

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

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Mert ÇİFTDEMİR

**RATLARDA VERTEBRA FÜZYONU ÜZERİNDE
PREGABALİN'İN ETKİSİ**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Erdi İMRE

EDİRNE-2018

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ
ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Mert ÇİFTDEMİR

RATLARDA VERTEBRA FÜZYONU ÜZERİNDE
PREGABALİN'İN ETKİSİ

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Erdi İMRE

Bu tez Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2016-208)

EDİRNE-2018



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi, beceri ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr. Kenan SARIDOĞAN, Prof. Dr. Nurettin HEYBELİ, Prof. Dr. Hasan Hilmi MURATLI, Prof. Dr. Cem ÇOPUROĞLU ve Doç. Dr. Mert ÖZCAN'a, tezimi oluştururken yardımlarıyla yanımda olan Doç. Dr. Ebru TAŐTEKİN, Prof. Dr. Necdet SÜT, Yrd. Doç. Dr. Erdem YILMAZ, Prof. Dr. Çetin Hakan KARADAĞ, Yrd. Doç. Dr. Ruhan Deniz TOPUZ, Vet. Hek. Ziya ÇUKUR'a, ayrıca tez çalışmam ve eğitimim süresince bana yol gösteren değerli hocam Doç. Dr. Mert ÇİFTDEMİR'e, dostluğunu esirgemeyen asistan arkadaşlarıma ve klinik çalışanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
OMURGA ANATOMİSİ	3
SIÇAN ANATOMİSİ	6
OMURGA FÜZYONU	7
FÜZYON BİYOLOJİSİ	10
NÖROPATİK AĞRI VE PREGABALİN	10
GEREÇ VE YÖNTEMLER	15
BULGULAR	26
TARTIŞMA	49
SONUÇLAR	54
ÖZET	55
SUMMARY	57
KAYNAKLAR	59
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

BMP : Kemik morfojenik protein

RFL : Radyofrekans lezyonlama

GABA : Gamma amino bütirik asit

CGRP : Kalsitonin gen ilişkili peptid

NF-kB : Aktive olmuş B hücrelerinin kappa hafif zincirlerini geliştirici nükleer faktör

COX : Siklooksijenaz

PACS : Resim arşivleme ve iletişim sistemi

GİRİŞ VE AMAÇ

Ağrı, insan vücudundaki olacak veya olmakta olan hasarı engellemeye yarayan bir alarm sistemidir. Sinir sistemindeki primer lezyona bağlı gelişen ağrı nöropatik ağrı olarak tanımlanır. Nöropatik ağrı sebepleri diabetes mellitustan Herpes zostere, malignitelere HIV enfeksiyonuna kadar geniş çeşitlilik gösterir. Disk herniasyonuna bağlı radikulopati, spinal stenoz ya da spinal kord hasarı gibi santral omurga hastalıkları da nöropatik ağrının toplumda yaygın görülen sebeplerindendir. Gamma aminobütirik asit analogları (gabapentin, pregabalin) nöropatik ağrı tedavisinde günümüzde sık kullanılan ilaçlardır. Nöropatik ağrının tedavisinde sıklıkla kullanılan bu ilaçlar, nöropatik ağrıya sebep olan omurga rahatsızlıklarının cerrahi tedavisi sonrasında da kullanılabilir. Omurga rahatsızlıklarının çoğunun cerrahi tedavisinde amaç sinir dokusuna olan basının ortadan kaldırılmasının yanı sıra biyomekanik olarak stabil bir omurga elde etmektir. Biyomekanik olarak stabil bir omurga elde etmek için altın standart yöntem omurga füzyonudur. İmplantlar ve cerrahi teknikteki gelişmelere, kırık iyileşmesinin biyolojisinin daha iyi anlaşılmasına rağmen omurga füzyonu işlemi sonrası psödoartroz komplikasyonu görülebilmektedir. Bu yüzden nörolopatik ağrı tedavisinde kullanılan ilaçların cerrahi tedavide sıklıkla uygulanan omurga füzyonu işlemi ne derecede etkiledikleri bilinmesi gereken bir konudur. Endikasyonları giderek genişlemekte olan pregabalin, hem kullanımı, hem suistimali artan bu ilaçtır ve kemik iyileşmesi üzerine etkisi araştırılmamıştır. Kullanım sıklığı giderek artmaktan olduğundan omurga füzyonu cerrahisi sonrası kullanımı da gerekebilir. Bu çalışmanın amacı pregabalinin omurga füzyonu üzerine olan etkisini araştırmaktır. Böylece kırık kaynaması veya omurga füzyonu gibi kemik iyileşmesinin devam ettiği hastalarda kullanımının kemik iyileşmesini üzerindeki etkisine göre,

kullanımı sınırlandırılarak psödoartroz riskinden korunulabilecek ya da kullanımına ara verilmeden devam edilebilecektir. Aynı zamanda kemik üzerindeki etki mekanizmalarının açıklanması için farmakolojik araştırmaların yapılması gerekliliği de doğabilecektir. Bu çalışmanın amacı nöropatik ağrı tedavisinde sık kullanılan ve kullanım endikasyonu giderek genişleyen pregabalin ilacının omurga füzyonu üzerine olumsuz bir etkisi olup olmadığı konusunun araştırılmasıdır.



GENEL BİLGİLER

OMURGA ANATOMİSİ

Columna vertebralis, ossa thoracis ile beraber ossa trunci'yi oluşturan ve vücudu bir direk gibi destekleyen yapıdır. Beş bölüme ayrılan 33 omurgadan (7 servikal, 12 torakal, 5 lomber, 5 sakral, 4 koksigeal) ve bunların arasında yer alan discus intervertebralis'ten oluşur. Sakral ve koksigeal omurgalar yetişkin dönemde birleşmiş olduğundan 24 hareketli segment vardır. Uzunluğu yetişkin bir kadında yaklaşık 61 cm, yetişkin bir erkekte ise yaklaşık 71 cm'dir (1). Omurganın planum medianum'daki arkaya doğru olan konkavitesine lordosis, arkaya doğru olan konveksitelerine de kyphosis denir. Torakal ve sakral vertebralar in utero dönemden itibaren kifotiktir, göğüs kafesi ve pelvis için tutunma sahası oluşturur. Servikal ve lomber lordoz ise sonradan gelişir. Genel olarak tüm omurların kraniyalden kaudale gidildikçe doğru boyutu artar.

Omurlar, columna vertebralis'in destek, koruma ve hareket fonksiyonlarını gerçekleştirmek için corpus vertebrae (omur cismi), arcus vertebrae ve processus vertebralis adları ile 3 grupta incelenen yapılardan oluşmaktadır. Corpus vertebrae, C3'ten S1'e doğru giderek büyüyen, üst ve alt yüzleri discus intervertebralisler ile eklem yapan bir yapıdır. Arcus vertebrae omurun arka bölümünü oluşturan, corpus vertebrae'nin arka yüzünün yanlarına pediculus arcus vertebrae adı verilen ayakçıklar ile bağlanan, levha biçimli arka bölümüne lamina arcus vertebrae adı verilen yapıdır. Lamina arcus vertebrae, ortasından çıkarak arkaya doğru uzanan processus spinosus adı verilen çıkıntılarla sağ ve sol olarak iki yarıma ayrılır. Corpus vertebrae ile arcus vertebrae arasında foramen vertebrale oluşur. Üstüste oturan

foramen vertebrae'ler birleşerek canalis vertebralis'i oluşturur. Canalis vertebralis içerisinde medulla spinalis bulunur. Pediculus arcus vertebrae'lerin üst ve alt kenarlarında incisura vertebralis superior et inferior adı verilen çentikler karşılıklı gelip corpus ve discus intervertebralis ile beraber içinden spinal sinirlerin çıktığı foramen intervertebrale'yi oluşturur. Arcus vertebrae'den 7 adet çıkıntı çıkar. Bunlardan kas ve bağların yapıştığı 3 tanesi (1 processus spinosus, 2 processus transversus) kaldıraç görevi görürken 4 tanesi (sağ sol processus articularis superior ve inferior'lar) omurların eklemleşmesini sağlar (1). Processus transversus'lar sağda ve solda lamina-pedikül bileşkesinden çıkarak horizontal olarak uzanırlar.

Omurlar isimlerini buldukları bölgeden alır. Boyut olarak kaudale gidildikçe büyür ancak koksikte en küçük boyutludur. Servikal vertebralar 7 tanedir, bunlar C1'den C7'ye adlandırılır. Tipik bir boyun omuru küçük, üst ve alt yüzleri kuadranguler olan bir corpus vertebraya sahiptir. Pediculus arcus vertebrae'ler ince ve dorsomedial yöneltidedir. Lamina arcus vertebrae'ler uzun ince ve üst kenarları keskindir. Pedikülolaminer bileşkenin üstünde ve altında proc. Articularis superior et inferior bulunur. Proc. transversus'lar rudimenter costa ile esas transvers çıkıntının birleşmesiyle oluştuğundan proc. costotransversarium adı da verilir. Her processus transversus'ta içerisinde a. vertebralis'in geçtiği foramen transversarium bulunur. Her bir processus transversus'un üst yüzünde tuberculum anterius et posterius bulunur. 3-7. Servikal vertebralarda bu tümsekçikler arasında sulcus nervi spinalis bulunur. 6. Boyun omurunun tuberculum anterius'u daha belirgindir ve buna tuberculum caroticum adı verilir. Özel olarak C1 atlas, C2 aksis olarak adlandırılır. Atlas, corpus'u ve processus spinosus'u bulunmayan halka biçimli bir vertebradır. İki yan kitle ve bunları bağlayan iki kemerden oluşur. İki yan kitle, os occipitale'nin condylus occipitalis'leriyle atlantoaksiyel eklemi oluşturan massa lateralis atlantis'tir. Massa lateralis atlantis'lerin alt yüzünde C2 vertebra üst yüzündeki facies articularis superior ile eklem yapan facies articularis inferior'lar yer alır. Atlasın arkadaki kavsi (arcus posterior) öndekine göre daha büyüktür. Bu kavsin üst yüzünde a. vertebralis ve n. Spinalis I'in geçtiği sulcus arteriae vertebralis bulunur. Arcus posterior'un arka yüzünün ortasında tuberculum posterius, arcus anterior'un ön yüzünün ortasında tuberculum anterius bulunur. Arcus anterior'un arka yüzünün orta bölümünde, dens axis'te bulunan fac. art. anterior ile eklemleşen fovea dentis bulunur. Aksis sahip olduğu processus odontoideus (dens axis) ile diğer servikal vertebralardan kolaylıkla ayrılır. Dens axis, atlas'taki fovea dentis ile eklem yaparak başın rotasyonel hareketlerine olanak verir. Atlas'taki fovea dentis ile eklem yapan yüz facies articularis anterior olarak adlandırılır ve dens'in ön bölümünde bulunur. Dens'in arkasında facies articularis posterior bulunur. Dens axis'in iki tarafında corpus, pediculus ve

transvers çıkıntıya doğru yayılan *facies articularis superior*'lar yer alır. Aksis boyun omurları arasında en kalın lamina ve *pediculus*'a sahiptir. Bu vertebralar sayesinde boyun hareket açıklığı geniştir. Atlantooksipital eklemden fleksiyon ekstansiyon hareketi, atlantoaksiyel eklemden rotasyon hareketi yapılır.

İlk 4 torakal omur servikal omurlara benzerken son 4 torakal omur lomber omurgalara benzer. Ortadaki 4 omur ise tipik torakal omurları oluşturur. Tipik bir torakal omurun *corpus*'u boyun omurununkinden daha büyük olup diskal yüzü kalp biçimindedir. *Corpus*'un arkasında pedikül'ün ön ve aşağısında *fovea costalis superior et inferior*'ler bulunur. İki komşu omura ait *fovea costalis superior et inferior* ile bunların arasında kalan *discus intervertebralis* bölümü arasında kalan *discus intervertebralis* bölümü, *caput costae* ile eklem yapacak tam bir eklem yüzü oluşturur (1). *Foramen vertebrale* küçük ve yuvarlak biçimlidir. *Lamina arcus vertebrae*'ler geniş ve kalındır. *Processus articularis superior*'lar ince ve dikey seyirli olup eklem yüzleri arkaya bakarken; *processus articularis inferior*'ları kısadır ve eklem yüzleri öne bakar (1). *Processus spinosus*'u ise uzundur ve oblik olarak aşağıya yönelmiştir. *Processus transversus*'ları büyük ve kalın olup ön yüzünde *fovea costalis processus transversus* bulunmaktadır. Bu eklem yüzleri kaburgaların *tuberculum costae*'lerindeki *fac. art. tuberculi costae*'leri ile eklem yapar (1). Birinci torakal vertebranın *processus spinosus*'u servikal yedinci vertebradaki gibi uzun, kalın ve dikey uzanımlı olup, *corpus*'unun yan yüzlerinin üst bölümünde *fovea costalis superior* yerine sağ-sol 1. kaburgaların *caput costae*'leri ile eklemleştirecek tam dairesel eklem yüzleri bulunmaktadır. Torakal 9 ve 10 vertebralar *fovea costalis inferior* içermeyip onun yerine *caput costae* ile eklemleştirecek tek büyük eklem yüzü (*fovea costalis*) bulundurmaz. Torakal 11 ve 12 vertebranın *processus spinosus*'ları kısa ve horizontaldir, *processus transversus*'leri küçüktür, *fovea costalis processus transversus* bulunmaz, *caput costae*'ler için tek ve dairesel eklem yüzü (*fovea costalis*) içerir (1).

Lomber vertebraların cisimleri, üzerlerine daha fazla yük geldiğinden torakal vertebraların cisimlerine göre daha büyüktür. *Foramen vertebrale*'leri daha geniş ve üçgen biçimli olup, lamina ve *pediculus arcus vertebrae*'leri geniş, kalın ve sağlamdır (1). *Processus articularis superior*'ların arka kenarları üzerinde *processus mamillaris* adı verilen çıkıntılar bulunur. *Processus transversus*'un posteroinferiorunda *processus accessorius*'lar uzanır (1).

Os sacrum, 5 omur ve bunlar arasındaki disklerin birleşmesiyle oluşmuş, büyük, üçgen-kama biçimli bir kemik olup, iki *os coxae* arasına girerek *pelvis*'in posterosuperior duvarını yapar. Bir tabanı (*basis ossis sacri*), bir tepesi (*apex ossis sacri*) iki yan bölümü (*pars lateralis*)

ve iki yüzü (facies pelvica et dorsalis) vardır. Basis ossis sacri, lomber 5. vertebra ile eklem yapar. Basis'in ön kenarının çıkıntı yapan orta bölümüne promontorium adı verilir. Basis ossis sacri'nin sakrum 1. vertebraya ait processus transversus ve processus costalis ile biraraya gelerek oluşturduğu yan bölümlere ala ossis sacri adı verilir. Laminopediküler bileşkelere eklem yüzleri posteromediale bakan dikey duran processus articularis superior çıkar. Processus articularis superior, lomber 5 vertebranın processus articularis inferior'ları ile eklem yapar (1). Sakral vertebraların processus transversus ve processus costalis'lerinin birleşerek oluşturduğu bölüme pars lateralis adı verilir. Os sacrum'un anteroinferiora bakan yüzüne facies pelvina, adı verilir. Bu yüzde sağlı sollu dört çift delik (foramina sacralia pelvina) ve bunları birleştiren 4 transvers çizgi (linea transversae) bulunur. Os sacrum'un posterosuperior'a bakan konveks arka yüzüne facies dorsalis adı verilir (1). Bu yüzde sağlı solu dört çift delik (foramina sacralia dorsalia) bulunur. Orta hatta processus spinosus kalıntılarında oluşmuş crista sacralis mediana, bunun iki yanında processus articularis'lerin kalıntılarının oluşturduğu crista sacralis medialis, bunların lateralinde processus transversus'ların kalıntılarının oluşturduğu crista sacralis lateralis adları verilir. Facies dorsalis inferiorunda , hiatus sacralis'in iki yanında cornu sacrale bulunur. Sakral vertebralara ait foramen vertebrale'lerin birleşmesiyle oluşan canalis sacrale bulunur. Canalis sacralis'in dış yan duvarlarında foramina intervertebralia bulunur. Bu delikler foramina sacralia dorsalia et pelvina ile bağlantılıdır (1).

Coccyx 4 rudimenter koksigeal omurun birleşmesiyle oluşur. Küçük, üçgen biçimlidir. Birinci koksigeal omurun üst yüzü basis'ini oluşturur. Basis'teki eklem yüzü apex ossis sacri ile eklem yapar. Basis'in dorsolateralinde cornu coccygeum bulunur. Bu çıkıntıların inferolateralinde rudimenter processus transversus'lar bulunur (1).

SIÇAN ANATOMİSİ

Siçan iskelet sistemi, aksiyel ve appendiküler olarak iki bölümde incelenir. Aksiyel iskelet bölümü kafatası, omurga, sternum ve kaburgaları içerir, appendiküler iskelet bölümünü ise pektoral kavşak, üst ekstremite, alt ekstremite ve pelvis oluşturur. Vertebral kolon 7 servikal, 13 torakal, 6 lumbal, 4 sakral, ve yaklaşık 28 kaudal vertebradan oluşur (2).

OMURGA FÜZYONU

Endikasyonları

Omurga füzyonu omurganın artrodezidir. Amacı patolojik instabiliteyi gidermek ve ağrıyı ve beraberindeki bulguları azaltmaktır. Omurga füzyonu travmalarda, enfeksiyonlarda, deformitelerde, dejeneratif hastalıklarda ve tümörlerde sıklıkla uygulanmakta olan bir işlemdir. İmplantların ve cerrahi tekniklerin gelişmesi, daha ayrıntılı radyolojik görüntüleme teknikleri, kemik iyileşmesinin daha iyi anlaşılması, ameliyat öncesi ve sonrası bakım ile rehabilitasyon alanındaki gelişmeler sayesinde bu endikasyonların kapsamı genişlemektedir.

Füzyon cerrahisindeki amaç biyomekanik olarak stabil bir omurga elde etmektir. Başarılı bir omurga füzyonu, ideal bir biyolojik ortam ve mekanik faktörlere bağlıdır. İdeal biyolojik ortam kırıkta dokuların temizlenmesi, dekortikasyon, bölgenin yeterli miktarda kanlandırılması, greftleme ve füzyon uygulanan bölgenin hareketsizleştirilmesi ile sağlanır. Mekanik faktörler ise; bölgenin uygun dizilimini sağlayan ve hareketini engelleyen rod, plak, tel, kanca, alçı, korse ve ortez gibi çeşitli tespit araçlarını kullanmasıyla sağlanmaktadır. Mekanik faktörler ve biyolojik ortam tek başlarına füzyon oluşturamazlar ve ikisinin de ideal şartlarda bulunması gereklidir.

İmplant teknolojisinin gelişmesine ve kemik iyileşmesini etkileyen biyolojik faktörlerin daha ayrıntılı bir biçimde anlaşılmasına rağmen omurgada psödoartroz oranları sifira indirilememiştir. Literatürde psödoartroz %5–43 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir (3). Bu oranlar altta yatan birçok lokal ve sistemik faktöre bağlı olabilir. Bu faktörler yeterli lokal kan akımının ve doku oksijenizasyonunun sağlanamaması, kemik oluşumu için yeterli sayıda osteojenik hücrenin olmaması, osteoindüktif ve osteokondüktif faktörlerin yeterli olmaması, tespitin yetersiz olması olarak sayılabilir.

