı modelde hem intramembranöz hem de endokondral kemikleşme gördüğünü belirtmesine rağmen bunların aynı anda değil takip eden süreçler olarak görüldüğünü bildirmesidir. Çalışmamızda Boden'in modelinden farklı olarak her iki iyileşme taslağının da aynı anda ilerlediği görüldü.

Her ne kadar deneysel çalışmalar, rijit fiksasyonun füzyon oranını ve füzyon kitesinin sağlamlığını artırdığı kavramını destekliyor olsa da çalışmamızda, hem stabil hem de anstabil füzyonlarda intramembranöz kemik iyileşmesi görülmekle birlikte füzyonun göreceli olarak daha çok endokondral kemikleşme ile iyileştiği düşünülmüştür. Bu durumun muhtemel nedenleri şöyle sıralanmıştır; 1) Kullandığımız model bu farklılığı göstermek

için uygun olmayabilir, 2) Kullandığımız modelde yeterli ölçüde stabil bir fiksasyon sağlanamamış olabilir.

Kleiner ve ark., insanlardaki posterolateral spinal füzyonu prospektif olarak histomorfometrik açıdan incelemişler ve enstrümante füzyon kitlesinin enstrümante olmayan füzyon kitlesine oranla daha üstün histolojik özellikleri olduğunu göstermişlerdir [55].

Kanayama ve ark.'nın yaptığı koyun modelindeki bir posterolateral füzyon çalışmasında füzyon kitlesinin mekanik gücünün 4. haftadan itibaren arttığı görülmüştür. Füzyon kitlesinin mineralizasyonunun 8. haftadan sonra doğrusal biçimde arttığı izlenmiştir. Burada stabil spinal füzyonun biyomekanik özellikleri en erken 8. haftada, radyografik olarak solid füzyon görülmeden önce ortaya çıkmıştır. Bu bulgu, immatür örgümsü kemiğin füzyon kitlesinin temel sağlamlığını sağlayabildiğini göstermiştir. Çalışmada histolojik bulgu olarak 4. haftada fibröz bir stroma ve transvers çıkıntılar çevresinde kısmi örgümsü kemik oluşumu görülmüş, 8 haftada füzyon kitlesinde transvers çıkıntılar arasında esas olarak örgümsü kemik içeren 12. haftada kısmi trabeküle kemik içeren füzyon izlenmiş, 16. haftada füzyon kitlesinin tamamen trabeküle kemik içerdiği gösterilmiştir. Bu çalışmada füzyon kitlesinin ameliyat sonrası 8. haftada olgunlaşmamış örgümsü kemik içerdiği ancak yeterli mekanik sağlamlığı sağladığı görülmüştür. Füzyon kitlesindeki mineralizasyonun ise 16. haftaya kadar devam ettiği görülmüştür. Bu, olgunlaşmamış örgümsü kemiğin de füzyon kitlesinde temel dayanıklılığı sağlayabildiğini göstermektedir. Her ne kadar bazı araştırmacılar kemik grefti iyileşmesinin ardışık aşamaları boyunca histolojik incelemeler yapmış olsalar da posterolateral spinal artrodezin iyileşme mekanizması halen tartışmalıdır ve tam açıklanamamıştır. Ayrıca posterolateral füzyon kitlesinin histolojik özelliklerinin, iyileşme süreci boyunca mekanik gücü ile korelasyonu tam olarak aydınlatılamamıştır [74].