Tarihçesi

İlk omurga füzyonu vakaları 1911 yılında Hibbs ve Albee tarafından skolyoz ve Pott hastalığında uygulanmıştır (4,5). Hibbs spinöz çıkıntıların, lamina ve artiküler fasetlerin subperiostal açılıp ve faset eklemlerin kürete edilerek laminadan kemik flep kaldırılmasıyla füzyonun sağlandığını bildirmiştir. Ameliyat sonrası hastalara sekiz hafta boyunca yatak traksiyonu ile alçı korse uygulamış ve 1924 yılında 59 skolyoz olgusunda uyguladığı füzyon operasyonunun sonuçlarını yayınlamıştır. Albee ise bir Pott hastalığı olgusunda otolog tibia

grefti kullanmış, spinöz çıkıntıları ayırarak tibial grefti spinöz çıkıntıların arasına yerleştirmiştir. Türkiye'de ilk Albee operasyonu 1925 yılında Dr. Mim Kemal Öke tarafından, iki pott hastalığı olgusuna uygulanmıştır (6). 1926'da Dr. Burhaneddin Toker uyguladığı Albee operasyonunu (7) ve 1942'de Dr. Sadettin Onaran Pott hastalığı nedeni ile Albee operasyonu uyguladığı dokuz olguyu bildirmiştir (8). 1962 yılında Harrington sisteminin yaygınlaşmasıyla omurga füzyonu işlemi de yaygınlaşmış ve bunun sonucunda kullanılan implantların uygulanan tekniklerle beraber gelişmesi izlenmiştir.

Omurga Füzyonu Teknikleri

Vertebra füzyonu için çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bu teknikler aşağıda yer almaktadır:

- 1-Posterior Füzyon
- 2- Posterolateral Füzyon
- 3- Lateral Füzyon
- 4- Anterior Füzyon
- 5- İnterbody Füzyon
- 6- Minimal İnvazif Füzyon

1. Posterior füzyon: Hibbs tarafından 1911 yılında uygulanmaya başlanmıştır. Spinöz çıkıntıların, lamina ve artiküler fasetlerin subperiostal açılıp ve faset eklemlerin kürete edilerek laminadan kemik flep kaldırılmasıyla füzyonun sağlanması hedeflenir. Posterior orta hat veya Wiltse paravertebral yaklaşım ile yapılabilir. Kaynamama insidansı posterolateral veya lateral füzyondan daha yüksektir. Sağlam lamina ve spinöz çıkıntı gerektirir ve bu nedenle posterior füzyonun öncüsü olan dekompresif laminektomi sonrasında kullanılamayabilir. Füzyon sonrası stenoz oranı, diğer tekniklere göre yüksektir.

2. Posterolateral füzyon: 1948 yılında Cleveland, Bosworth ve Thompson tarafından tanımlanmıştır (9) . Bu yöntemde faset eklem kırırdağı osteotomla çıkarılır ve hem inferior hem superior eklem çıkıntılarında osteoartiküler tabaka kaldırılır. Laminalar, fasetlerin lateral yüzleri ve processus

transversus'ların dorsal yüzeyi dekortike edilir. Ardından bu bölgeler greftlenerek füzyon sağlanır (10).

3. Lateral füzyon: 1936'da Mathieau ve Demirleau tarafından ilk kez uygulanmıştır. Bu yaklaşımda en krniyalden kaudale kadar processus transversus'ların lateral, dorsal, superior ve inferior yüzleri, pars interartikülaris'in dorsal ve lateral yüzlerini içeren tüm yüzeyler dekortike edilir. Kemik greftler processus transversus'ların dorsal yüzeyini köprüleyerek lateral hendeklere yerleştirilir (10). Dekortike edilen alanlar da greftlenir.

4. Anterior füzyon: İki tip anterior füzyon mevcuttur. Bunlar çomak greftler ile vertebrektomi ve interbody füzyondur. Her iki tipte de başarılı füzyon için uygun greftleme yatağı oluşturma gereklidir (10).

5. İnterbody füzyon: Füzyon için gerekli yüzey alanını arttırarak füzyon olasılığını arttırmaktadır (11). Anterior lumbar interbody füzyon (ALIF) 1932 yılında tanımlanmış olup en uzun geçmişe sahip interbody füzyon yöntemidir (11). Damarsal yapılardan dolayı bu yöntemler sadece L4-L5 ve L5-S1 disk aralıkları uygulama için uygundur. Posterior lumbar interbody füzyon (PLIF) posterior yaklaşımla geniş laminektomi ve parsiyel bilateral fasetektomi sonrasında nöral elementler rekrakte edilip disk aralığına ulaşılmasıyla uygulanır (11). Bu tekniklerin yanında transforaminal lumbar interbody füzyon, lateral lumbar interbody füzyon, aksiyel lumbar interbody füzyon teknikleri de uygulanabilmektedir (11).

6. Minimal İnvazif füzyon: Endoskopik posterior, video yardımcı torakoskopik anterior ve laparoskopik anterior teknikler ile kemik morfojenik protein gibi greft genişleticiler ve özel kafesler kullanılarak ağrının, hastanede kalış süresinin ve iyileşme için gereken sürenin azaltıldığı yöntemlerdir (11). Ancak uzun bir öğrenme eğrisi vardır (11).

FÜZYON BİYOLOJİSİ

Omurga füzyonu cerrahi yöntemlerle iki vertebra cismi arasında elde edilen kemiksel kaynama yani omurga artrodezidir. İlk kez 1911 yılında tanımlanmış bir uygulamadır (4,5). Günümüzde omurga deformiteleri, omurga kırıkları, spondilolistezis, intervertebral disk hastalığı gibi bir çok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (10). Omurgada başarılı bir füzyonun sağlanması için greft materyalinin alıcıya başarılı bir biçimde entegre olması gerekmektedir. (10). Histolojik evrelemede birinci faz olan inflamatuvar faz yaklaşık 1-3 hafta sürer. Bu evrede dekortikasyondan kaynaklanan hematoma, inflamatuvar hücreler ile dolar ve bir fibrovasküler stroma oluşur (9). Dekortike yüzeylerden membranöz kemik oluşur ve BMP-6, BMP-4, alkalen fosfataz ve osteonektin miktarı artar (9). İkinci faz olan onarım fazı 5. haftaya kadar sürmektedir. Onarım fazında revaskülarizasyon artışı, ölü kemik rezorpsiyonu, osteoblastik ve kondroblastik hücrelerin farklılaşması olur (9). Komşu transvers çıkıntılardan başlayan ve iki alanı birleştiren encondral ossifikasyon gerçekleşir (9). Bu fazda osteokalsin ve osteopontin seviyeleri en yüksek seviyelerine ulaşır (9). BMP-6 miktarında ise ikinci kez artış olur. Bundan sonra remodelizasyon fazı başlar ve bu faz 6-10 haftaya kadar devam etmektedir. Remodelizasyon fazında trabeküler kemik genişler ve buradan periferik kortikal yapılanma gerçekleşir. Laboratuvar değerleri BMP-6 dışında eski değerlerine döner (9). Hücresel düzeyde, dekortike kemik yüzeylerden ve otogreftten (eğer uygulanmışsa) osteoprogenitör hücreler gelir. Bunu osteoklastlar tarafından kemik rezorpsiyonu ve osteoprogenitör hücrelerin osteoblast'a evrildiği osteoindüksiyon izler. Özellikle dekortikasyon alanlarındaki trabeküler yapımlarında yeni kemik matriks oluşumu gerçekleşir ve buradan etrafa yayılır (9). Oluşmuş yeni kemik, Wolff yasasına göre remodelize olur (9).

NÖROPATİK AĞRI VE PREGABALİN

Nöropatik ağrı, 2008 yılında Treede ve arkadaşları tarafından “somatosensöriyel sistemi etkileyen bir hastalık veya lezyon sonucu ortaya çıkan ağrı” olarak tanımlanmıştır (12). Bir ağrının nöropatik kökenli olup olmadığının anlaşılmasında 4 kriter sorgulanır (13):

1. Nöroanatomik olarak uygun dağılımı olan ağrı
2. Periferik veya santral somatosensöriyel sistemi etkileyen hastalık veya lezyonu düşündüren hikaye.

3. Nöroanatomik olarak uygun dağılımın, en az bir doğrulayıcı testle gösterilmesi
4. Nöropatik ağrı yapabilecek hastalık veya lezyonun en az bir doğrulayıcı testle gösterilmesi.

Nöropatik olarak uygun dağılım, periferik sinir sistemi innervasyon alanına veya vücudun bir parçasının santral sinir sistemindeki topografik reprezentasyonuna karşılık gelen bölge olarak tarif edilebilir. Nörolojik muayenenin bir parçası olan doğrulayıcı testler, şüphelenilen lezyon veya hastalığın tanısını doğrulayıcı, lezyona veya hastalığa yönelik testler olmalıdır. Dört kriterin tamamının karşılanması kesin nöropatik ağrı, ilk iki kriter ile beraber son iki kriterden bir tanesinin karşılanması olası nöropatik ağrı, sadece ilk 2 kriterin karşılanması ise mümkün nöropatik ağrı olarak tanımlanır (13). Nöropatik ağrının tipi yanıcı, saplamacı, elektrik-şok benzeri, bastırıcı, sıkıştırıcı, keskin, delici, derin, ağırlı soğuk biçimlerinde olabilir.

Nöropatik ağrı somatosensoriyal yolların herhangi bir noktasından kaynaklanabilir. Kabaca periferik ve santral olarak ikiye ayrılabilir. Periferik nöropatik ağrı nedenleri arasında diabetes mellitus, hipotiroidizm, üremi, alkolizm, vitamin eksiklikleri (B1, B6, B12), Herpes zoster, HIV enfeksiyonu, Hepatit B, Hepatit C, inflamatuvar demyelinizan hastalıklar, sistemik lupus eritematozus, tuzak nöropatiler, kompleks bölgesel ağrı sendromu, fantom ağrılar sayılabilir. Santral nöropatik ağrı nedenleri olarak spinal kord hasarı, siringomyeli, siringobulbi, radyasyon myelopatisi, travmatik beyin hasarı, multipl skleroz ve Parkinson hastalığı sayılabilir (13).

Nöropatik ağrılı hastanın değerlendirmesinde ağrının yeri, yayılımı, tipi, başlangıç tarihi, süresi, arttıran ve azaltan nedenler, kullandığı ilaçlar, mevcut hastalığı, travma, cerrahi, enfeksiyon öyküsü araştırılmalıdır (14). Hastanın ağrısının şiddetini değerlendirmede görsel analog skalası kullanılabilir. Ağrının nöropatik dağılıma uygun olması, öykünün periferik veya santral somatosensoriyal sistemi etkileyen bir hastalık ya da lezyon varlığını düşündürmesi, destekleyici muayene ve tanısal testlerin varlığı sorunun anlaşılmasında önemlidir. Ağrı uyandırmaması gereken bir uyaran (dokunma gibi) ile ağrı oluşuyorsa buna allodini adı verilir. Ağrı oluşturan bir uyaran olması gerekenden daha fazla ağrıya sebep oluyorsa buna hiperaljezi adı verilir. Allodini ve hiperaljezi nöropatik ağrı semptomu olarak görülebilir. Etkilenen sinir sisteminin nöropatik dağılımına uygun olacak biçimde derin tendon reflekslerinde artma veya azalma, patolojik refleks varlığı, güçsüzlük, otonomik bulgular görülebilir

Nöropatik ağrı değerlendirmesinde günlük pratikte kullanılacak testler bulunmaktadır. Bunlar arasında “Douleur Neuropathique 4 questions”, “PAIN DETECT”, “Neuropathic Pain Scale” sayılabilir (13). Bunların dışında yardımcı tanısal test olarak görüntüleme yöntemleri (Manyetik rezonans görüntüleme, bilgisayarlı tomografi vb), rutin elektrofizyolojik testler, kantitatif somatosensoryel testler, lazer uyarılmış potansiyeller, beyin-omurilik sıvısı incelemeleri, tanısal sinir blokları uygulanabilir (13).

Nöropatik ağrıda ilk tedavi seçeneği medikal tedavidir (13). Klasik analjezikler yetersizdir, ilk sırada antikonvülsanlar (pregabalin, gabapentin), antidepressanlar (trisiklik antidepressanlar, serotonin noradrenalin reuptake inhibitörleri), ikinci sırada tramadol ve opioidler, topikal ajanlar bulunur (13). Medikal tedaviye cevap vermeyen ya da medikal tedaviyi tolere edemeyen hastalarda girişimsel teknikler tercih edilebilir. Bu yöntemler arasında epidural steroid enjeksiyonu, selektif sinir kökü blokları, RFL (radiofrequency lesioning) ile faset denervasyonu, sempatik sinir blokları sayılabilir (13).

Radiküler ağrı sinir kökündeki herhangi bir hasar ya da bası nedeniyle o sinirin dermatomu boyunca yayılan ağrıdır. Bu ağrının hem nöropatik hem nosiseptif komponenti bulunmaktadır yani mikst tip bir ağrıdır (15). Buradaki nöropatik ağrının nedenleri dejenere diskteki inflamatuvar mediatörlerin etkisidir (13).

Spinal kordun hasarına bağlı nöropatik ağrı gelişebilmektedir. Bu ağrı omurilikteki hasarın seviyesine göre sınıflandırılır. Bu ağrıdan yakınan hastalarda ağrının azaltılması, hastalar için yürümenin kazanılmasından daha önemli olarak belirtilmektedir (16). Spinal kord hasarı sonrası görülen nöropatik ağrı için tedavide antidepressanlar, antikonvülsanlar, baklofen, non-opioid ve opioid analjezikler, alfa-adrenerjik agonistler ve ketamin gibi çok sayıda farmakolojik ajan seçenek olarak önerilmiş ancak etkinlik tatmin edici olmamıştır (17). Avrupa Nöroloji Dernekleri Federasyonu'nun (European Federation of Neurological Societies, EFNS) 2010 yılında yayınladığı nöropatik ağrı tedavi rehberi güncellemesinde spinal kord hasarına bağlı nöropatik ağrı tedavisinde pregabalin ve kannabinoid tedavisi kanıt düzeyi A olarak bildirilmiştir (18). A düzeyi değer en az bir inandırıcı 1. sınıf çalışma veya en az iki tutarlı, inandırıcı 2. sınıf çalışma sonucu ortaya çıkan hüküm olarak açıklanabilir (13).

Cerrahi tedavi ile yapısal sorunların giderilmesiyle ağrının azaltılması hedeflenir. Travmadan hemen sonra yapılacak bir girişim ile stabilizasyon sağlanırsa sıkışan köklerdeki

bası kaldırılabilir ve ağrı giderilebilir (13). Kordotomi ve kordomiyelotomi de uygulanmış yöntemlerdir (19).

Pregabalin, ((S)-3-(aminomethyl)-5-methylhexanoic acid) bir 3- isobutil gamma amino butirik asit analogudur. Voltaj kapılı kalsiyum kanallarının alfa-2-delta subunitini modüle ederek etki gösterir (20). Antikonvülzan ve analjezik etkileri iyi bilinmektedir. Postherpetik nöralji ve diabetik nöropati tedavisinde FDA (Food and Drug Administration) onay almış ilk ilaçtır (21). Preklinik ve klinik çalışmalar nöropatik ağrıyı yönetmedeki etkisini göstermiş ve hayvan çalışmaları da anti-hiperaljezik ve anti-allodinik etki mekanizmalarını anlamamızı sağlamıştır. Klinik çalışmalar, ağrı ve ilişkili rahatsızlıkları gidermede tek başına ya da diğer analjeziklerle kombinasyon tedavisinde etkinliğini ve doz bağımlı etkisini göstermiştir (22,23). En önemli avantajları kolay kullanımı, göreceli olarak güvenirliliği ve yüksek toleransıdır (24).

Yapılan klinik çalışmalarda pregabalin kullanımından sonra yan etki olarak baş dönmesi, somnolans, baş ağrısı, ağız kuruluğu, periferik ödem, kilo alma, görmede bulanıklaşma ve ataksi sık olarak görülmüştür (25). Dozun artmasıyla yan etkilerin görülme sıklığı artmaktadır. Özellikle baş dönmesi, görmede bulanıklaşma ve baş ağrısı yan etkilerinde artış gözlemlenmiştir. Bu yüzden yan etkilerin dikkatli gözlemlenmesi önemlidir (26). Bununla birlikte, muhtemelen yüksek etki gücünden dolayı klinik çalışmalarda yan etkilere bağlı olarak hastanın çalışmadan çıkarılması önemsiz derecededir (27).

Pregabalinin primer etki mekanizmasını çeşitli kalsiyum kanallarını bloke ederek gösterir (25). Beyin ve beyincikte yüksek miktarda bulunan P, Q ve N tipi kalsiyum kanallarını inhibe etmesi, primer etkinin yanında yan etkilere de sebep vermektedir (28). Bu yan etkiler arasında baş dönmesi , görme bulanıklığı, ataksi ve kognitif bozukluklar sayılabilir(29,30,31). Miyokarda bulunan L tipi kalsiyum kanallarını da etkileyerek konjestif kalp yetmezliğine sebep olabileceği literatürde bildirilmiştir (32,33). Pregabalin aynı zamanda glial hücrelerin ve nöronların plazma membranında bulunan eksituar amino asit taşıyıcılarının (EATT) sitozolden plazma membranına kaçışını sağladığı ve böylece eksituar nörotransmitterlerin (glutamat) fonksiyonunu azalttığı bilinmektedir (25). Pregabalin K_{ATP} dahil olmak üzere çeşitli potasyum kanallarını modüle ederek başka bir analjezik etkili yol daha kullanır (25). K_{ATP} kanallarının açılmasının nöronal eksitabiliteyi azaltarak ve spinal kordda substans P dahil çeşitli nörotransmitterlerin salınımını inhibe ederek antinöroseptif etkiler ürettiği bilinmektedir (34).

Pregabalin yapısal olarak Gamma amino butirik asit (GABA)' e benzese de GABA reseptörlerine direk affinite göstermemektedir (35). Pregabalin farmakolojik etkilerini GABA reseptörleri üzerinden göstermemektedir (25).

Pregabalin , inflamasyonla indüklenmiş spinal kord sensitizasyonunda substans P ve CGRP salınımı modüle etmektedir (36). Lipid peroksidasyonunu, mikroglial hücreleri inhibe eder ve özellikle oligodendrositlerdeki selüler apoptozu söndürerek antiinflammatuar etki üzerinden nöroprotektif etkisini gösterir (37). Pregabalin p65 nükleer lokalizasyonunu inhibe ederek glial hücrelerden ve nöronlardan substans P ve NF-kB aktivasyonunu indükleyen diğer inflammatuar nöropeptidleri suprese eder. Hatta pregabalin NF-kB regule gen ürünlerini ve COX-2 ekspresyonunu suprese eder (38) . Pregabalin'in proinflamatur sitokinlerin salınımını inhibe ederek antinosiseptif etki gösterdiği bilinmektedir (25).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

ETİK KURUL ONAYI

Bu deneysel çalışmada vertebra füzyonu yapılan sıçanlarda düşük, orta ve yüksek dozlarda pregabalin verilmesinin füzyon üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla 32 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları ve Araştırma laboratuvarından temin edildi. Proje için 28.03.2016 tarihinde 2016/04 sayılı oturumda 2016.04.03 karar numarasıyla Ek-1’de yer alan etik kurul onayı alındı.

ÇALIŞMA TASARIMI

Deney Hayvanları

Çalışma için Sprague-Dawley cinsi 11-13 haftalık ve erkek cinsiyetteki sıçanlar seçildi. Sıçanların ağırlıkları tartıldı. Tüm sıçanların ağırlığı 200-250 gr arasındaydı. Pregabalinin vertebra füzyonu üzerine olan etkisi bilinmediğinden çalışmadaki her grup için 8 sıçan (4 grup, toplam 32 sıçan) seçildi. İşlemler sırasında gelişebilecek komplikasyonlardan dolayı her grup için 2 yedek sıçan (4 grup, toplam 8 yedek sıçan) alındı. 12 saatlik aydınlık ve karanlık siklusunun olduğu ve ısısının 19–20 C° arasında tutulduğu bu odada sıçanlar dörderli gruplar şeklinde kafeslere kondu. 3 günde bir kafes temizliği yapıldı ve su ile yemleri günlük olarak tazelandı. Çalışmada sıçanlara herhangi bir diyet kısıtlaması uygulanmadı. Beslenme kuru pellet yem ve su ile yapıldı. Tüm sıçanlar normal oda sıcaklığında muhafaza edildi. Tüm deneysel çalışmalar Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları ve Araştırma Labora-

tuvarında yürütüldü. Deney sonrası histopatolojik incelemeler, radyolojik incelemeler ve istatistiksel değerlendirmeler Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Radyoloji Anabilim Dalı ve Tıbbi Biyoistatistik Anabilim Dalı işbirliğiyle yapıldı.

Deney Grupları

Sıçanlar 4 gruba ayrıldı (Tablo 1). Daha önce yapılmış çalışmalarda ratlara uygulanan etkin pregabalin dozları ve toksisite çalışmaları göz önünde bulundurularak etkin dozlar belirlendi ve düşük, orta ve yüksek dozları değerlendirebilmek için 10mg, 30mg ve 100 mg dozları uygun görüldü (39,40,41). Gruplar: Kontrol grubu: intertransvers füzyon kontrol grubu (postoperatif dönemde pregabalin verilmeyen grup); D10 grubu: İntertransvers füzyon işlemi ve 42 gün boyunca oral 10 mg/kg pregabalin uygulanan grup; D30 grubu : İntertransvers füzyon işlemi ve 42 gün boyunca oral 30 mg/kg pregabalin uygulanan grup; D100 grubu: İntertransvers füzyon işlemi ve 42 gün boyunca oral 100 mg/kg pregabalin uygulanan grup olarak belirlendi.

Tablo 1. Grupların dağılımı

Gruplar	İntertransvers füzyon	Pregabalin(mg/kg)	Sıçan sayısı
Kontrol	(+)	(-)	8
D10	(+)	(10 mg/kg)	8
D30	(+)	(30 mg/kg)	8
D100	(+)	(100 mg/kg)	8
Toplam			32

Cerrahi İşlem

Deneyin ilk günü sıçanlara anestezi altında L4-L5 intertransvers vertebra füzyonu uygulandı. Cerrahi ve anestezi uygulamalarının tamamında bir uzman veteriner hekim eşlik etti. Cerrahi teknik olarak daha önce uygulanmış bir yöntem kullanıldı (42). Anestezi 10 mg/kg xylazin hidroklorid (Rompun®; Bayer Healthcare, Leverkusen, Almanya) ve 50 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalor®; Pfizer, İstanbul, Türkiye) intramuskuler yolla verilerek sağlandı.

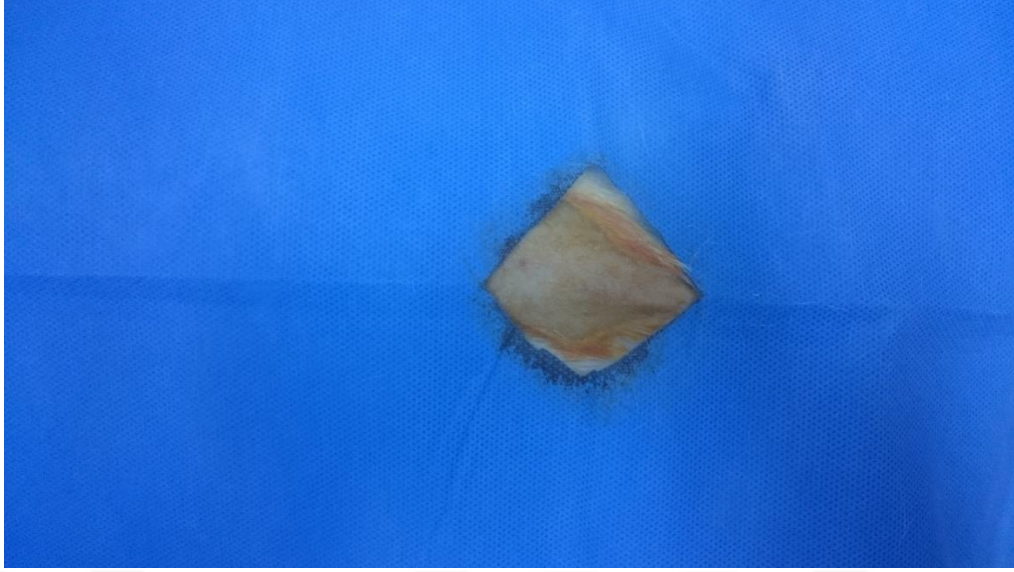
Preoperatif antibiyotik profilaksisi olarak 10 mg/kg Sefazolin Na (Sefazol®, Mustafa Nevzat İlaç San.-Türkiye) intramuskuler uygulandı. Yeterli anestezi verilen sıçan lomber orta hat üzerindeki tüyler traş makinesi ile tıraş edildikten sonra (Şekil 1) mavi örtü üzerine yüzüstü yatırıldı (Şekil 2). % 10 povidone iodine (Poviofix®, Naturel Medikal-Türkiye) solüsyonu ile antisepsi sağlanarak, lomber orta hat steril sahada kalacak şekilde örtüldü (Şekil 3).



Şekil 1. Ameliyat için sıçanın traş edilmesi



Şekil 2. Ratların ameliyat için hazırlanarak yatırılması



Şekil 3. Ratların steril boyanıp örtülmesi

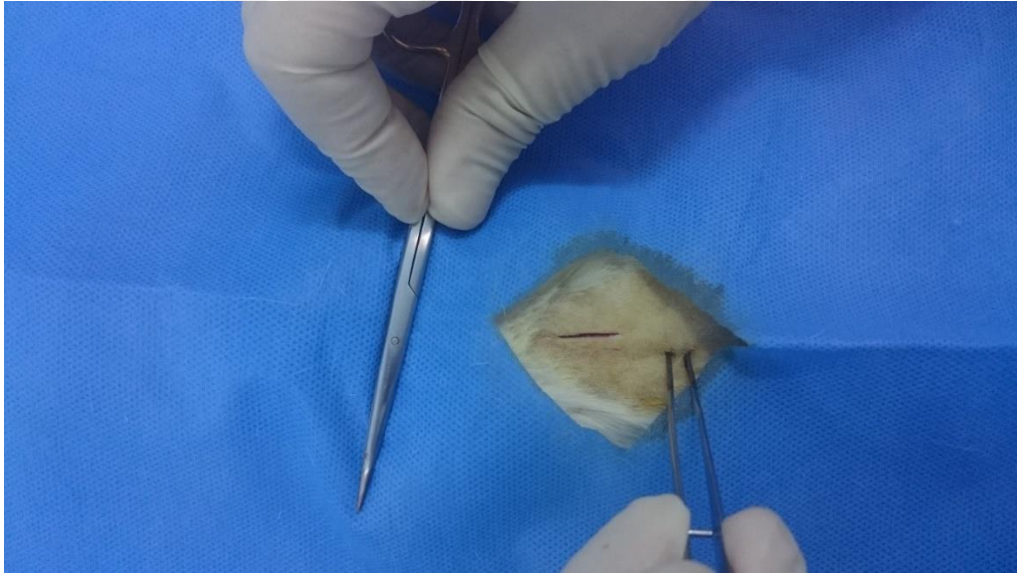
Prosedür 3.2x büyütmeye sahip loupe (EyeMag® Pro S; Zeiss, Rosenheim, Almanya) ile uygulandı (Şekil 4). Gerekli operasyon malzemeleri steril olarak hazırlandı (Şekil 5). Yaklaşık 15 mm insizyonla posterior orta hatın kaudalinden cilt açıldı (Şekil 6) ve otomatik ekartör ile ekarte edildi (Resim 7). Spinöz procesler palpe edildi. Orta hattın 3 mm lateralde dorsolumbar fasya iki ayrı insizyonla açıldı.



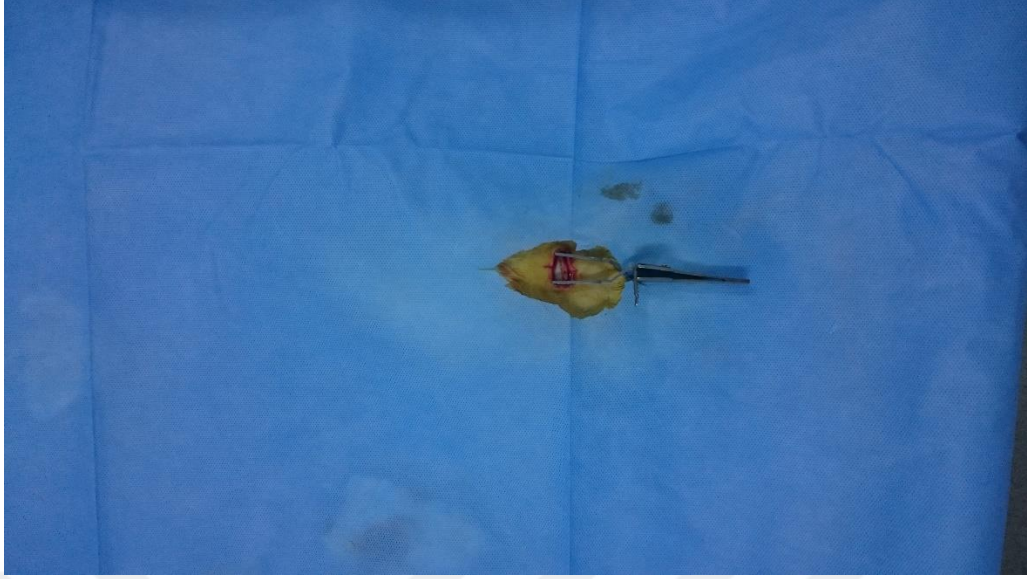
Şekil 4. 3.2x büyütmeye sahip loupe (EyeMag® Pro S; Zeiss)



Şekil 5. Operasyon malzemelerinin steril olarak hazırlanması

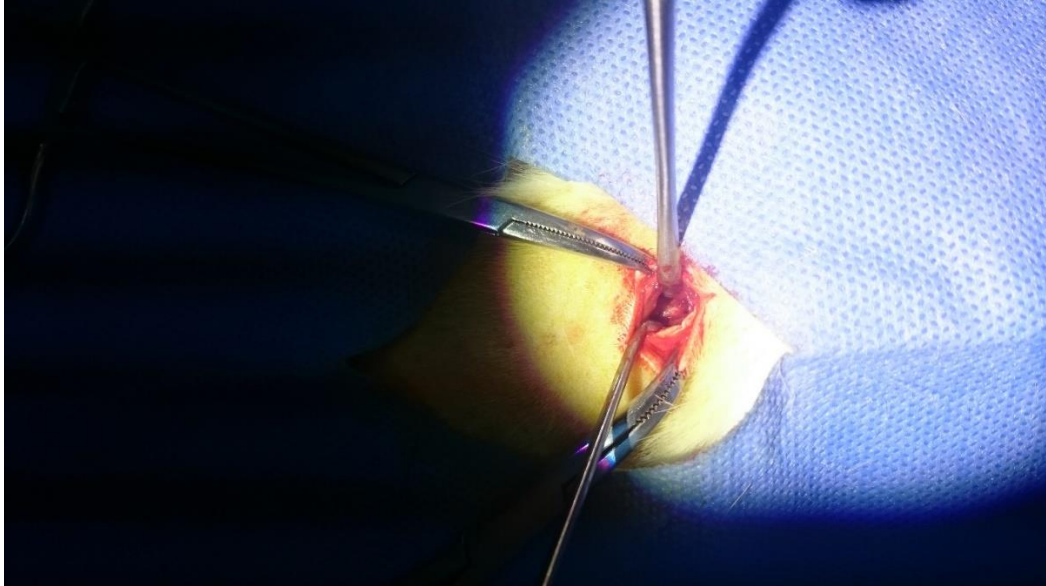


Şekil 6. Lomber orta hat kaudalinde cilt insizyonu yapılması



Şekil 7. Cildin otomatik ekartör ile açılması

Muskular yapılar künt disseksiyonla sıyrıldı (Şekil 8). L4 ve L5 vertebralara ulaşıldı. Ardından yüksek hızlı burr motoru ile intertransvers bölgeler dekortike edildi (Şekil 9). Dekortikasyon işlemi noktasal kanama odakları görülünceye kadar sürdürüldü.

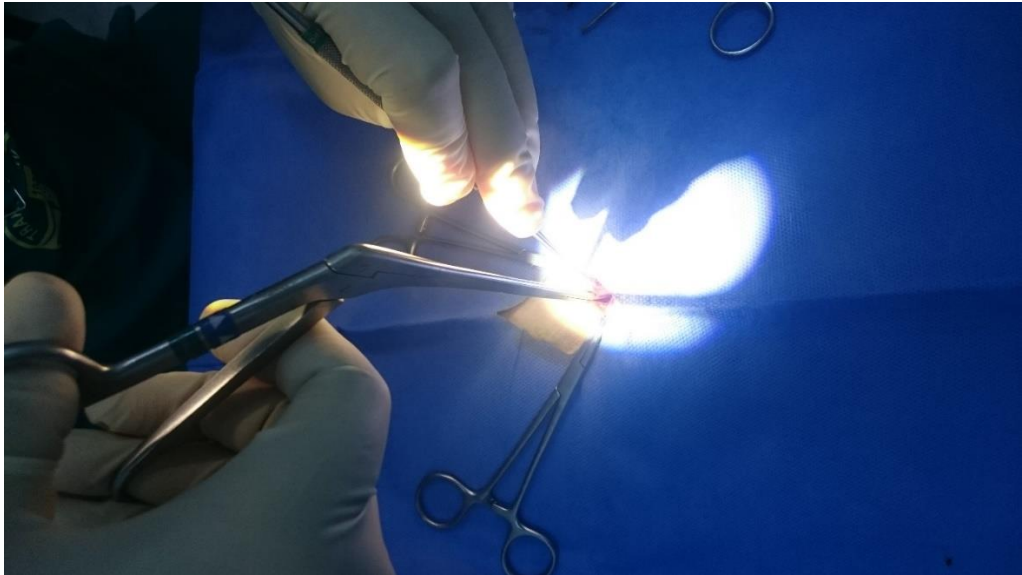


Şekil 8. Muskuler yapıların rujin ile sıyrılması



Şekil 9. Burr motoru ile intertransvers bölgenin dekortike edilmesi

Her iki tarafta dekortikasyon işlemi tamamlandıktan sonra iliak kanattan otogreft alınarak füzyon alanına yerleştirildi (Şekil 10). İşlem bittikten sonra fasya emilebilir suture materyali ile (4-0 Vicryl®,Ethicon; New Jersey,USA) kontinü dikilerek kapatıldı. Cilt aynı tarzda dikildi ve kapatıldı (Şekil 11). % 10 povidone iodine (Poviofix, Naturel Medikal-Türkiye) solüsyonu ile pansuman yapıldı ve yara açık bırakıldı (Şekil 12).



Şekil 10. Disk rongeur ile iliak krestten otogreft alınması



Şekil 11. Cildin kapatılması



Şekil 12. Cilde % 10 povidone iodine solüsyonu ile pansuman yapılması

Cerrahi Sonrası Dönem

Cerrahi işlem sonrasında ratlar anesteziden uyanıp aktif hareketli hâle gelene kadar hipotermiden korunmaları amacıyla vücut ısıları ısıtıcılarla kontrol altında tutuldu. Sonrasında cerrahi öncesi bakım şartlarına devam edildi. Ratların kafes içerisindeki hareketlerine izin verildi. Aynı gün sıçanların içme suyuna 300 mg/kg olacak şekilde parasetamol konularak

postop analjezi sağlandı. Sıçanların iyileşme süreci günlük olarak gözlendi. Postoperatif dönemde hiçbir sıçanda komplikasyon gözlenmedi. 32 rat her birinde 8 rat olacak şekilde 4 gruba ayrılarak 4'lü olarak 8 kafeste takip edildi. Gruplar Kontrol, D10, D30, D100 olarak adlandırıldı. Kontrol grubundaki sıçanlara işlem sonrası pregabalin ilacı verilmeden 6 hafta boyunca takip edildi. D10 grubundaki sıçanların içme suyuna postoperatif 1. günden itibaren 6 hafta boyunca günlük ihtiyaçlarına göre ayarlanarak her sıçana 10 mg/kg olacak şekilde pregabalin katıldı. D30 grubundaki sıçanların içme suyuna postoperatif 1. günden itibaren 6 hafta boyunca günlük ihtiyaçlarına göre ayarlanarak her sıçana 30 mg/kg olacak şekilde pregabalin katıldı. D100 grubundaki sıçanların içme suyuna postoperatif 1. günden itibaren 6 hafta boyunca günlük ihtiyaçlarına göre ayarlanarak her sıçana 100 mg/kg olacak şekilde pregabalin katıldı. Altı hafta tamamlanınca tüm sıçanlar sedasyon altında röntgen çekilmesi işlemini takiben yüksek doz ketamin verilerek sakrifiye edildi. Tüm sıçanların lomber omurgası kasüler yapılarından sıyrılıp çıkarılarak manuel palpasyon yöntemi ile değerlendirme ve ardından histolojik değerlendirme için ayrıldı.

DEĞERLENDİRMELERİN YAPILMASI

Radyolojik inceleme

Radyolojik görüntülemeler Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı bünyesinde bulunan dijital mammografi cihazı (Lorad Selenia Digital mammography unit; Hologic, Massachusetts, USA) kullanılarak genel anestezi altında gerçekleştirildi. Görüntülemeler TÜTF Radyoloji ABD' de görevli, daha önceden deney hayvanlarında radyolojik görüntüleme işlemlerinde tecrübesi olan bir radyoloji teknisyeniyle birlikte yapıldı. Anestezi ve vital fonksiyonlarının takibine uzman veteriner hekim eşlik etti. Tüm sıçanlara 10 mg/kg xylazin hidroklorid (Rompun®; Bayer Healthcare, Leverkusen, Almanya) ve 50 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar®; Pfizer, İstanbul, Türkiye) intramuskuler yolla verilerek anestezi sağlandıktan sonra lomber ön arka ve yan radyografiler çekildi. Skorumlama sistemi olarak daha önceden kullanılmış bir yöntem (Tablo 2) uygulandı (2). Skorumlamalar 3 araştırmacı (1 Radyoloji uzmanı, 1 Ortopedi ve Travmatoloji uzmanı, 1 Ortopedi ve Travmatoloji Araştırma görevlisi) tarafından birbirinden bağımsız olarak dijital ortamda (PACS) yapıldı. Araştırmacıların skorlarının ortalamaları alındı. Ortalama 2.5 ve üzeri skorlar füzyon varlığı olarak kabul edildi.