Spinal psödoartroz implant yetmezliklerine neden olabilmektedir. Klinikte posterolateral füzyon kitlesinin ve spinal enstrümantasyonun yük paylaşım özellikleri oldukça bağlantılıdır. Spinal füzyon kitlesi geliştikçe,

spinal enstrümantasyonun yük paylaşım özelliklerinin azaldığı gösterilmiştir. Posterolateral spinal artrodezin erken döneminde füzyon uygulanan bölgedeki yük esas olarak enstrümanlar tarafından taşınmaktadır [74]. Yani füzyon kitlesinin tedavi edilen segmentteki başlangıç gücüne ve stabilitesine katkısı yoktur. Füzyon kitlesi geliştikçe ve zamanla daha katı hale geldikçe füzyon uygulanan segmentteki yük dağılımı esas olarak füzyon kitlesine geçer ve enstrümantasyon üzerindeki yük azalır. Buradaki yük paylaşımındaki değişim, füzyon kitlesi mekanik olarak olgunlaştığında yani radyografik veya histolojik olarak solid füzyon görülmeden önce gerçekleşmektedir [74].

Mark Foster ve ark., kemik füzyon gelişiminde katkısı olan biyolojik süreçleri düzenleyen mekanik kuvvetler konusundaki hipotezi test etmek için yaptıkları koyun spinal füzyon modelinde stabil ve anstabil enstrümantasyon uygulamışlardır. Hayvanlar 6 ve 12. haftalarda öldürülmüş ve her iki zaman aralığında da füzyon kitlesinin tam olarak konsolide olmadığı radyografik olarak görülmüştür. Mikroradyografilerde 6. haftada stabil durumdaki hayvanlarda, anstabil duruma oranla kemik oluşumunda artış olduğu görülmüş ancak 12. haftada bu durum tersine dönmüştür. Hem stabil hem de anstabil fiksasyon uygulanan hayvanlarda transvers çıkıntılar etrafındaki öncelikli iyileşme mekanizmasının intramembranöz kemik iyileşmesi olduğu görülmüştür. İki transvers çıkıntı arasında kalan alanda ise yeni kemik oluşumunun esas olarak endokondral kemikleşme ile olduğu bulunmuştur. Onikinci haftada stabil grupta, anstabil gruba oranla daha fazla kırık oluşmuş, ancak daha az yeni kemik oluşumu görülmüştür. Hem stabil hem de anstabil kemiklerde transvers çıkıntılar arasındaki bölgedeki yeni kemik oluşumunda hakim mekanizmanın endokondral kemikleşme olduğu öne sürülmüştür. Bu bulgu daha önceki spinal füzyon konusunda bildirilen çalışmalardaki küçük hayvan modellerinden farklıdır. Muhtemelen küçük hayvanlara kıyasla transvers çıkıntılar arasındaki mesafenin büyük hayvanlarda daha geniş olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Mekanik instabilite ile transvers çıkıntılarının üzerinden çok , transvers çıkıntılarının arasındaki bölgede yeni kemik oluşumunda artış görülmüş ve anstabil grupta fraksiyone kemik

alanı daha yüksek bulunmuştur. Buradan yola çıkarak endokondral kemikleşmenin füzyon bölgesindeki mekanik faktörlere yanıt olarak arttığı ve instabilitenin daha sonradan kemikleşecek olan yeni kırıkta oluşumunu artırdığı öne sürülmüş ve bu durumun klinikte çok önemli olabileceği düşünülmüştür [73]. Çünkü füzyon bölgesindeki bir miktar kontrollü instabilitenin iyileşmeyi modifiye ettiği ve optimal bir stabilitenin bulunmasının daha iyi klinik sonuçlar sağlayabileceği öne sürülmüştür .

Doğrudan kemik-kemik temasının olduğu dekortike edilmiş transvers çukıntılarda ve arka elemanların lateral kenarlarında intramembranöz kemik iyileşmesi beklenebilir. Ancak kemik ile greft arasında devamsızlığın olduğu bölgede füzyon sadece endokondral kemikleşme ile iyileşir. Bu durum, bizim çalışmamızda benzer şekilde gerçekleşmiştir.