Tablo 2. Radyografik skorlama (2)

Skor	Kriterler
0	Kemik kitlesi yok
1	Sadece tek tarafta kemik kitlesi
2	Bilateral radyolusen kemik kitlesi
3	Tek tarafta radyolusen olan bilateral kemik kitlesi
4	Radyolusen olmayan bilateral intertransvers kemik kitlesi

Manuel Palpasyon

Tüm sıçanlar sakrifiye edildikten sonra lomber vertebra çevre kas dokusundan sıyrılarak proksimal ve distalinden kesilip enblok olarak çıkarıldı. Değerlendirmede daha önce kullanılmış bir yöntem uygulandı (40). Skorlama (Tablo 3) 3 bağımsız araştırmacı tarafından yapıldı (1 ortopedi ve travmatoloji uzmanı, 2 araştırma görevlisi). Çıkarılan lomber vertebra dokusu elle nazıkçe fleksiyon, ekstansiyon ve lateral fleksiyon hareketleri yapılacak biçimde muayene edildi. En ufak hareket varlığında füzyon yok (skor 0) olarak kabul edildi. Hiç hareket olmaması füzyon varlığı (skor 1) olarak yorumlandı (43). Araştırmacıların skorlarının ortalamaları alındı. Ortalama 0.5 puan ve üstü füzyon varlığı olarak kabul edildi.

Tablo 3. Manuel palpasyon skorlaması (43)

Skor	Kriterler
0	Füzyon yok
1	Füzyon var

Histopatolojik İnceleme

Çalışma sonunda alınan doku örneklerinin histopatolojik inceleme için hazırlanması ve değerlendirilmesi Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Histolojik incelemede literatürde daha önce yapılmış inceleme biçimleri esas alındı (44,45,46). Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra lomber vertebra segmenti cerrahi olarak ayrıldı ve manuel

palpasyon ile değerlendirme yapıldıktan sonra % 10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde 24 saat fikse edildi. Sonrasında % 10'luk nitrik asit çözeltisi içerisinde 48 saat bekletilerek dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon sonrası, koronal planda uygun kesitler alınarak piyesin tamamı örneklendi. Rutin histopatolojik takip basamakları uygulandıktan sonra dokulardan parafin bloklar hazırlandı. Sonrasında hematoksilin ve eozin ile boyandı. Histopatolojik olarak inflamatuvar hücre yoğunluğu, fibroblast yoğunluğu, neovaskülarizasyon ve yeni kemik oluşumu değerlendirildi. Hücre sayımı 3 farklı kesitte, 3 farklı alanda X400 büyütme alanında değerlendirildi. Fibroblastlar 3 farklı kesitte, 3 farklı alanda X400 büyütme alanında sayıldı ve ortalama değeri hesaplanarak kullanıldı. Benzer biçimde inflamatuvar hücreler (polimorfonükleer hücreler, lenfositler, monositler) X400 büyütme altında sayıldı ve ortalama değer hesaplanarak kullanıldı. Neovaskülarizasyon ve yeni kemik oluşumu için daha önce kullanılmış bir yöntem kullanıldı (41). Yeni kemik oluşumu için kullanılan skorlamada 0: yeni kemik oluşumu yok 1: Minimal kemik oluşumu 2: Orta derecede kemik oluşumu 3: Maksimum kemik oluşumu olarak değerlendirildi. Neovaskülarizasyon için kullanılan skorlamada 0: Neovaskülarizasyon yok 1: Minimal neovaskülarizasyon 2: Orta derecede neovaskülarizasyon 3: Maksimum neovaskülarizasyon olarak değerlendirildi.

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ve sayı (%) olarak gösterildi. 3 farklı araştırmacı arasında radyolojik ve manuel palpasyon skorlamaları arasındaki uyumu belirlemede sınıfıçı korelasyon katsayısı (Intraclass correlation coefficient) kullanıldı. Niceliksel verilerin normal dağılıma uygunluğu Tek Örneklem Kolmogorov Smirnov test ile incelendi. Gruplarının niceliksel değerlerinin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı. Gruplar arasında kategorik verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı. İstatistiksel analizler T.Ü. Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalında SPSS 20.0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Tüm sıçanlar operasyon sonrası sağ kaldı. Hiçbir sıçanda ilaç ile ilişkili komplikasyon görülmedi. Hiç bir sıçanda nörolojik yaralanma olmadı. 6 hafta sonunda tüm sıçanlar radyolojik değerlendirmenin ardından sakrifiye edildi ve histolojik inceleme için gerekli dokular çıkarıldı. Manuel palpasyon, radyolojik değerlendirme ve histolojik değerlendirme sonuçları istatistiksel olarak analiz edildi ve elde edilen değerler incelendi. Çalışmanın gücü, grupların radyoloji skoru ortalamaları baz alınarak post hoc power analizi yöntemi ile %5 yanılma payı dikkate alınarak %86 olarak hesaplandı.

MANUEL PALPASYON BULGULARI

Manuel palpasyon değerlendirmesi 3 araştırmacı tarafından yapıldı, ortalama skorlar hesaplandı ve tablo haline getirildi (Tablo 4,-8). Gözlemcilerarası uyum araştırıldı. Ortalama 1 puan ve üzeri füzyon kabul edildi (Tablo 7,8). Manuel palpasyon skorlarının gruplara göre dağılımı ve manuel palpasyon skor ortalamalarına göre füzyon varlığı grafik olarak gösterildi (şekil 13, 14).

Tablo 4. Birinci araştırmacının manuel palpasyon skorları

n	Kontrol	D10	D30	D100
1	0	0	0	1
2	1	1	1	0
3	1	1	0	0
4	0	1	0	0
5	1	1	1	0
6	0	1	0	0
7	0	0	0	0
8	0	1	1	0

Tablo 5. İkinci araştırmacının manuel palpasyon skorları

n	Kontrol	D10	D30	D100
1	0	0	0	0
2	1	1	0	0
3	1	0	0	0
4	1	1	0	0
5	1	0	1	0
6	0	1	0	0
7	0	0	0	0
8	0	0	0	0

Tablo 6. Üçüncü araştırmacının manuel palpasyon skorları

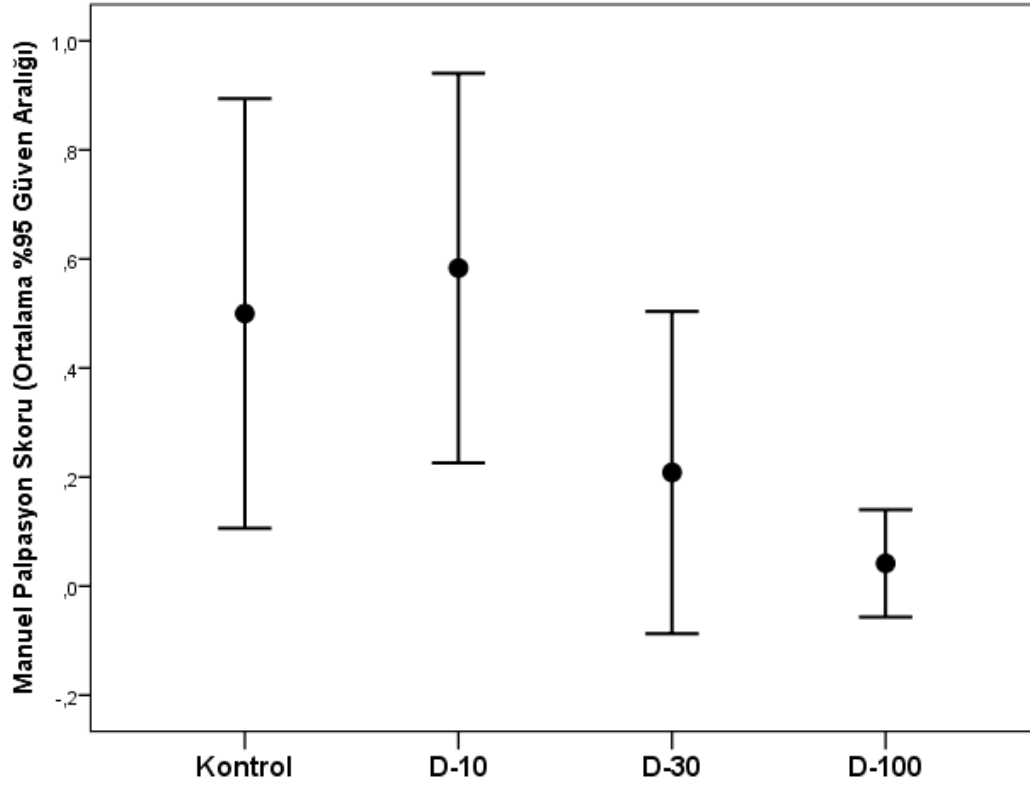
n	Kontrol	D10	D30	D100
1	1	0	0	0
2	1	1	0	0
3	1	1	0	0
4	1	1	0	0
5	1	1	1	0
6	0	1	0	0
7	0	0	0	0
8	0	0	0	0

Tablo 7. Üç araştırmacının manuel palpasyon skorlamalarının ortalamaları

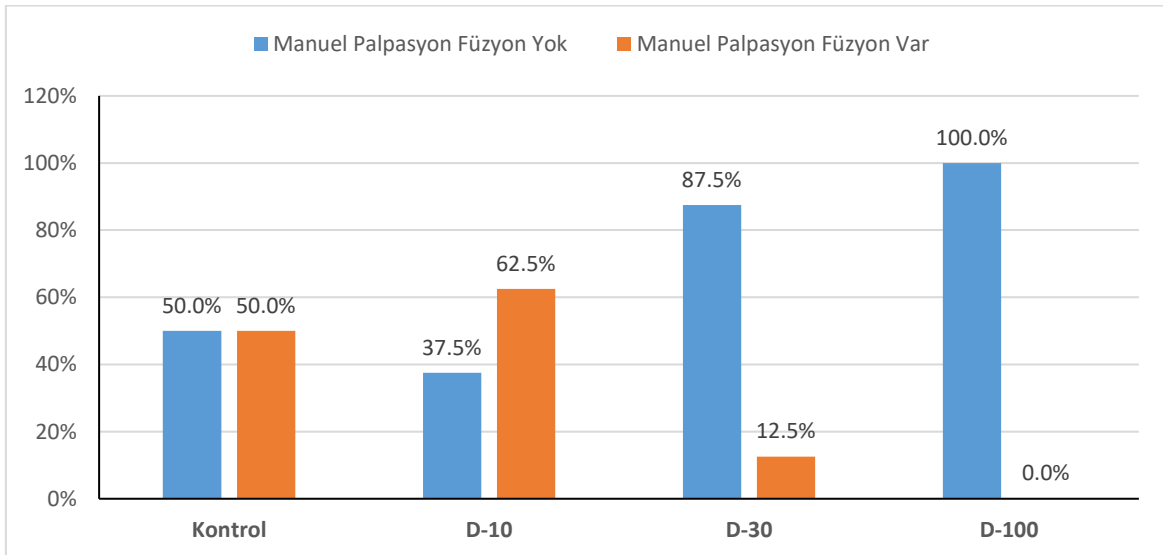
n	Kontrol	D10	D30	D100
1	0,33	0	0	0,33
2	1	1	0,33	0
3	1	0,67	0	0
4	0,67	1	0	0
5	1	0,67	1	0
6	0	1	0	0
7	0	0	0	0
8	0	0,33	0,33	0

Tablo 8. Manuel palpasyon skor ortalamalarına göre füzyon varlığı(0:yok,1:var)

n	Kontrol	D10	D30	D100
1	0	0	0	0
2	1	1	0	0
3	1	1	0	0
4	1	1	0	0
5	1	1	1	0
6	0	1	0	0
7	0	0	0	0
8	0	0	0	0



Şekil 13. Manuel palpasyon skorunun gruplara göre grafiksel gösterimi (Ortalama %95 güven aralığı)



Şekil 14. Manuel Palpasyonla Füzyon varlığının gruplara göre dağılımının grafiksel gösterimi

Gruplar arasında manuel palpasyon skor ortalamalarının karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak Tablo 9’da gösterildi.

Tablo 9: Manuel palpasyon bulgularının istatistiksel analizi

	Kontrol (n=8)	D10 (n=8)	D30 (n=8)	D100 (n=8)	p
Manuel palpasyon ortalama skor	0.50 \pm 0.47	0.58 \pm 0.43	0.21 \pm 0.35	0.04 \pm 0.12	0.035
Füzyon oranı	4/8 (%50)	5/8(%62.5)	1/8(%12.5)	0/8(%0)	0.020

Manuel palpasyon skorlamasında gözlemciler arası uyum yüksek bulundu (ICC=0.846 ; $p<0.001$). Manuel palpasyon skorlamasında ortalama 0.5 puan ve üstü sonuçlar füzyon olmuş kabul edildi. Manuel palpasyon sonuçlarıyla füzyon oranları kontrol grubunda % 50 (4/8) , D10 grubunda %62.5 (5/8), D30 grubunda % 12.5 (1/8), D100 grubunda % 0 (0/8) bulundu. 4 grubun manuel palpasyon skorları arasında anlamlı fark olduğu bulundu ($p=0.035$). Manuel palpasyon skoru ortalama değeri kontrol grubunda 0.500 ± 0.471 (minimum 0, maksimum 1) , D10 grubunda 0.583 ± 0.427 (minimum 0, maksimum 1) , D30 grubunda 0.208 ± 0.353 (minimum 0, maksimum 1) ,D100 grubunda 0.042 ± 0.117 (minimum 0, maksimum 0.33) bulundu. Gruplar arasında manuel palpasyon skorları incelendiğinde istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu($p=0.035$). Kontrol ve D10 grupları arasında manuel palpasyon skorlarında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı ($p=0.741$). Kontrol ve D30 grupları arasında manuel palpasyon skorlarında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı ($p=0.212$). Kontrol ve D100 grupları arasında manuel palpasyon skorlarında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu ($p=0.029$).Kontrol grubunun manuel palpasyon skorları, D100 grubunun skorlarına göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulundu. D10 ve D30 grubunun manuel palpasyon skorları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı ($p=0.085$). D10 ve D100 grupları arasında manuel palpasyon skorlarında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu ($p=0.009$). D10 grubunun manuel palpasyon skorları, D100 grubunun skorlarına göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulundu. D30 ve D100 grubunun manuel palpasyon skorları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı ($p=0.239$). Gruplar arasında manuel palpasyon skor

ortalamalarına göre füzyon açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.020$). Kontrol grubunda manuel palpasyonla füzyon oranı; D10 ($p=1.000$), D30 ($p=0.282$) ve D100 ($p=0.077$) gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiyordu. D10 grubunda manuel palpasyonla füzyon oranı D30 ($p=0.119$) grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı farklılık göstermiyordu ancak D100 grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık mevcuttu ($p=0.026$). D10 grubunda manuel palpasyonla füzyon oranı D100 grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulundu.

RADYOLOJİK BULGULAR

Radyolojik değerlendirme 3 araştırmacı tarafından yapıldı, ortalama skorlar hesaplandı ve tablo haline getirildi (Tablo 10-13). Gözlemcilerarası uyum araştırıldı. Ortalama 2.5 puan ve üzeri füzyon kabul edildi (Tablo 13,14). Radyolojik değerlendirme skorlarının gruplara göre dağılımı ve radyolojik değerlendirme skor ortalamalarına göre füzyon varlığı grafik olarak gösterildi (Şekil 15,16).

Tablo 10. Birinci araştırmacının radyolojik değerlendirme sonuçları

N	Kontrol	D10	D30	D100
1	3	2	1	0
2	3	3	0	1
3	3	2	3	3
4	4	3	1	4
5	2	2	0	0
6	1	4	0	0
7	1	0	1	0
8	1	2	1	0

Tablo 11. İkinci araştırmacının radyolojik değerlendirme sonuçları

n	Kontrol	D10	D30	D100
1	3	3	1	0
2	3	3	0	1
3	3	2	3	3
4	4	3	1	4
5	2	1	0	0
6	1	4	0	0
7	1	0	1	0
8	1	2	1	0

Tablo 12. Üçüncü araştırmacının radyolojik değerlendirme sonuçları

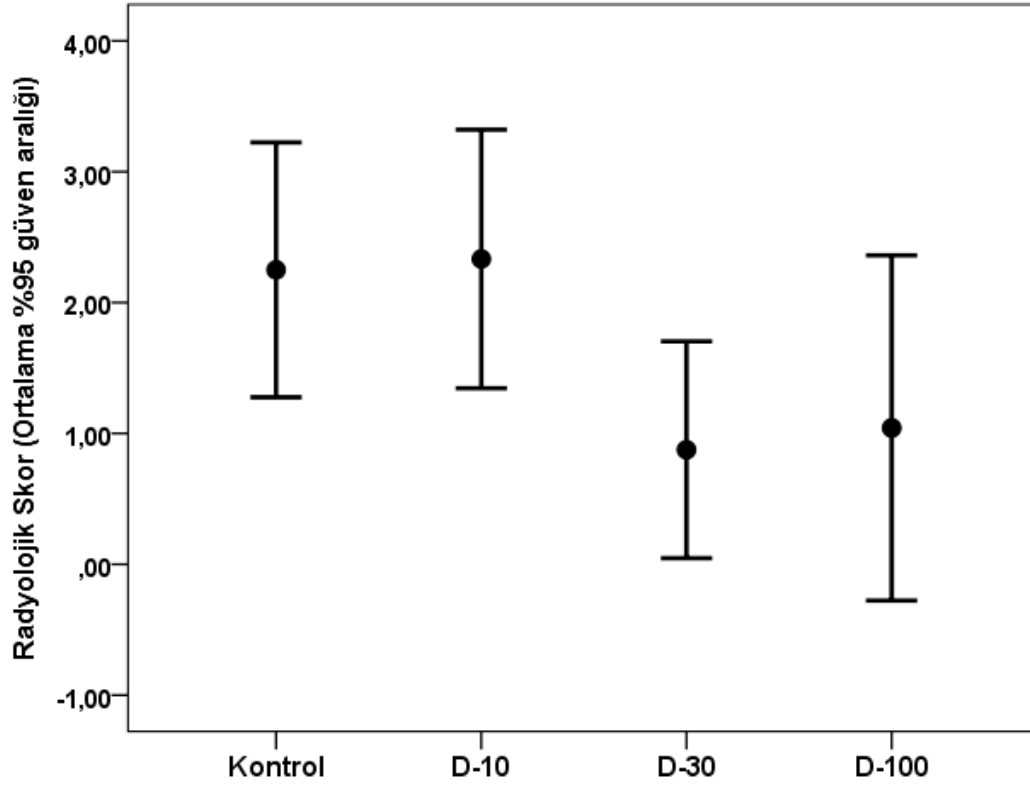
n	Kontrol	D10	D30	D100
1	3	3	1	1
2	3	3	0	1
3	3	3	3	3
4	4	3	1	4
5	2	2	0	0
6	1	4	0	0
7	1	0	1	0
8	1	2	1	0

Tablo 13. Üç araştırmacının radyolojik değerlendirme skorlamalarının ortalamaları.

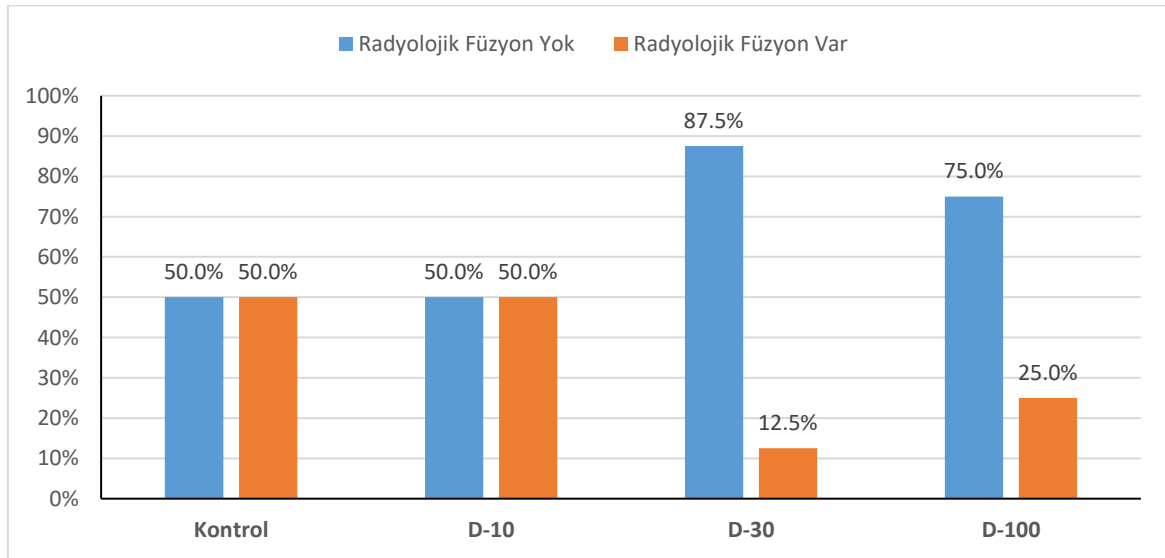
n	Kontrol	D10	D30	D100
1	3,00	2,67	1,00	0,33
2	3,00	3,00	0,00	1,00
3	3,00	2,33	3,00	3,00
4	4,00	3,00	1,00	4,00
5	2,00	1,67	0,00	0,00
6	1,00	4,00	0,00	0,00
7	1,00	0,00	1,00	0,00
8	1,00	2,00	1,00	0,00

Tablo 14. Radyolojik değerlendirme ortalama skorlarına göre füzyon varlığı(0:yok,1:var)

n	Kontrol	D10	D30	D100
1	1	1	0	0
2	1	1	0	0
3	1	0	1	1
4	1	1	0	1
5	0	0	0	0
6	0	1	0	0
7	0	0	0	0
8	0	0	0	0



Şekil 15. Radyoloji skorunun gruplara göre grafiksel gösterimi (Ortalamanı %95 güven aralığı)



Şekil 16. Radyolojik Füzyon varlığının gruplara göre dağılımının grafiksel gösterim

Gruplar arasında radyolojik değerlendirme ortalama skorlarının karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak Tablo 15’de gösterildi.

Tablo 15. Radyolojik bulguların istatistiksel analizi

	Kontrol (n=8)	D10 (n=8)	D30 (n=8)	D100 (n=8)	p
Radyolojik ortalama skor	2.25 \pm 1.16	2.33 \pm 1.18	0.88 \pm 0.99	1.04 \pm 1.58	0.048
Füzyon oranı	4/8(%50)	4/8(%50)	1/8(%12.5)	2/8(%25)	0.291



Şekil 17. D10 grubundaki 1 numaralı sıçanda röntgendeki kaynama bulgusu, tek tarafta radyolusen olan kemik kitlesi görülmektedir (küçük ok radyolusen füzyon kitlesini göstermektedir)

Radyolojik değerlendirme skorlamasında, gözlemciler arası uyum yüksek bulundu (ICC=0.993 ; $p<0.001$). Değerlendirmede 2.5 ve üstü skor, füzyon olmuş kabul edildi (şekil 17). Radyografik değerlendirme sonuçlarıyla füzyon oranları, kontrol grubunda % 50 (4/8) ,

D10 grubunda %50 (4/8), D30 grubunda %12.5 (1/8), D100 grubunda % 25(2/8) bulundu. Radyografik değerlendirme skoru ortalama değeri, kontrol grubunda 2.250 ± 1.164 (minimum 1, maksimum 4), D10 grubunda 2.333 ± 1.181 (minimum 0, maksimum 4), D30 grubunda 0.875 ± 0.991 (minimum 0, maksimum 3), D100 grubunda 1.041 ± 1.578 (minimum 0, maksimum 4) bulundu. Gruplar arasında radyolojik değerlendirme skorları incelendiğinde istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu ($p=0.048$). Kontrol ve D10 grupları arasında radyolojik değerlendirme ortalama skorlarında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı ($p=0.915$). Kontrol ve D30 grupları arasında radyolojik değerlendirme ortalama skorlarında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu ($p=0.023$). Kontrol grubunun radyolojik değerlendirme ortalama skoru, D30 grubunun skoruna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. Kontrol ve D100 grupları arasında radyolojik değerlendirme ortalama skorlarında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı ($p=0.060$). D10 ve D30 grupları arasında radyolojik değerlendirme ortalama skorlarında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardı ($p=0.028$). Radyolojik değerlendirme ortalama skoru D10 grubunda D30 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. D10 grubu ile D100 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.121$). D30 grubu ile D100 grubunun radyolojik değerlendirme ortalama skorları arasında anlamlı fark bulunamadı ($p=0.780$). Gruplar arasında radyolojik değerlendirme ile füzyon sonuçları incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p=0.291$). Kontrol grubu ile D10 ($p=0.569$), D30 ($p=0.282$) ve D100 ($p=0.608$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. D10 grubu ile D30 ($p=0.282$) ve D100 ($p=0.608$) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. D30 grubu ile D100 grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=1.000$).

HİSTOLOJİK BULGULAR

Histolojik değerlendirme 1 araştırmacı tarafından yapıldı, yeni kemik oluşumu ve neovaskülarizasyon skorları verildi, fibroblast sayısı ve inflamasyon hücresi sayısı sayıldı. Bulgular tablo haline getirildi (Tablo 16-19).

Tablo 16. Kontrol grubunun histolojik değerlendirme sonuçları

	Fibroblast sayısı	İnflamasyon hücre sayısı	Yeni kemik oluşumu skoru	Neovaskülarizasyon skoru
1	140	3	2	2
2	180	5	2	2
3	220	5	3	3
4	110	8	2	3
5	110	7	1	2
6	140	10	2	2
7	140	15	1	2
8	150	4	3	2
Ortalama	148,75	7,13	2	2,25

Tablo 17. D10 grubunun histolojik değerlendirme sonuçları

	Fibroblast sayısı	İnflamasyon hücre sayısı	Yeni kemik oluşumu skoru	Neovaskülarizasyon skoru
1	150	4	2	2
2	150	3	3	3
3	180	5	2	3
4	180	4	2	3
5	210	3	2	2
6	200	8	3	3
7	120	16	1	2
8	140	5	2	3
Ortalama	166,25	6,00	2,13	2,63

Tablo 18. D30 grubunun histolojik değerlendirme sonuçları

	Fibroblast sayısı	İnflamasyon hücre sayısı	Yeni kemik oluşumu skoru	Neovaskülarizasyon skoru
1	100	10	1	1
2	80	18	0	0
3	120	12	2	1
4	120	12	2	1
5	70	22	0	1
6	90	20	1	2
7	100	12	1	1
8	110	10	1	2
Ortalama	98,75	14,50	1,00	1,13

Tablo 19. D100 grubunun histolojik değerlendirme sonuçları

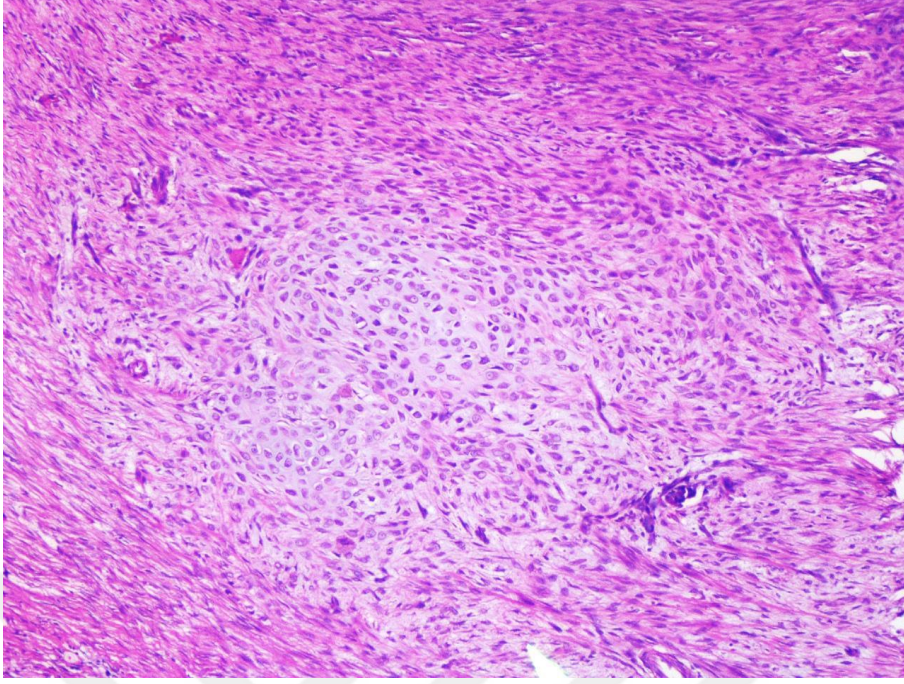
	Fibroblast sayısı	İnflamasyon hücre sayısı	Yeni kemik oluşumu skoru	Neovaskülarizasyon skoru
1	120	10	1	1
2	110	15	2	1
3	100	15	1	2
4	110	10	1	1
5	90	2	0	1
6	80	3	0	0
7	110	2	1	1
8	70	2	0	0
Ortalama	98,75	7,38	0,75	0,88

Gruplar arasında histolojik değerlendirme skorlarının karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak Tablo 20’de gösterildi.

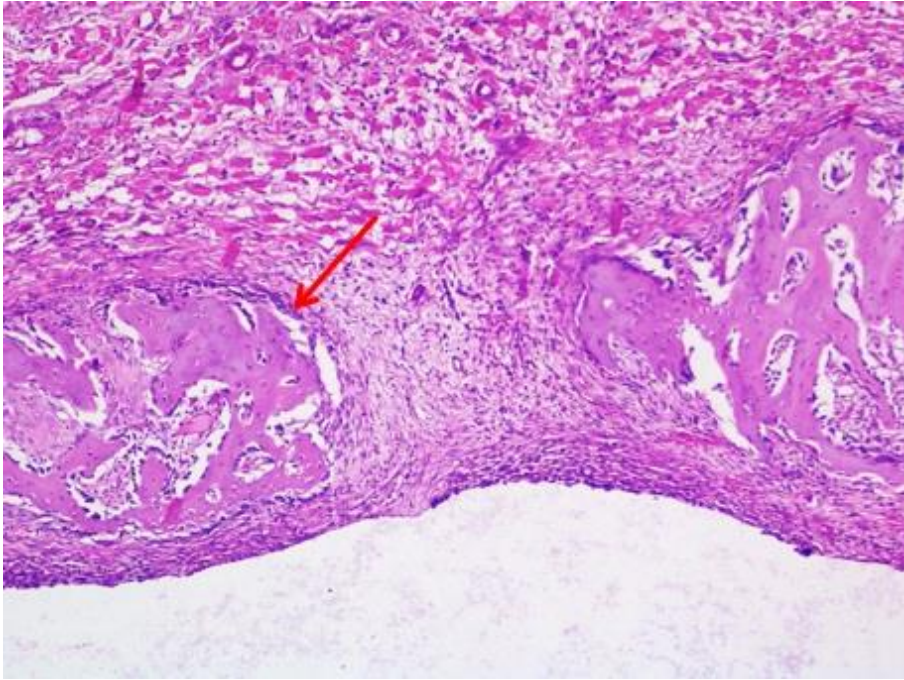
Tablo 20: Gruplar arasında histolojik değerlendirme skorlarının karşılaştırılması

	Kontrol (n=8)	D10 (n=8)	D30 (n=8)	D100 (n=8)	p
Yeni Kemik oluşumu	2.00 \pm 0.76	2.13 \pm 0.64	1.00 \pm 0.76	0.75 \pm 0.71	0.003
Fibroblast	148.75 \pm 36.43	166.25 \pm 31.14	98.75 \pm 18.08	98.75 \pm 17.27	<0.001
Inflamasyon Hücresi	7.13 \pm 3.91	6.00 \pm 4.34	14.50 \pm 4.75	7.38 \pm 5.80	0.015
Neovaskülarizasyon	2.25 \pm 0.46	2.63 \pm 0.52	1.13 \pm 0.64	0.88 \pm 0.64	<0.001

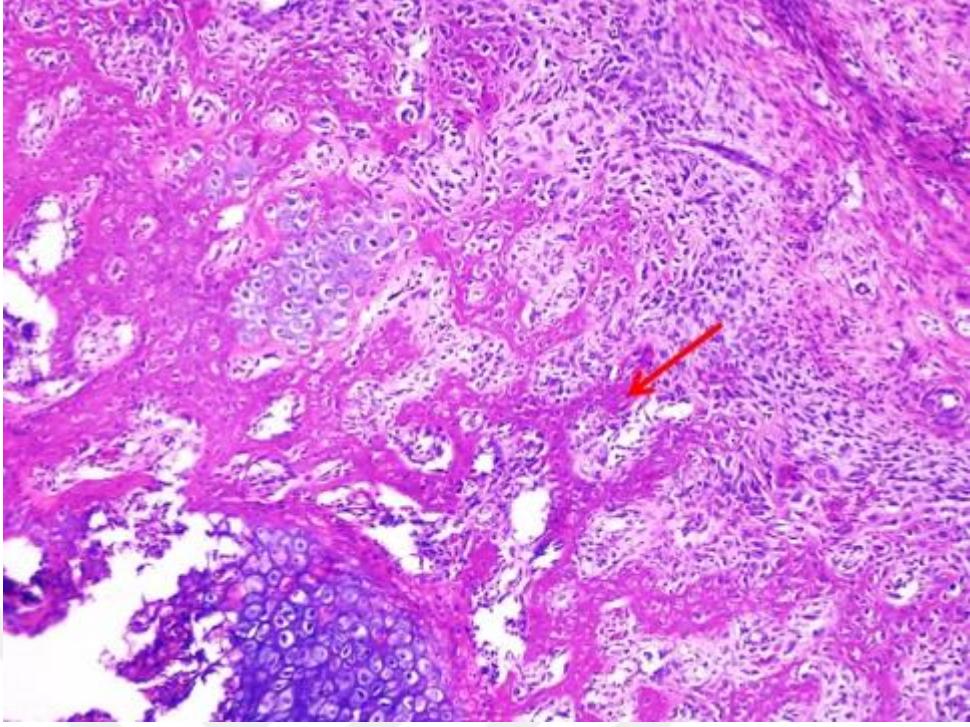
Histolojik değerlendirmede yeni kemik oluşumu, neovaskülarizasyon, fibroblast sayısı ve inflamasyon hücresi sayısı incelendi, yeni kemik oluşumu ve neovaskülarizasyon skorlandı (şekil 18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31)). Yeni kemik oluşumu skorları incelendiğinde (Tablo 20), kontrol grubunda ortalama değer 2.000 \pm 0.755 (minimum 1, maksimum 3), D10 grubunda 2.125 \pm 0.640 (minimum 1, maksimum 3), D30 grubunda 1.000 \pm 0.755 (minimum 0, maksimum 2), D100 grubunda 0.750 \pm 0.707 (minimum 0, maksimum 2) bulundu. Grupların yeni kemik oluşumu skorları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu (p=0.003). Kontrol grubu ile D10 grubu arasında yeni kemik oluşumu skorları incelendiğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı (p=0.725); ancak kontrol grubu ile D30 (p=0.026) ve D100 (p=0.08) grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu . Kontrol grubu yeni kemik oluşumu skoru bu gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. D10 grubu ile D30 (p=0.010) ve D100 (p=0.004) grupları arasında da istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu. D10 grubu yeni kemik oluşumu skorları bu iki gruba göre anlamlı derecede yüksekti. D30 ve D100 gruplarının yeni kemik oluşumu skorları arasında anlamlı farklılık görülmedi (p=0.492)



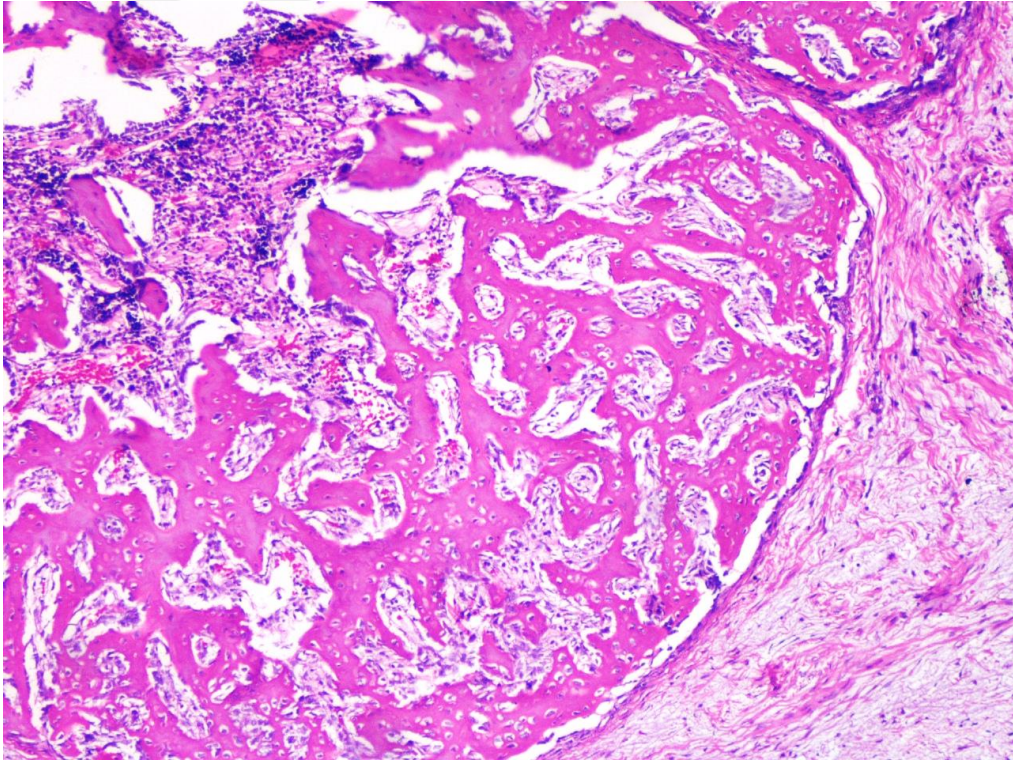
Şekil 18. Yeni kemik oluşumu 0 puan verilmiş bir örnek (Hematoksilen eozin boyası, 100x büyütme altında)