5.3. Çalışmanın Avantaj ve Dezavantajları

Çalışmamızda daha önce ratlarda tanımlanmış olan transvers çukıntılar arası füzyon yerine izole posterior füzyon modelini kullandık. Çünkü daha önce tavşanlarda transvers çukıntılar arası füzyonun sonuçları tanımlanmıştı. Bu modelde daha önce tavşanlarda tanımlanan spinöz çukıntılar arası enstrümantasyon uygulandı. Bu modelde karşı çıkılabilecek noktalardan birinin ratın büyüklüğü göz önüne alındığında arka taraftaki kemik hacminin füzyon oluşumuna imkan sağlayamayacağı olduğunu, çalışmaya başlarken düşündük. Çünkü ratlarda daha önce çoğunlukla transvers çukıntılar arası füzyon modeli kullanılmakta idi, ancak bu model bizim amacımızı karşılamamakta idi.

Sonuçta kullandığımız modelde de hem enstrümantasyon uygulanan hem de enstrümantasyon uygulanmayan gruplarda başarılı şekilde füzyon oluştuğu görüldü. Bu da çalışmamızın bize kazandırdığı bir yenilik oldu. Kullandığımız modelde muhtemelen füzyonla iyileşme oranı sanıldığından daha yüksektir. Böylece yeni oluşturduğumuz spinal füzyon modeli, yapılacak yeni çalışmalar için bulunması ve bakımı kolay bir hayvan olan ratın, ilk basamak olarak kullanılmasına yardımcı olacaktır. Buradan elde edilecek

yeni verilerle filogenetik olarak daha üst sıralarda yer alan hayvanlarda yapılacak çalışmalara ışık tutulabilecektir. Çünkü hem omurga yapısı hem de biyolojik özellikleri insana benzeyen hayvanlardan (örneğin; primatlar) elde edilen verilerin kliniğe uyarlanması daha çok yardımcı olacaktır. Çünkü küçük hayvanların füzyon oluşacak bölgeleri arasındaki mesafe veya kemik iyileşmesi ile ilişkili biyolojik faktörler hayvanın büyüklüğü ile her zaman birebir uyumlu olmayabilir. Örneğin; eritrosit büyüklüğü, kapiller damar yoğunluğu ve besin maddeleri ve oksijen difüzyonu için gereken maksimum difüzyon mesafeleri türlere bağlıdır.

Ayrıca, kemik yeniden şekillenme hızının türler arasında oldukça farklı olduğu düşünülmektedir [45]. Bu nedenlerden dolayı herhangi bir tek hayvan modelinin sonuçlarının doğrudan insanlardakine çevrilmesi oldukça tartışmalıdır.

Çalışmamızın bir diğer farklı yanı da bildiğimiz kadarıyla şu ana kadar yapılan füzyon modellerinde, mikro-bilgisayarlı tomografi kullanılarak veri analizi yapılmış ilk füzyon modeli çalışması olmasıdır. Burada her ne kadar tomografik verilerin istatistiksel analizinde belirgin fark gösterilememiş olsa da daha büyük hayvanlarda veya küçük hayvanlardaki daha kalabalık gruplarda anlamlı sonuçlar elde edilmesi muhtemeldir.

Çalışmamızda gözlemsel olarak anlamlı çıkması muhtemel bazı sonuçların istatistiksel olarak anlamlı çıkmamasının nedeninin denek sayısındaki yetersizlik olabileceği düşünüldü.

Ratlarda uygulanan füzyon için kullanılan spinöz çıkıntılar arası telleme işleminin de yeterli stabilite sağlayamamış olması ve bu nedenle daha önce filogenetik olarak daha gelişmiş hayvanlarda yapılan çalışmalardaki sonuçlardan bazı noktalarda farklı sonuçlar elde etmiş olmamız muhtemeldir.