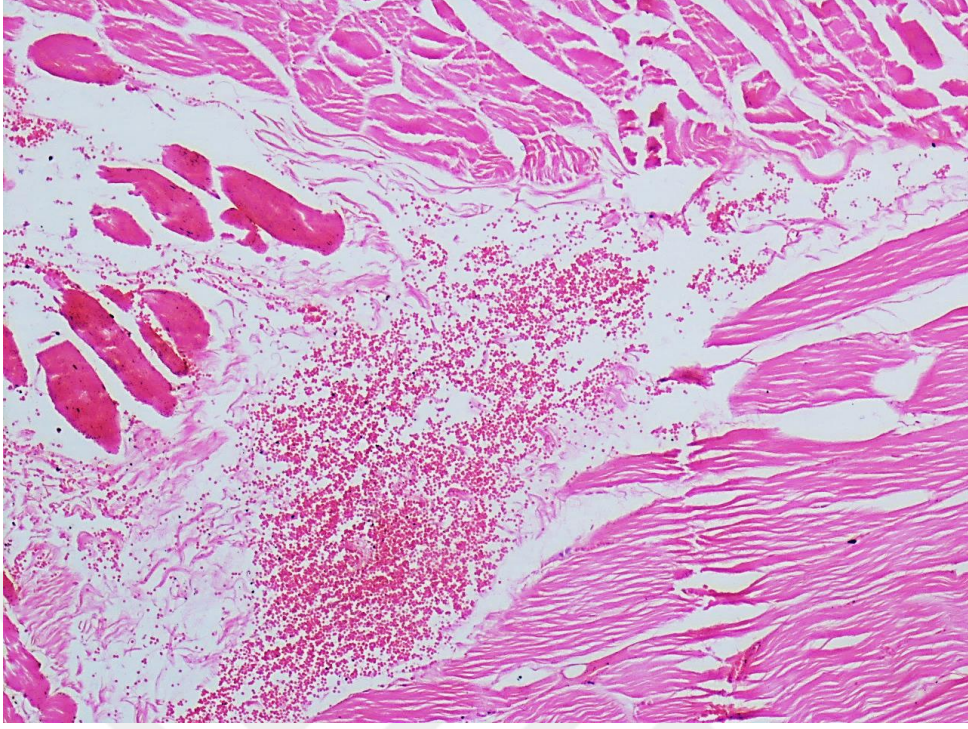
Şekil 19. Yeni kemik oluşumu 1 puan verilmiş bir örnek (Hematoksilen eozin boyası, 100x büyütme altında)



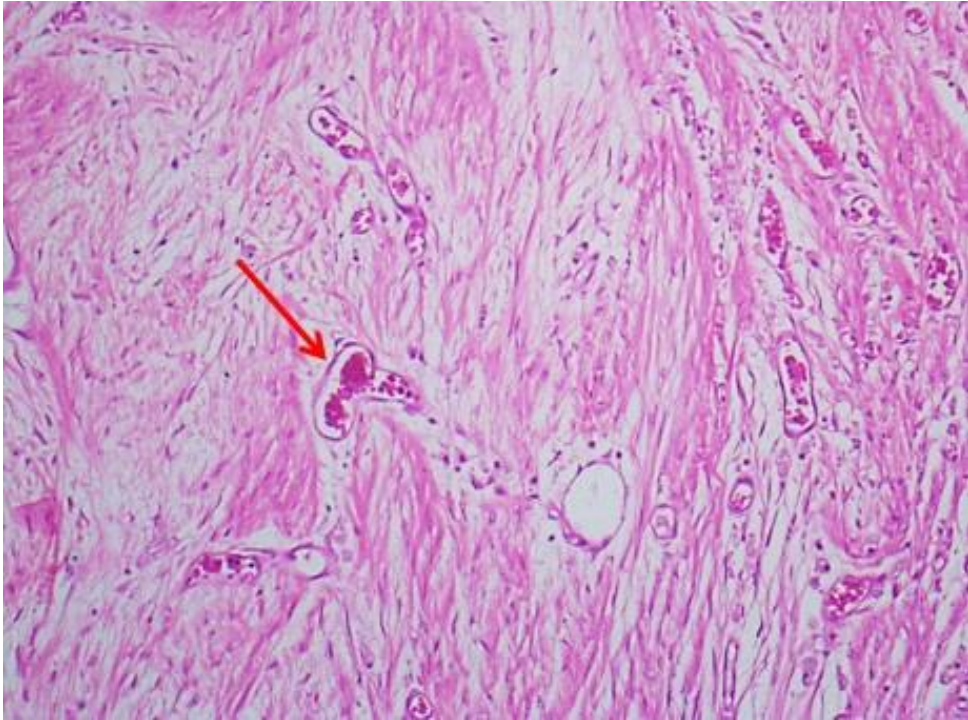
Şekil 20: Yeni kemik oluşumu 2 puan verilmiş bir örnek (Hematoksilen eozin boyası, 200x büyütme altında)



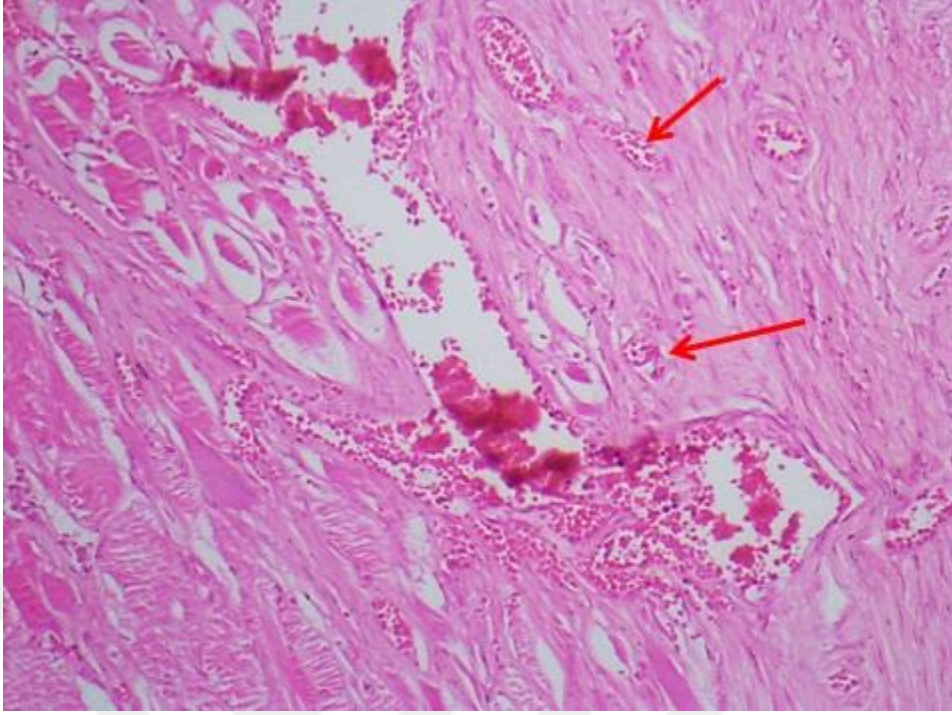
Şekil 21: Yeni kemik oluşumu 3 puan verilmiş bir örnek (Hematoksilen eozin boyası, 100x büyütme altında)



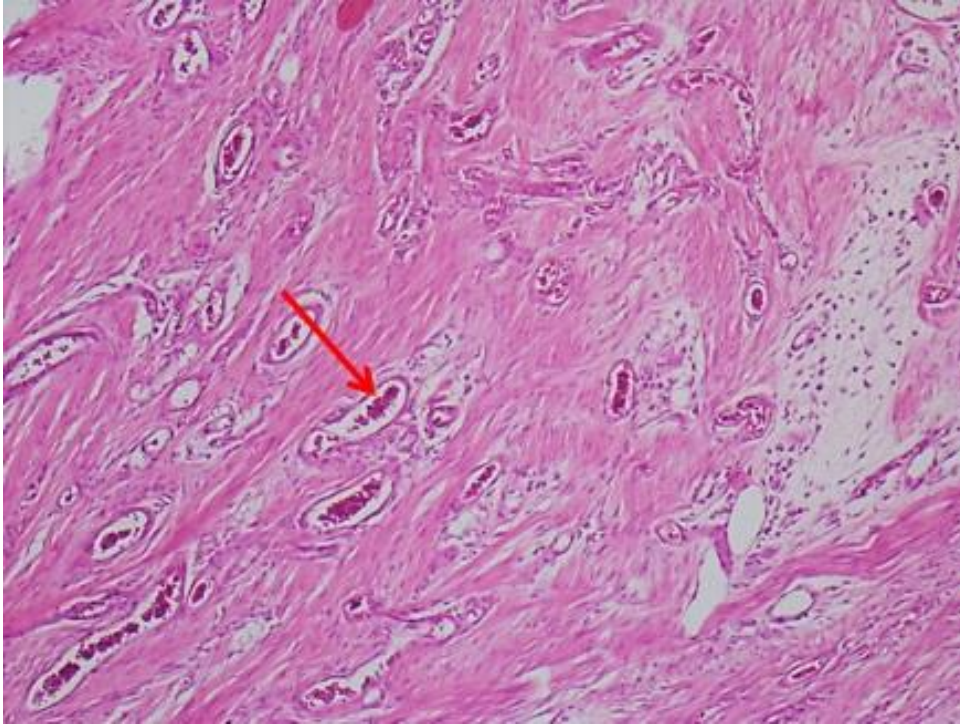
Şekil 22: Neovaskülarizasyon 0 puan verilmiş bir örnek (Hematoksilen eozin boyası, 100x büyütme altında)



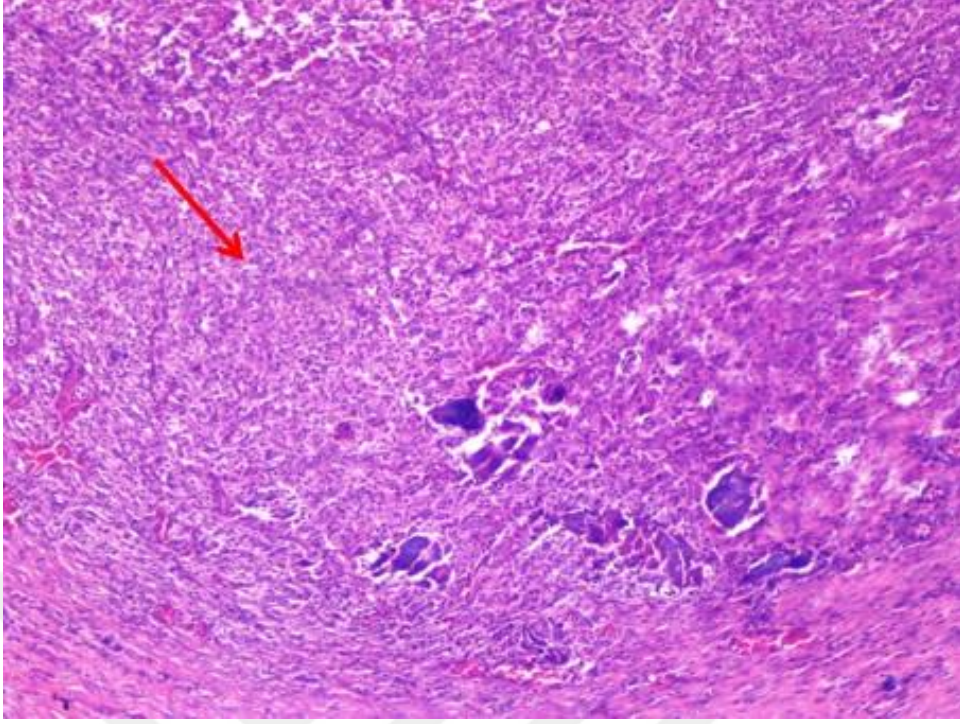
Şekil 23: Neovaskülarizasyon 1 puan verilmiş bir örnek (Hematoksilen eozin boyası, 100x büyütme altında)



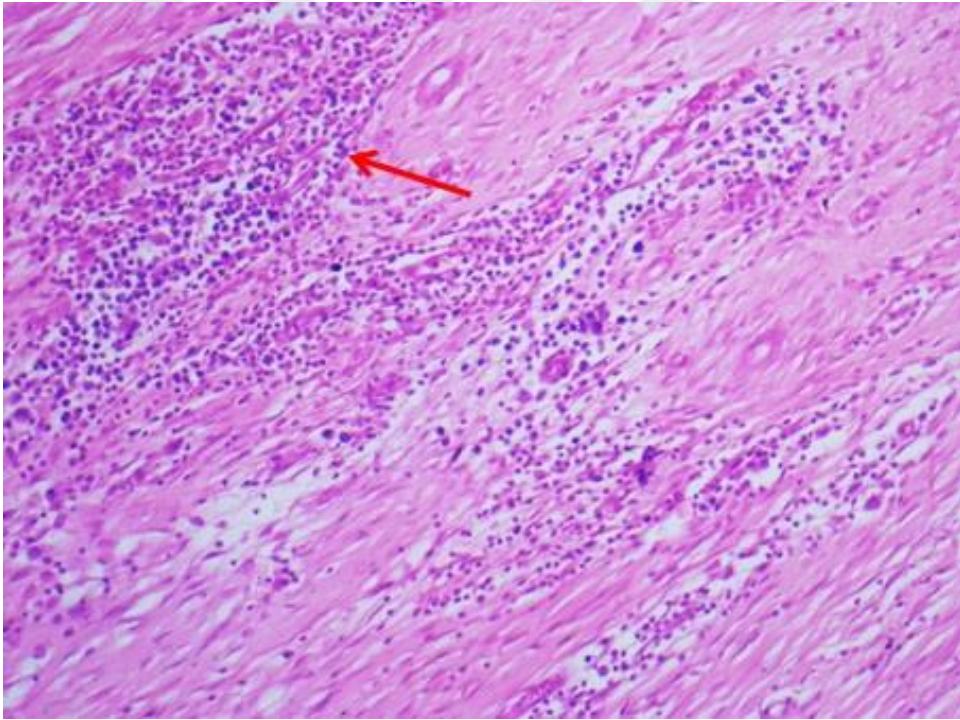
Şekil 24: Neovaskülarizasyon 2 puan verilmiş bir örnek (Hematoksilen eozin boyası, 100x büyütme altında)



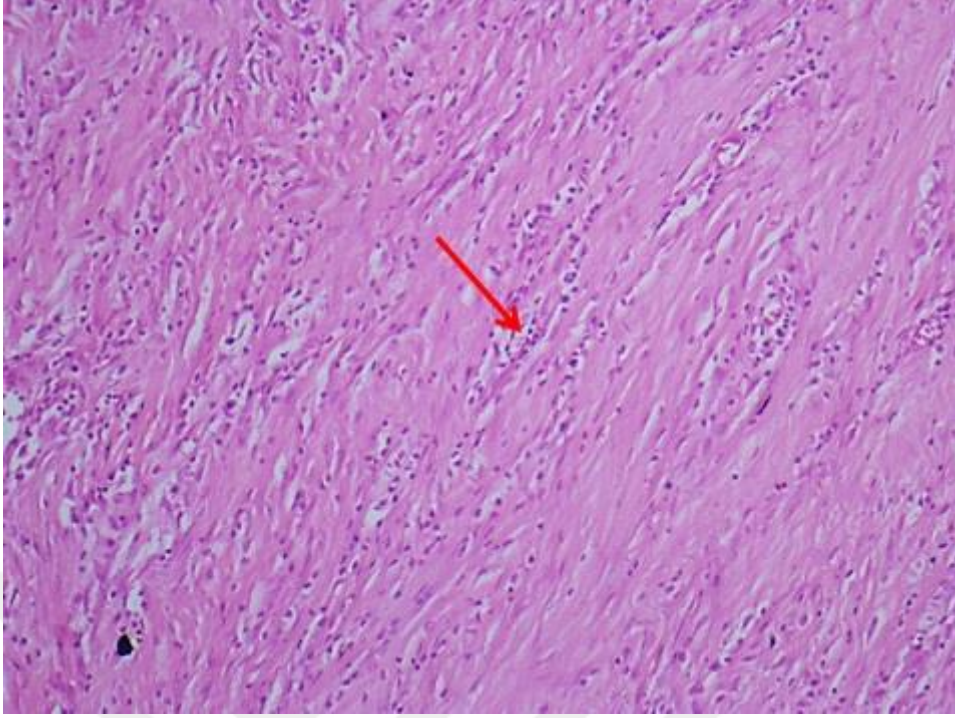
Şekil 25: Neovaskülarizasyon 3 puan verilmiş bir örnek (Hematoksilen eozin boyası, 100x büyütme altında)



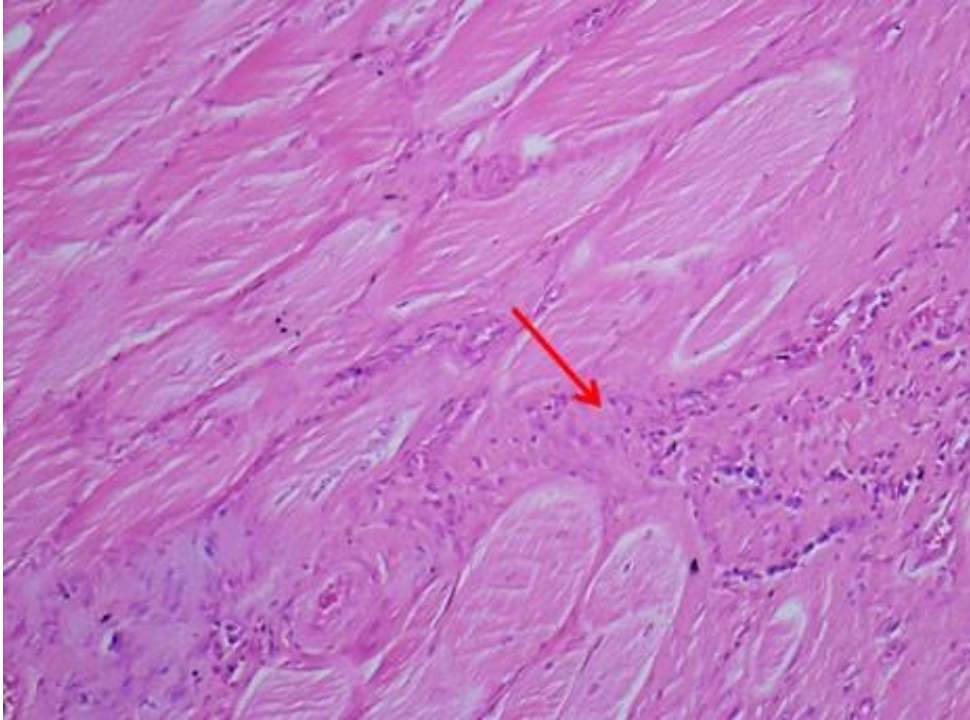
Şekil 26: Yoğun inflamasyon hücresi görülen bir örnek (Hematoksilen eozin boyası, 100x büyütme altında)



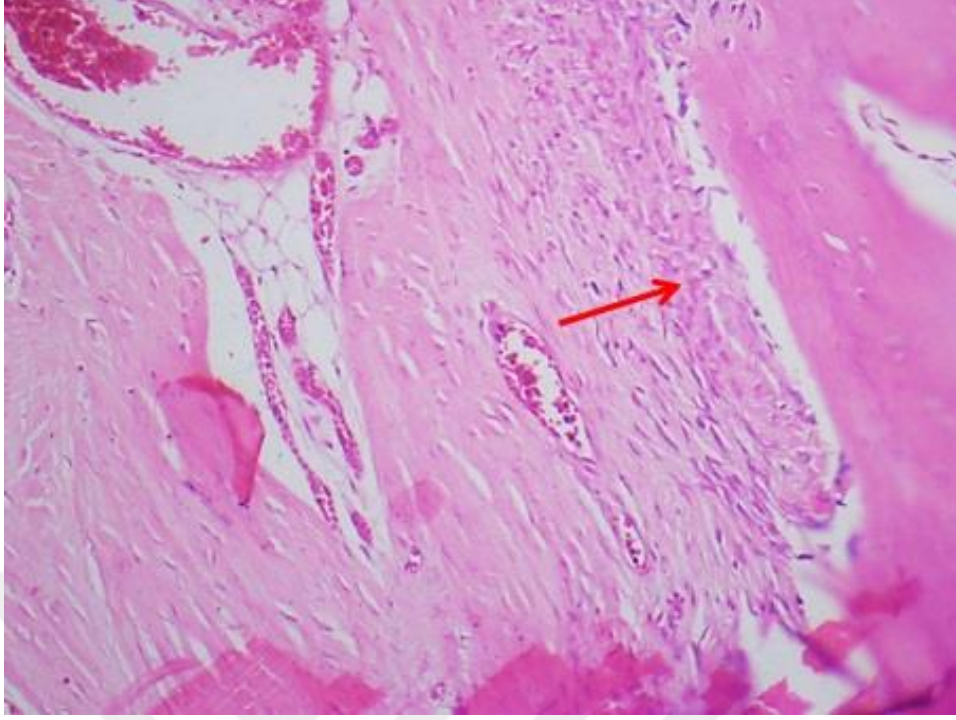
Şekil 27: Orta derecede inflamasyon hücresi görülen bir örnek (Hematoksilen eozin boyası, 100x büyütme altında)



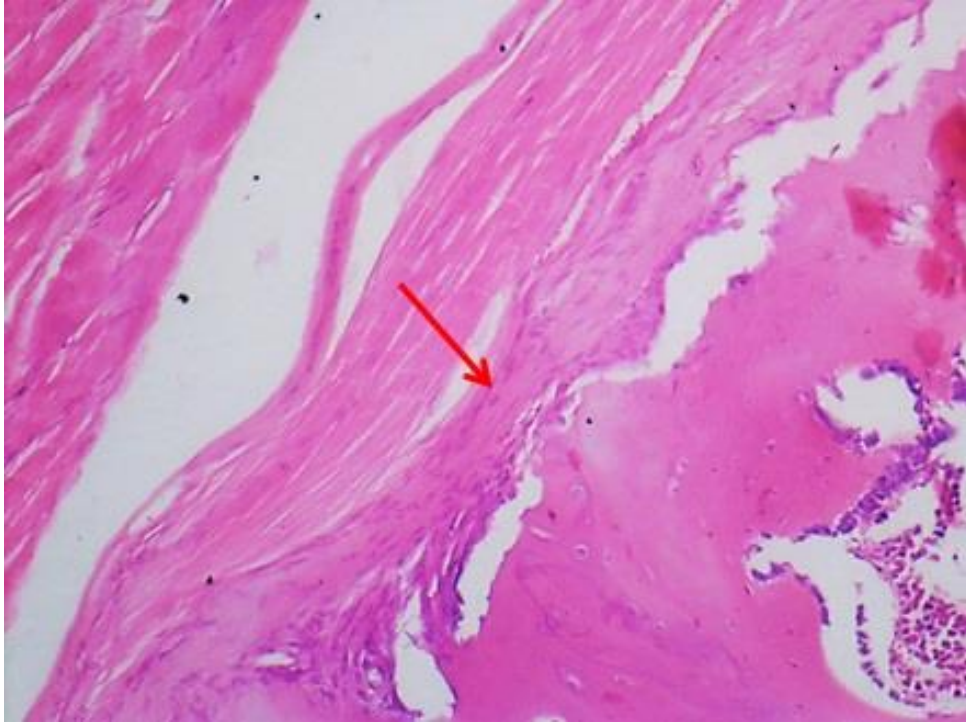
Şekil 28: Hafif derecede inflamasyon hücresi görülen bir örnek (Hematoksilen eozin boyası, 100x büyütme altında)



Şekil 29: Belirgin fibroblast proliferasyonu görülen bir örnek (Hematoksilen eozin boyası, 200x büyütme altında)



**Şekil 30: Orta derecede fibroblast proliferasyonu görülen bir örnek
(Hematoksilen eozin boyası, 200x büyütme altında)**



**Şekil 31: Hafif derecede fibroblast proliferasyonu görülen bir örnek
(Hematoksilen eozin boyası, 200x büyütme altında)**

Neovaskularizasyon skorları incelendiğinde (Tablo 20), ortalama değer kontrol grubunda 2.250 ± 0.462 (minimum 2, maksimum 3), D10 grubunda 2.625 ± 0.517 (minimum 2, maksimum 3), D30 grubunda 1.125 ± 0.640 (minimum 0, maksimum 2), D100 grubunda 0.875 ± 0.640 (minimum 0 maksimum 2) bulundu. Grupların neovaskularizasyon skorları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu ($p < 0.001$). Kontrol grubu ile D10 grubu neovaskularizasyon skorları incelendiğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı ($p = 0.143$); ancak kontrol grubuyla D30 ($p = 0.003$) ve D100 ($p = 0.001$) grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu. Kontrol grubu neovaskularizasyon skoru D30 ve D100 grupları neovaskularizasyon skorlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. D10 grubu ile D30 ($p < 0.001$) ve D100 ($p < 0.001$) grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. D10 grubu neovaskularizasyon skoru D30 ve D100 grupları neovaskularizasyon skorlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. D30 ve D100 grupları neovaskularizasyon skorları anlamlı bir farklılık göstermemekteydi ($p = 0.429$).

Fibroblast sayısı incelendiğinde (Tablo 20), ortalama değer kontrol grubunda 148.750 ± 36.425 (minimum 110 maksimum 220), D10 grubunda 166.250 ± 31.139 (minimum 120 maksimum 210), D30 grubunda 98.750 ± 18.077 (minimum 70, maksimum 120), D100 grubunda 98.750 ± 17.268 (minimum 70, maksimum 120) bulundu. Grupların fibroblast sayıları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu ($p < 0.001$). Kontrol grubu ile D10 grubu arasında fibroblast sayıları incelendiğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı ($p = 0.22$); ancak kontrol grubuyla D30 ($p = 0.004$) ve D100 ($p = 0.004$) grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu. Fibroblast sayıları, kontrol grubunda D30 ve D100 gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. D10 grubu ile D30 ($p = 0.001$) ve D100 ($p = 0.001$) grupları arasında fibroblast sayıları incelendiğinde, istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu. Fibroblast sayıları, D10 grubunda D30 ve D100 gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. D30 ve D100 gruplarının fibroblast sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p = 1.000$).

İnflamasyon hücre sayıları incelendiğinde (Tablo 20), ortalama değer kontrol grubunda 7.125 ± 3.907 (minimum 3, maksimum 15), D10 grubunda 6.000 ± 4.342 (minimum 3, maksimum 16), D30 grubunda 14.500 ± 4.750 (minimum 10, maksimum 22), D100 grubunda 7.375 ± 5.804 (minimum 2, maksimum 15) bulundu. Grupların inflamasyon hücre sayıları

arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu ($p=0.015$). Kontrol grubu ile D10 grubu arasında inflamasyon hücre sayıları incelendiğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.365$). Kontrol grubu ile D30 grubu arasında inflamasyon hücre sayıları incelendiğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulundu ($p=0.006$). İnflamasyon hücre sayısı D30 grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. Kontrol grubu ile D100 grubu arasında inflamasyon hücre sayıları incelendiğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.710$). D10 grubu ve D30 grubu arasında inflamasyon hücre sayıları incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.004$). D30 grubunda D10 grubuna göre inflamasyon hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. D10 grubu ve D100 grubu arasında, inflamasyon hücre sayıları incelendiğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.751$). D30 ve D100 grupları arasında inflamasyon hücre sayıları incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.033$). D30 grubunda D100 grubuna göre inflamasyon hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti.

Tablo 21: Gruplar arasında tüm bulguların karşılaştırılması

	Kontrol (n=8)	D10 (n=8)	D30 (n=8)	D100 (n=8)	p
Yeni Kemik Oluşumu	2.00 ± 0.76	2.13 ± 0.64	1.00 ± 0.76	0.75 ± 0.71	0.003
Fibroblast	148.75 ± 36.43	166.25 ± 31.14	98.75 ± 18.08	98.75 ± 17.27	<0.001
Inflamasyon Hücresi	7.13 ± 3.91	6.00 ± 4.34	14.50 ± 4.75	7.38 ± 5.80	0.015
Neovaskülarizasyon	2.25 ± 0.46	2.63 ± 0.52	1.13 ± 0.64	0.88 ± 0.64	<0.001
Radyolojik ortalama skor	2.25 ± 1.16	2.33 ± 1.18	0.88 ± 0.99	1.04 ± 1.58	0.048
Radyolojik Füzyon oranı	4/8(%50)	4/8(%50)	1/8(%12.5)	2/8(%25)	0.291
Manuel palpasyon ortalama skor	0.50 ± 0.47	0.58 ± 0.43	0.21 ± 0.35	0.04 ± 0.12	0.035
Manuel palpasyonla Füzyon oranı	4/8 (%50)	5/8(%62.5)	1/8(%12.5)	0/8(%0)	0.020

Çalışmada sonucunda manuel palpasyon ortalama skorları, manuel palpasyonla füzyon oranları, radyolojik değerlendirme ortalama skorları, radyolojik değerlendirme ile füzyon oranları, Neovaskülarizasyon skorlaması, inflamasyon hücresi sayımı, fibroblast dansitesi değerlendirmesi ve yeni kemik oluşumu skorlaması yapıldı, sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak tablo 21'de gösterildi. İstatistiksel değerlendirmede manuel palpasyon skorlamasında ve radyolojik değerlendirmede gözlemcilerarası uyum yüksek bulundu. Manuel palpasyon skorları incelendiğinde kontrol ve D10 gruplarının skorları, D100 grubunun skorları ile kıyaslandığından istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek bulundu. Manuel palpasyon skorlarına göre füzyon oranları D10 grubunda, D100 grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Radyolojik skorlar incelendiğinde Kontrol ve D10 gruplarının skorları, D100 grubunun skoruna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Yeni kemik oluşumu skorları incelendiğinde, kontrol ve D10 gruplarının skorları D30 ve D100 gruplarının skorlarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Neovaskülarizasyon skorları incelendiğinde, kontrol ve D10 gruplarının skorları D30 ve D100 gruplarının skorlarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Fibroblast sayıları incelendiğinde kontrol grubu ve D10 gruplarında, D30 ve D100 gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derece yükseklik bulundu. İnflamatuar hücre sayıları incelendiğinde D30 grubunda, diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yükseklik bulundu.

TARTIŞMA

Pregabalin etken maddesinin omurga füzyonu cerrahisi üzerine etkisi daha önce araştırılmamıştır. Bu konuda yapılan literatür taramasında herhangi bir çalışma bulunamadı. Bu yüzden yöntemi belirlemek amacıyla sıçan omurga füzyonu ve pregabalinle ilgili yapılmış hayvan çalışmaları araştırılarak yöntem belirlendi. Bu çalışmada, omurga füzyon hayvan modellerinde yaygın bir şekilde kullanılan Sprague-Dawley cinsi sıçanlar kullanılmıştır. Bu hayvanları seçmenin avantajları; kolay elde edilebilmeleri, bakımlarının kolay ve ucuz olması, dayanıklı olmaları ve literatürde daha önce yapılmış pek çok çalışmanın bulunmasıdır.(45,47-49). Ratların omurga füzyonu modelinde kullanılmasının bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Bunlar: Cerrahi işlemde omurga stabilitesini tam anlamıyla sağlayabilecek bir internal tespit yönteminin bulunmaması, kullanılacak otogreft miktarının çok az olması, anatomik, biyolojik ve omurga biyomekaniği özellikleri açısından insanlarla ortak noktalarının çok az olması, elde edilen doz ve etkinlik ile ilgili verilerin direkt olarak insanlara uyarlanamaması olarak sayılabilir (47,50). Bu dezavantajlar bizim çalışmamızda da geçerlidir.

Pregabalin dozlarının belirlenmesinde daha önce yapılmış hayvan çalışmaları göz önünde bulunduruldu. Avrupa ilaç ajansı'nın (EMA) 2004 yılında yayımladığı raporda 100 mg/kg 4 hafta boyunca sıçanlara oral yolla verilmiş ancak pankreas ve prostat ağırlıklarının azalması dışında bir yan etki gözlenmemiştir (39). Daha önce yapılmış çalışmalarda ratlara uygulanan etkin pregabalin dozları ve toksisite çalışmaları göz önünde bulundurularak etkin dozlar belirlendi ve düşük, orta ve yüksek dozları değerlendirebilmek için 10mg, 30mg ve 100

mg dozları uygun görüldü (39-41). Sıçanlara etken maddenin verilmesi için intraperitoneal ve intravenöz yolların kullanılması, 6 hafta boyunca her gün uygulanacağı göz önünde bulundurulduğunda hayvanların beslenmesini ve davranışlarını olumsuz etkileyebileceğinden dolayı oral yolun kullanılması etik açıdan ve uygulama kolaylığı açısından daha uygun görüldü. Pregabalin etken maddesinin oral yolla verilmesinde, daha önce de yapılmış değişik çalışmalar göz önüne alınarak, içme suyuna karıştırılması tercih edildi. Hayvanların günlük su gereksinimleri hesaplandı ve hayvanların tartılan ağırlıklarına uygun gelecek etken madde miktarı içme suyuna karıştırıldı. Yapılan gözlemlerde sıçanların bu suları içmesinde herhangi bir sorun olmadığı görüldü. Ancak bu yöntemde bir sıçanın kafeste duran diğer sıçana göre daha fazla su içip içmediği bilinmemektedir. Bu yüzden sıçanın alması gereken etken madde miktarı sadece teorik olarak ayarlanabilmektedir. Aynı zamanda sıçanların her gün tartılması yine hayvanların beslenmesini ve davranışlarını olumsuz etkileyebileceğinden etik bulunmadı. Bu yüzden sıçanlarda günlük ağırlık artışı ve buna göre etken madde doz ayarlanması yapılamadı. Bunlar yöntemimizde bulunan dezavantajlardı. Bu dezavantajların yapacağı etkinin minimal olacağı düşünüldü.

Çalışmanın sonlandırılması için 6 hafta yeterli görüldü. Füzyon değerlendirmesinde 5 haftadan sonra füzyon oranında değişme olmadığı bilinmektedir (51). Çalışmada kullandığımız cerrahi teknik daha öncede çeşitli çalışmalarda kullanılmıştır (42). Teknikte ulaşılan otogreft kullanımıyla füzyon oranları ,%33-56 olarak bildirilmiştir(52-54). Bizim çalışmamızda da manuel palpasyon sonuçlarına göre füzyon oranları kontrol grubunda % 50, D10 grubunda % 62.5, D30 grubunda % 12.5 ve D100 grubunda % 0 olarak bulunmuştur. Kontrol ve D10 gruplarında Manuel palpasyonla füzyon oranları literatür ile uyumlu bulunmuştur. Manuel palpasyon skorları incelendiğinde kontrol ve D10 gruplarının skorları D100 grubunun skoruna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. D10 grubu ile D30 grupları kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı yükseklik bulunmasa da aradaki fark anlamlıya yakın bulundu ($p=0.085$). Manuel palpasyona füzyon oranları incelendiğinde D10 grubunda D100 grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulundu. Kontrol grubunda D100 grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlıya yakın yükseklik bulundu ($p=0.077$). Bundan dolayı daha çok sıçan kullanılarak yeni bir çalışma yapılmasının daha kesin bir sonuç vereceği düşünülmektedir. Çalışmamızda kullanılan skorlama sistemine göre 3 ve 4 puanlar radyolojik füzyon olarak kabul edildiğinden 3 araştırmacının skorlaması alınarak hesaplanan ortalama skorda 2,5 puanın üzeri füzyon kabul edilmiştir. Radyolojik füzyon oranları kontrol grubunda % 50, D10 grubunda % 50, D30 grubunda %12.5, D100 grubunda % 25 bulunmuştur.

Kontrol grubunda 2 sıçanın, D10 grubundaki 3 sıçanın, D30 ve D100 gruplarındaki 2 sıçanın radyolojik füzyon ve manuel palpasyonla füzyon bulguları tutarsız bulunmuştur. Manuel palpasyon sonuçlarında olduğu gibi bu sonuçlarda da elde edilen füzyon oranları kontrol ve D10 (düşük doz pregabalin verilen sıçan grubu) gruplarında literatür ile uyumlu bulunmuştur (51-53). D30 (ortalama doz pregabalin verilen sıçan grubu) ve D100 (yüksek doz pregabalin verilen sıçan grubu) gruplarında ise literatüre göre daha düşük oranda bulunmuştur. Gruplar arasında radyolojik füzyon incelendiğinde anlamlı fark bulunmasa da, radyolojik ortalama skorlar incelendiğinde Kontrol ve D10 gruplarının , D30 ve D100 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek skorlarının olduğu görülmüştür. Kontrol grubundaki 1 numaralı sıçanın manuel palpasyon ile değerlendirmesinde sadece 1 araştırmacı füzyon düşünmüş, radyolojik değerlendirmede ise üç araştırmacı da füzyon düşünmüştür. Kontrol grubundaki 5 numaralı sıçanın manuel palpasyonla değerlendirmesinde üç araştırmacı füzyon düşünmüş; radyolojik değerlendirmesinde ise üç araştırmacı da füzyon düşünmemiştir. D10 grubundaki 1 numaralı sıçanın manuel palpasyonla değerlendirmesinde üç araştırmacı da füzyon düşünmemiş; radyolojik değerlendirmesinde ise 2 araştırmacı füzyon lehine, 1 araştırmacı ise füzyon aleyhine değerlendirmiştir. D10 grubundaki 3 numaralı sıçanın manuel palpasyonla değerlendirmesinde 2 araştırmacı füzyon lehine, radyolojik değerlendirmesinde ise 1 araştırmacı füzyon aleyhine değerlendirmiştir. D10 grubundaki 5 numaralı sıçanın manuel palpasyonla değerlendirmesinde iki araştırmacı füzyon kararı vermiş; radyolojik değerlendirmesinde ise 3 araştırmacı da füzyon olmadığı kararına varmıştır. D30 grubundaki 3 numaralı sıçanın manuel palpasyonla değerlendirmesinde 3 araştırmacı füzyon aleyhine, radyolojik değerlendirmesinde ise 3 araştırmacı da füzyon lehine değerlendirmiştir. D30 grubundaki 5 numaralı sıçanın manuel palpasyonla değerlendirmesinde 3 araştırmacı füzyon lehine, radyolojik değerlendirmesinde ise 3 araştırmacı da füzyon aleyhine değerlendirmiştir. D100 grubundaki 3 numaralı sıçanın manuel palpasyonla değerlendirmesinde 3 araştırmacı füzyon aleyhine, radyolojik değerlendirmesinde ise 3 araştırmacı da füzyon lehine değerlendirmiştir. D100 grubundaki 4 numaralı sıçanın manuel palpasyonla değerlendirmesinde 3 araştırmacı füzyon aleyhine, radyolojik değerlendirmesinde ise 3 araştırmacı da füzyon lehine değerlendirmiştir. Manuel palpasyon ile değerlendirme, biyomekanik çalışmalarla uyumluluk gösterdiği bilinmektedir (42,52). Bununla birlikte kişiye bağlı bir yöntem olduğundan şüphelidir. Radyolojik değerlendirme ile manuel palpasyon arasındaki uyumsuzluk ise daha önceki çalışmalarda da gözlenmiş bir durumdur (42,52). Literatürde manuel palpasyon ile füzyon kararı verilen tavşanlarda radyolojik incelemeyle

% 54 oranında farklı sonuç alındığı bildirilmiştir (42). Bu açıdan değerlendirildiğinde çalışmamızdaki bu durum da olağan bir sonuçtur. Sonuçta orta ve yüksek dozlarda pregabalin verilmesi sıçanlarda füzyon oluşumunu inhibe etmiş gibi gözükmemektedir ancak radyolojik skorlamaların manuel palpasyonla uyumsuz olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. İleriki çalışmaların daha detaylı bir görüntüleme yöntemi olan microCT ile yapılması daha doğru bir sonuç verebilir.