6. SONUÇLAR

Sonuç olarak çalışmamızda ratlarda yeni bir füzyon modeli kullanarak enstrümantasyonun etkisini araştırmak amacıyla mikro-tomografik ve histolojik incelemeler yapıldı. Bu incelemeler sonucunda enstrümante edilen ratlarla enstrümante edilmeyenler arasında iyileşme taslakları ve oluşan füzyon oranları açısından anlamlı fark gösterilemedi; hem enstrümante edilen hem de enstrümante edilmeyen gruplarda benzer şekilde füzyon olduğu ve transvers çıkıntılar, laminalar, spinöz çıkıntılar gibi kemik-kemik temasının olduğu bölgelerde intramembranöz kemikleşme görülürken, tam temasın olmadığı yerlerde esas hakim olan kaynama şeklinin endokondral kemikleşme olduğu düşünüldü. Bu yapılan çalışmanın daha gelişmiş türlerde veya daha kalabalık deney gruplarında tekrarlanması yararlı olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Karaismailoğlu TN, T.Y., Andaç A, Ergün E, Comparison of autograft, coralline graft, and xenograft in promoting posterior spinal fusion. *Acta Orthop Traumatol Turc.*, 2002. 36(2): p. 147-54.
2. Boden, S.D., et al., 1995 Volvo Award in basic sciences. The use of an osteoinductive growth factor for lumbar spinal fusion. Part I: Biology of spinal fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1995. 20(24): p. 2626-32.
3. Buckwalter, J.A., Bone and joint healing, Rockwood and Green's Fractures in Adults, R.W. Bucholz, Editor. 2006. p. 297-311.
4. Solakoğlu, C., Bölüm 5.4. Omurga füzyonlarında uygulanan greftler, teknikler ve sonuçları, Dejeneratif Omurga Hastalıkları, T. Yazar, Editor. 2007, Türk Omurga Derneği Yayınları-2. p. 707-736.
5. Hadra, B., Wiring of the vertebrae as a means of immobilization in fracture and Potts' disease. 1891. *Clin Orthop Relat Res.*, 2007 Jul(460): p. 11-3.
6. Albee, F., Transplantation of a portion of the tibia in to the spine for Pott's disease. *JAMA*, 1911(57): p. 885-886.
7. Muschler G.F., C.N., H.Takigami, Chapter 26: Principles of Bone Fusion, Rothman-Simeone The Spine Fifth Edition, S.R.G. Herkowitz Harry N., Frank J. Eismont, Gordon R. Bell, Richard A. Balderston, Editor. 2006, Saunders Elsevier. p. 385-406.
8. Wiltse, L., The history of spinal disorders. The adult spine. Principles and practice, ed. F. JW.(ed). 1997, Philadelphia: Lippincott-Raven. p. 3-40.
9. Boden, S.D., Overview of the biology of lumbar spine fusion and principles for selecting a bone graft substitute. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2002. 27(16 Suppl 1): p. S26-31.
10. Vaccaro, A.R., et al., Bone grafting alternatives in spinal surgery. *Spine J*, 2002. 2(3): p. 206-15.

11. Rosier, R.N., Chapter 2: Molecular and Cell Biology in Orthopaedics, in *Orthopaedic Basic Science*, J.A. Buckwalter, Editor. 2000, American Academy of Orthopaedic Surgeons. p. 19-76.
12. Pountos, I. and P.V. Giannoudis, Biology of mesenchymal stem cells. *Injury*, 2005. 36 Suppl 3: p. S8-S12.
13. Boden, S.D., The biology of posterolateral lumbar spinal fusion. *Orthop Clin North Am*, 1998. 29(4): p. 603-19.
14. Villanueva, J.E. and M.E. Nimni, Promotion of calvarial cell osteogenesis by endothelial cells. *J Bone Miner Res*, 1990. 5(7): p. 733-9.
15. Brighton, C.T., et al., The pericyte as a possible osteoblast progenitor cell. *Clin Orthop Relat Res*, 1992(275): p. 287-99.
16. Zvaifler, N.J., et al., Mesenchymal precursor cells in the blood of normal individuals. *Arthritis Res*, 2000. 2(6): p. 477-88.
17. Kakar, S., Bone Grafting and Enhancement of Fracture Repair, in *Rockwood and Green's Fractures in Adults*, R.W. Bucholz, Editor. 2006. p. 313-330.
18. Simmons, D.J., Fracture healing perspectives. *Clin Orthop Relat Res*, 1985(200): p. 100-13.
19. Long, J., et al., The effect of cyclooxygenase-2 inhibitors on spinal fusion. *J Bone Joint Surg Am*, 2002. 84-A(10): p. 1763-8.
20. Glassman, S.D., et al., The effect of postoperative nonsteroidal anti-inflammatory drug administration on spinal fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1998. 23(7): p. 834-8.
21. Lim, T.H., et al., Effect of endplate conditions and bone mineral density on the compressive strength of the graft-endplate interface in anterior cervical spine fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2001. 26(8): p. 951-6.

22. Lane J.M., M.G.F., Chapter 44: Spinal Fusion-Principles of Bone Fusion, Rothman-Simeone The Spine Third Edition, S.R.G. Herkowitz Harry N., Frank J. Eismont, Editor. 1992, W. B. Saunders Company. p. 1739-1755.
23. Morone, M.A. and S.D. Boden, Experimental posterolateral lumbar spinal fusion with a demineralized bone matrix gel. Spine (Phila Pa 1976), 1998. 23(2): p. 159-67.
24. Pilitsis, J.G., D.R. Lucas, and S.S. Rengachary, Bone healing and spinal fusion. Neurosurg Focus, 2002. 13(6): p. 1-6.
25. Schimandle, J.H., S.D. Boden, and W.C. Hutton, Experimental spinal fusion with recombinant human bone morphogenetic protein-2. Spine (Phila Pa 1976), 1995. 20(12): p. 1326-37.
26. Sandhu, H.S., Bone morphogenetic proteins and spinal surgery. Spine (Phila Pa 1976), 2003. 28(15 Suppl): p. S64-73.
27. Cha, C.W. and S.D. Boden, Gene therapy applications for spine fusion. Spine (Phila Pa 1976), 2003. 28(15 Suppl): p. S74-84.
28. Einhorn, T.A., F. Bonnarens, and A.H. Burstein, The contributions of dietary protein and mineral to the healing of experimental fractures. A biomechanical study. J Bone Joint Surg Am, 1986. 68(9): p. 1389-95.
29. Dickhaut, S.C., J.C. DeLee, and C.P. Page, Nutritional status: importance in predicting wound-healing after amputation. J Bone Joint Surg Am, 1984. 66(1): p. 71-5.
30. Lenke, L.G., et al., Prospective analysis of nutritional status normalization after spinal reconstructive surgery. Spine (Phila Pa 1976), 1995. 20(12): p. 1359-67.
31. Muschler, G.F., et al., Age- and gender-related changes in the cellularity of human bone marrow and the prevalence of osteoblastic progenitors. J Orthop Res, 2001. 19(1): p. 117-25.

32. Toribatake, Y., et al., Vascularization of the fusion mass in a posterolateral intertransverse process fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1998. 23(10): p. 1149-54.
33. Azar N, M.C., Bozkurt ER, The effect of decortication on spinal fusion:an in vivo study in guinea pigs. *Acta Orthop Traumatol Turc.*, 2001. 35: p. 163-168.
34. Emery, S.E., et al., The biological and biomechanical effects of irradiation on anterior spinal bone grafts in a canine model. *J Bone Joint Surg Am*, 1994. 76(4): p. 540-8.
35. Bouchard, J.A., et al., Effects of irradiation on posterior spinal fusions. A rabbit model. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1994. 19(16): p. 1836-41.
36. France, J.C., et al., The efficacy of direct current stimulation for lumbar intertransverse process fusions in an animal model. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2001. 26(9): p. 1002-8.
37. Linovitz, R.J., et al., Combined magnetic fields accelerate and increase spine fusion: a double-blind, randomized, placebo controlled study. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2002. 27(13): p. 1383-9; discussion 1389.
38. Einhorn, T.A., The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res*, 1998(355 Suppl): p. S7-21.
39. Buckwalter, J.A., Kas İskelet Doku İyileşmesi, *Turek Ortopedi İlkeler ve Uygulamaları*, J.A.B. Stuart L. Weinstein, Editor. 2009, Güneş Tıp Kitabevi. p. 57-72.
40. Stephen M. Perren, L.C., Biology and biomechanics in fracture management, in *AO Principles of fracture management*, W.M.M. Thomas P. Rüedi, Editor. 2000, Thieme. p. 7-30.
41. Day, S.M., Chapter 14: Bone injury,regeneration and repair, in *Orthopaedic Basic Science*, J.A. Buckwalter, Editor. 2000, American Academy of Orthopaedic Surgeons. p. 371-399.

42. Perren Stephen M., L.C., Biology and biomechanics in fracture management, in AO Principles of fracture management, W.M.M. Thomas P. Rüedi, Editor. 2000, Thieme. p. 7-30.
43. Augat, P., et al., Local tissue properties in bone healing: influence of size and stability of the osteotomy gap. *J Orthop Res*, 1998. 16(4): p. 475-81.
44. McKibbin, B., The biology of fracture healing in long bones. *J Bone Joint Surg Br*, 1978. 60-B(2): p. 150-62.
45. Drespe, I.H., et al., Animal models for spinal fusion. *Spine J*, 2005. 5(6 Suppl): p. 209S-216S.
46. Boden, S.D., et al., Laparoscopic anterior spinal arthrodesis with rhBMP-2 in a titanium interbody threaded cage. *J Spinal Disord*, 1998. 11(2): p. 95-101.
47. Holliger, E.H., et al., Morphology of the lumbar intertransverse process fusion mass in the rabbit model: a comparison between two bone graft materials--rhBMP-2 and autograft. *J Spinal Disord*, 1996. 9(2): p. 125-8.
48. Grauer, J.N., et al., 2000 Young Investigator Research Award winner. Evaluation of OP-1 as a graft substitute for intertransverse process lumbar fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2001. 26(2): p. 127-33.
49. Sandhu, H.S., et al., Evaluation of rhBMP-2 with an OPLA carrier in a canine posterolateral (transverse process) spinal fusion model. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1995. 20(24): p. 2669-82.
50. Morone, M.A., et al., The Marshall R. Urist Young Investigator Award. Gene expression during autograft lumbar spine fusion and the effect of bone morphogenetic protein 2. *Clin Orthop Relat Res*, 1998(351): p. 252-65.
51. Suzuki, H., et al., Spatial and temporal collagen gene expression in lumbar intertransverse fusion in the rabbit. *J Bone Joint Surg Br*, 2001. 83(5): p. 760-6.

52. Boden, S.D., J.H. Schimandle, and W.C. Hutton, An experimental lumbar intertransverse process spinal fusion model. Radiographic, histologic, and biomechanical healing characteristics. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1995. 20(4): p. 412-20.
53. Holmes, R., et al., A coralline hydroxyapatite bone graft substitute. Preliminary report. *Clin Orthop Relat Res*, 1984(188): p. 252-62.
54. Oikarinen, J., Experimental spinal fusion with decalcified bone matrix and deep-frozen allogeneic bone in rabbits. *Clin Orthop Relat Res*, 1982(162): p. 210-8.
55. Kanayama, M., et al., Does spinal instrumentation influence the healing process of posterolateral spinal fusion? An in vivo animal model. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1999. 24(11): p. 1058-65.
56. Yuan, H.A., et al., A Historical Cohort Study of Pedicle Screw Fixation in Thoracic, Lumbar, and Sacral Spinal Fusions. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1994. 19(20 Suppl): p. 2279S-2296S.
57. Kornblatt, M.D., M.P. Casey, and R.R. Jacobs, Internal fixation in lumbosacral spine fusion. A biomechanical and clinical study. *Clin Orthop Relat Res*, 1986(203): p. 141-50.
58. Perren, S.M., The biomechanics and biology of internal fixation using plates and nails. *Orthopedics*, 1989. 12(1): p. 21-34.
59. Hannouche, D., H. Petite, and L. Sedel, Current trends in the enhancement of fracture healing. *J Bone Joint Surg Br*, 2001. 83(2): p. 157-64.
60. Blenman, P.R., D.R. Carter, and G.S. Beaupre, Role of mechanical loading in the progressive ossification of a fracture callus. *J Orthop Res*, 1989. 7(3): p. 398-407.
61. Frost, H.M., The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part I. *Clin Orthop Relat Res*, 1989(248): p. 283-93.

62. Bridwell, K.H., et al., The role of fusion and instrumentation in the treatment of degenerative spondylolisthesis with spinal stenosis. *J Spinal Disord*, 1993. 6(6): p. 461-72.
63. Schwab, F.J., et al., Effects of spinal instrumentation on fusion of the lumbosacral spine. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1995. 20(18): p. 2023-8.
64. Zdeblick, T.A., A prospective, randomized study of lumbar fusion. Preliminary results. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1993. 18(8): p. 983-91.
65. Johnston, C.E., 2nd, et al., Effect of spinal construct stiffness on early fusion mass incorporation. Experimental study. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1990. 15(9): p. 908-12.
66. Zdeblick, T.A., et al., Anterior spinal fixation after lumbar corpectomy. A study in dogs. *J Bone Joint Surg Am*, 1991. 73(4): p. 527-34.
67. Kleiner, J.B., et al., The effect of instrumentation on human spinal fusion mass. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1995. 20(1): p. 90-7.
68. Rand, J.A., et al., A comparison of the effect of open intramedullary nailing and compression-plate fixation on fracture-site blood flow and fracture union. *J Bone Joint Surg Am*, 1981. 63(3): p. 427-42.
69. Lenke, L.G., et al., Results of in situ fusion for isthmic spondylolisthesis. *J Spinal Disord*, 1992. 5(4): p. 433-42.
70. Ruegsegger, P., B. Koller, and R. Muller, A microtomographic system for the nondestructive evaluation of bone architecture. *Calcif Tissue Int*, 1996. 58(1): p. 24-9.
71. Sran, M.M., et al., Regional trabecular morphology assessed by micro-CT is correlated with failure of aged thoracic vertebrae under a posteroanterior load and may determine the site of fracture. *Bone*, 2007. 40(3): p. 751-7.
72. Boyd, S.K., et al., Early regional adaptation of periarticular bone mineral density after anterior cruciate ligament injury. *J Appl Physiol*, 2000. 89(6): p. 2359-64.

73. Foster, M.R., et al., Characterization of a developing lumbar arthrodesis in a sheep model with quantitative instability. *Spine J*, 2002. 2(4): p. 244-50.
74. Kanayama, M., et al., Maturation of the posterolateral spinal fusion and its effect on load-sharing of spinal instrumentation. An in vivo sheep model. *J Bone Joint Surg Am*, 1997. 79(11): p. 1710-20.
75. O'Loughlin, P.F., et al., Parathyroid hormone (1-34) augments spinal fusion, fusion mass volume, and fusion mass quality in a rabbit spinal fusion model. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2009. 34(2): p. 121-30.
76. Jenis, L.G., et al., The effect of osteogenic protein-1 in instrumented and noninstrumented posterolateral fusion in rabbits. *Spine J*, 2002. 2(3): p. 173-8.
77. Jackson, R.S., M.A. Asher, and R.G. Lark, Analysis of posterior spinal wiring in a validated rabbit model. *Clin Orthop Relat Res*, 2000(373): p. 285-94.
78. Feiertag, M.A., et al., A rabbit model for nonunion of lumbar intertransverse process spine arthrodesis. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1996. 21(1): p. 27-31.
79. Wood, G.W., 2nd, et al., The effect of pedicle screw/plate fixation on lumbar/lumbosacral autogenous bone graft fusions in patients with degenerative disc disease. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1995. 20(7): p. 819-30.
80. McAfee, P.C., et al., 1989 Volvo Award in basic science. Device-related osteoporosis with spinal instrumentation. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1989. 14(9): p. 919-26.
81. Johnston, C.E., 2nd, et al., Effect of spinal construct stiffness on short segment fusion mass incorporation. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1995. 20(22): p. 2400-7.
82. Slater, R., D. Nagel, and R.L. Smith, Biochemistry of fusion mass consolidation in the sheep spine. *J Orthop Res*, 1988. 6(1): p. 138-44.

83. Thomas, I., et al., Experimental spinal fusion in guinea pigs and dogs: the effect of immobilization. *Clin Orthop Relat Res*, 1975(112): p. 363-75.
84. Feighan, J.E., S. Stevenson, and S.E. Emery, Biologic and biomechanic evaluation of posterior lumbar fusion in the rabbit. The effect of fixation rigidity. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1995. 20(14): p. 1561-7.
85. Nagel, D.A., W.T. Edwards, and E. Schneider, Biomechanics of spinal fixation and fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1991. 16(3 Suppl): p. S151-4.
86. Fischgrund, J.S., et al., 1997 Volvo Award winner in clinical studies. Degenerative lumbar spondylolisthesis with spinal stenosis: a prospective, randomized study comparing decompressive laminectomy and arthrodesis with and without spinal instrumentation. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1997. 22(24): p. 2807-12.
87. Heggeness, M.H. and S.I. Esses, Classification of pseudarthroses of the lumbar spine. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1991. 16(8 Suppl): p. S449-54.
88. Kim, K.W., et al., Volumetric change of the graft bone after intertransverse fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1999. 24(5): p. 428-33.
89. Woo, S.L., et al., Less rigid internal fixation plates: historical perspectives and new concepts. *J Orthop Res*, 1984. 1(4): p. 431-49.
90. Goel, V.K., et al., Effects of rigidity of an internal fixation device. A comprehensive biomechanical investigation. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1991. 16(3 Suppl): p. S155-61.
91. McAfee, P.C., et al., The effect of spinal implant rigidity on vertebral bone density. A canine model. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1991. 16(6 Suppl): p. S190-7.
92. Gurr, K.R., et al., Roentgenographic and biomechanical analysis of lumbar fusions: a canine model. *J Orthop Res*, 1989. 7(6): p. 838-48.

93. Boden, S.D. and D.R. Sumner, Biologic factors affecting spinal fusion and bone regeneration. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1995. 20(24 Suppl): p. 102S-112S.
94. Esses, S.I., et al., Operative treatment of spinal fractures with the AO internal fixator. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1991. 16(3 Suppl): p. S146-50.
95. McMaster, M.J. and J.I. James, Pseudoarthrosis after spinal fusion for scoliosis. *J Bone Joint Surg Br*, 1976. 58(3): p. 305-12.
96. McMaster, M.J. and M.V. Merrick, The scintigraphic assessment of the scoliotic spine after fusion. *J Bone Joint Surg Br*, 1980. 62-B(1): p. 65-72.
97. Blumenthal, S.L. and K. Gill, Can lumbar spine radiographs accurately determine fusion in postoperative patients? Correlation of routine radiographs with a second surgical look at lumbar fusions. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1993. 18(9): p. 1186-9.
98. Brodsky, A.E., E.S. Kovalsky, and M.A. Khalil, Correlation of radiologic assessment of lumbar spine fusions with surgical exploration. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1991. 16(6 Suppl): p. S261-5.