Histolojik inceleme bulgularından yeni kemik oluşumu skorları incelendiğinde kontrol ve D10 gruplarında tüm sıçanlarda yeni kemik oluşumu gözlemlendi; D30 grubunda 2 ve 5 numaralı sıçanlarda, D100 grubunda 5,6 ve 8 numaralı sıçanlarda yeni kemik oluşumu gözlemlenmedi. Kontrol grubundaki sıçanların sonuçları literatür ile uyumlu bulundu (45). Yeni kemik oluşumu skorları kontrol ve D10 gruplarında D30 ve D100 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu skorlama doğrudan füzyon gelişip gelişmediğini söylememektedir ancak yeni kemik oluşumu vertebra füzyonunu sağlayan ortak bir süreçtir. Bu sonuca dayanarak orta ve yüksek doz pregabalin kullanımının sıçanlarda yeni kemik oluşumunu, dolayısıyla vertebra füzyonunu olumsuz etkilediğini söyleyebiliriz.

Neovaskülarizasyon skorları incelendiğinde kontrol ve D10 gruplarında tüm sıçanların 2 ve üzerinde puan aldığı, D30 grubunda 2 numaralı sıçanın ve D100 grubunda 6 ve 8 numaralı sıçanların 0 puan aldığı görüldü. Kontrol grubundaki sıçanların sonuçları literatür ile uyumlu bulundu (45). Kontrol ve D10 gruplarının skorları, D30 ve D100 gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Bu sonuçlar, sıçanlara orta ve yüksek dozlarda pregabalin verilmesinin, neovaskülarizasyonu olumsuz etkilediğini ortaya koymaktadır. Neovaskülarizasyonun başarılı kemik iyileşmesi için önemli olduğu düşünüldüğünde (55), bu sonucun kemik iyileşmesi açısından önemi anlaşılmaktadır.

Fibroblast sayıları kontrol ve D10 gruplarında D30 ve D100 gruplarına kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulundu. Bu sonuç orta ve yüksek dozda pregabalin verilmesinin sıçanlarda füzyon bölgesindeki fibroblast sayılarını azalttığını ortaya koymaktadır. Fibroblastların kırık iyileşme sahasına göç ederek granülasyon dokusunun oluşumunda ve kemik iyileşme sürecinin başlamasında rol oynadığı bilinmektedir. Bu yüzden elde ettiğimiz sonuç, yeni kemik doku oluşumu ve neovaskülarizasyon sonuçlarıyla da uyumludur.

İnflamatuar hücre sayımı (polimorfonükleer hücreler, lenfositler, monositler) , D30 grubunda diğer gruplara göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek çıktı. Kontrol grubu ve D10 grubuyla D100 grubu kıyaslandığında ise istatistiksel anlamlı bir fark çıkmadı. Bu sonucu değerlendirdiğimiz zaman, orta doz pregabalinin inflamatuvar hücre sayısını arttırdığı

görülmektedir. Bu sonuca dayanılarak orta dozda pregabalin verilmesinin sıçanda vertebra füzyonu üzerinde inflamasyonu arttırıcı etkisiyle granülasyon dokusunun oluşturulmasını kolaylaştırarak kaynamayı uyarıcı etki gösterdiği düşünülebilir. Ancak dozun azaltılması ve artırılması ile inflamasyon hücre sayısı arasında bir ilişki olmaması, bu sonucun güvenilirliğini azaltmaktadır. Aynı zamanda bu sonuç diğer histolojik sonuçlarla tutarlılık taşımamaktadır.

Pregabalin'in kemik ve kemik kaynaması üzerine etkileri daha önce araştırılmamış bir konudur. Etki mekanizmaları göz önüne alındığında antiinflamatuvar etkilerinin olduğu bilinmektedir (25,36-38). Füzyon oluşumunda da ilk basamak kemik iyileşmesinde olduğu gibi inflamatuvar dönemdir. Çalışmamızda gördüğümüz histolojik sonuçlar, 6 hafta süreyle orta ve yüksek dozda pregabalin kullanımının füzyonu hücresel boyutta inhibe ettiğini ortaya koymaktadır. Manuel palpasyonla füzyon ve radyolojik füzyon sonuçları bu bulguyu desteklemese de, manuel palpasyon skorları ve radyolojik skorlar incelendiğinde 6 hafta süreyle orta ve yüksek dozda pregabalin kullanımının füzyonu inhibe ettiğini desteklemektedir.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma laboratuvarında, kırık, nöropatik ağrılı hastalarda sıklıkla kullandığımız pregabalin'in yine sık uyguladığımız bir işlem olan omurga füzyonu üzerine olan etkilerini radyolojik ve histopatolojik veriler ışığında incelediğimiz çalışmada;

1. Manuel palpasyon ile değerlendirme sonucunda yüksek doz pregabalin verilen sıçanlarda füzyonun istatistiksel olarak azaldığı görüldü, bu durum yüksek doz pregabalin verilmesinin sıçanlarda omurga füzyonunu inhibe ettiği şeklinde yorumlandı.
2. Radyolojik inceleme sonucunda yüksek doz alan sıçanlarda skorların daha düşük olduğu görüldü ancak gruplar arasında füzyon oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.
3. Histopatolojik inceleme sonucunda kontrol grubu ve düşük doz pregabalin verilen D10 grubundaki fibroblast yoğunluğu, neovaskülarizasyon skorları ve yeni kemik oluşumu skorları, orta doz pregabalin verilen D30 ve yüksek doz pregabalin verilen D100 gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu; ancak inflamasyon hücre sayıları kıyaslandığında D30 grubunda inflamasyon hücre sayısının diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü.
4. Çalışmamızın sonucuna göre herhangi bir nedenle omurga füzyonu uygulanmış hastalarda erken dönemden başlanarak uzun süreli pregabalin kullanılması füzyon oluşumunu inhibe etme riski taşımaktadır. Bununla birlikte bu çalışmada elde edilen sonuçlar, daha çok hayvan bulunduran çalışmaların yapılması gerektiğini de göstermektedir.

ÖZET

Nöropatik ağrının tedavisinde kullanılan ilaçlardan pregabalin'in omurga füzyonu üzerine etkisini incelediğimiz çalışmamız, Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu onayı (Ek I) alınarak Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneyle Hayvanları ve Araştırma laboratuvarından elde edilen 32 adet SpragueDawley cinsi sıçan üzerinde gerçekleştirildi.

Sıçanlar Kontrol grubu: Omurga füzyonu kontrol grubu (Omurga füzyonu uygulanıp pregabalin verilmeyen grup), D10 grubu: Düşük doz pregabalin grubu (Omurga füzyonu uygulanıp 6 hafta boyunca 10 mg/kg oral pregabalin verilen grup), D30 grubu: Orta doz pregabalin grubu (Omurga füzyonu uygulanıp 6 hafta boyunca 30 mg/kg oral pregabalin verilen grup), D100 grubu: Yüksek doz pregabalin grubu (Omurga füzyonu uygulanıp 6 hafta boyunca 100 mg/kg oral pregabalin verilen grup) olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.

Kontrol grubu omurga füzyonu modeli açısından D10, D30 ve D100 gruplarındaki sıçanlar için kontrol grubu olarak takip edildi. D10 grubundaki sıçanlar düşük doz pregabalin verilen omurga füzyonu modeli, D30 grubundaki sıçanlar orta doz pregabalin verilen omurga füzyonu modeli, D100 grubundaki sıçanlar yüksek doz pregabalin verilen omurga füzyonu modeli olarak ele alındı.

Omurga füzyonu modeli olarak tüm sıçanlara orta hat lomber posterior longitudinal insizyonla girilerek L4-L5 omurgaların intertransvers bölgeleri dekortike edilerek füzyon işlemi uygulandı. Sonrasında D10 grubundaki sıçanların içme suyuna 10 mg/kg olacak şekilde pregabalin konularak 6 hafta takip edildi; D30 grubundaki sıçanların içme suyuna 30 mg/kg olacak şekilde pregabalin konularak 6 hafta takip edildi; D100 grubundaki sıçanların içme

suyuna 100 mg/kg olacak şekilde pregabalin konularak 6 hafta takip edildi; kontrol grubunun içme suyuna herhangi bir ilaç konulmadı ve 6 hafta takip edildi. Cerrahi işlem sonrası 6 hafta tamamlanınca tüm sıçanlar anestezi altında radyografi çekilmesi işlemini takiben yüksek doz anesteziyle sakrifiye edildi. Tüm sıçanların lomber omurgaları eksize edildi ve manuel palpasyonla muayenenin ardından histolojik araştırma yapılması için ayrıldı.

Manuel palpasyon ile değerlendirme sonucunda yüksek doz pregabalin verilen sıçanlarda füzyonun istatistiksel olarak azaldığı görüldü, bu durum yüksek doz pregabalin verilmesinin sıçanlarda omurga füzyonunu inhibe ettiği şeklinde yorumlandı. Radyolojik inceleme sonucunda yüksek doz alan sıçanlarda skorların daha düşük olduğu görüldü ancak gruplar ile arasında füzyon oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Histopatolojik inceleme sonucunda kontrol grubu ve düşük doz pregabalin verilen D10 grubundaki fibroblast yoğunluğu, neovaskülarizasyon skorları ve yeni kemik oluşumu skorları, orta doz pregabalin verilen D30 ve yüksek doz pregabalin verilen D100 gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu; ancak inflamasyon hücre sayıları kıyaslandığında D30 grubunda inflamasyon hücre sayısının diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü.

Çalışmamızın sonucuna göre herhangi bir nedenle omurga füzyonu uygulanmış hastalarda erken dönemden başlanarak uzun süreli pregabalin kullanılması füzyon oluşumunu inhibe etme riski taşımaktadır. Bununla birlikte bu çalışmada elde edilen sonuçlar, daha çok hayvan bulunduran çalışmaların yapılması gerektiğini de göstermektedir.

Anahtar kelimeler; omurga füzyonu, pregabalin, nöropatik ağrı

INFLUENCE OF PREGABALIN ON RAT VERTEBRAL FUSION

SUMMARY

Our study was searching the influence of pregabalin on spine fusion. Our study was carried out on 32 sprague-Dawley rats obtained from Trakya University Medical Faculty Experimental Animals and Research Laboratory after approval of Local Ethics Committee of Animal Experiments of Trakya University (Annex 1).

Rats were divided into 4 groups, Control group: Spine fusion control group (Spinal Fusion applied without oral pregabalin given), group D10: Low dose pregabalin group (Spinal fusion applied and 10 mg / kg oral pregabalin was given for 6 weeks), D30 group: Medium dose pregabalin (Spine fusion applied and 30 mg / kg oral pregabalin was given for 6 weeks), D100 group: high dose pregabalin group (Spine fusion applied and 100 mg / kg oral pregabalin was given for 6 weeks).

The control group was followed as a control group for rats in group D10, D30 and D100. The rats in group D10 was considered as low dose pregabalinized spine fusion model, the rats in group D30 was considered as medium dose pregabalinized spine fusion model and the rats in group D100 was considered as high dose pregabalinized spine fusion model.

As a model of vertebral fusion, all rats were incised with a midline lumbar posterior longitudinal incision and the intertransverse regions of the L4-L5 vertebrae were decorticated and fused. Thereafter, the rats in the D10 group were followed for 6 weeks by placing 10 mg / kg pregabalin into drinking water; rats in the D30 group were followed for 6 weeks by placing 30 mg/kg pregabalin into the drinking water and rats in the D100 group were followed for 6

weeks by placing pregabalin at 100 mg / kg into drinking water; the control group did not get any medication and was followed for 6 weeks. After 6 weeks of surgery, all rats were sacrificed by high dose anesthesia following radiography under anesthesia. All rats' lumbar vertebrae were excised and left for histological investigation after the examination with manual palpation.

The result of assesment by manuel palpation showed significant reduction on fusion rates in rats given high-dose pregabalin. This result suggested that administration of high dose pregabalin inhibited spine fusion in rats. As a result of the radiologic examination, it was observed that the reduction of scores in rats given high dose pregabalin was statistically significant; but there was no statistically significant difference between the groups in terms of the fusion ratio. Histological rxamination revealed that the fibroblast density, neovascularization scores and new bone formation scores in the D10 group and control group was statistically significantly higher than the D30 and D100 group; however the inflammation cell count were higher in D30 in a statistically significant manner.

According to our study showed that long time high dose pregabalin treatment on patients who are in early terms of spinal fusion surgery has risk of fusion failure. however the results in our study reveals that there is need for studies with more animals.

Keywords: Spine fusion, Pregabalin, Neuropathic pain.

KAYNAKLAR

1. Yıldırım M. Lokomotor Sistem Anatomisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2003.
2. Hunt HR. A Laboratory Manual of the Anatomy of the Rat. New York: The Macmillan Company, 1924.
3. Bawa M, Schimizzi AL, Leek B, Bono CM, Massie JB, Macias B et al. Paraspinal muscle vasculature contributes to posterolateral spinal fusion. Spine. 2006;31(8):891-6.
4. Albee FH. Transplantation of a portion of the tibia into the spine for Pott's disease: a preliminary report 1911. Clinical orthopaedics and related research. 2007;460:14-6.
5. Hibbs RA. An operation for progressive spinal deformities: a preliminary report of three cases from the service of the orthopaedic hospital. 1911. Clinical orthopaedics and related research. 2007;460:17-20.
6. Öke MK. Mal de Pott, traite par l'operation D'albee. Gazette Medicale d'Orient. 1925(70):996.
7. Burhaneddin. Spodiylitte opere par la methode D'albee. Gazette Medicae d'Orient. 1926;(71):1118.
8. Onaran S. Kahillerde Mal de pott'un tedavisi. Türk Tıp Cemiyeti Mecmuası. 1942;8:178-19.
9. Camillo FX (2008) Arthrodesis of the Spine. Canale ST (Ed), Beaty JH (Ed). Campbell's Operative Orthopaedics 11th Edition. Philadelphia: Mosby Elsevier; 2008: 1851-73.
10. Şanel S, Solakoğlu C. Omurga füzyonlarında uygulanan Greftler, Teknikler ve Sonuçları. Ed. Altun N, Yazar T, Benli İT. Dejeneratif Omurga Hastalıkları Türk Omurga Derneği Yayınları, Ankara, 2016:785-820.

11. Derman PB, Albert TJ. Interbody Fusion Techniques in the Surgical Management of Degenerative Lumbar Spondylolisthesis *Curr Rev Musculoskelet Med* 2017;10(4):530–8.
12. Treede RD. Consensus statement on redefinition of neuropathic pain and a proposal for a grading system. *Euro J Pain* 2007;11:1-57.
13. Tan AA, Erbaş T, Ertuş M, Hepgüler S, Kiraz S, Oşar Şiva Z ve ark. Nöropatik ağrı tanı ve tedavi kılavuzu. İstanbul, Nöropatik ağrı platformu; 2013.
14. Baron R, Binder A, Wasner G. Neuropathic pain: Diagnosis, pathophysiologic mechanisms and treatment. *Lancet Neurol* 2010;9:807-19.
15. Memeo A, Loieiro M. Thiocctic acid and acetyl-L-carnitine in treatment of sciatic pain caused by a herniated disc. *Clin Drug Invest* 2008;28:495-500.
16. Bastrup C, Finnerup NB. Pharmacological Management of Neuropathic Pain Following Spinal Cord Injury. *CNS Drugs* 2008;22:455-75.
17. Tzellos TG, Papazisis G, Amaniti E, Kouveloas D. Efficacy of pregabalin and gabapentin for neuropathic pain in spinal cord injury: an evidence based evaluation of the literature. *Eur J Clin Pharmacol*. 2008;64:851-8.
18. Attal N, Cruccu G, Baron R, Haanpaa M, Hansson p, Jensen TS, Nurmikko T; EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain. 2010 revision. *Eur J Neurol* 2010;17(9):1113-e88.
19. Siddall PJ. Management of neuropathic pain following spinal cord injury: Now and in the future. *Spinal cord* 2009;47(5):352-9.
20. Field MJ, Li Z, Schwarz JB. Ca²⁺ channel alpha2-delta ligands for the treatment of neuropathic pain. *J Med Chem* 2007;50:2569–75.
21. Tassone, D.M., Boyce, E., Guyer, J., Nuzum, D. Pregabalin: a novel gamma-aminobutyric acid analogue in the treatment of neuropathic pain, partial-onset seizures, and anxiety disorders. *Clin Ther* 2007;29:26-48.
22. Shibahara, H., Ando, A., Suzuki, S., Uematsu, N., Nishimura, D. Oxycodone and pregabalin using transdermal fentanyl patch provided relief of symptoms for postherpetic neuropathic pain in a patient with non-small cell lung cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 2011;38:1675-7.
23. Shibahara, H., Okubo, K., Takeshita, N., Nishimura, D. [Medical treatment including pregabalin and radiation therapy provided remarkable relief for neuropathic pain by brachial plexus invasion in a patient with esophageal cancer]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2012;39:277-80.
24. Freynhagen, R., Strojek, K., Griesing, T., Whalen, E., Balkenohl, M. Efficacy of pregabalin in neuropathic pain evaluated in a 12- week, randomised, double-blind, multicentre, placebo-controlled trial of flexible- and fixed-dose regimens. *Pain* 2005;115:254-63.

25. Verma V, Singh N, Jaggi AS. Pregabalin in Neuropathic Pain: Evidences and Possible Mechanisms. *Curr Neuropharmacol* 2014;12(1):44–56.
26. Jokela, R., Ahonen, J., Tallgren, M., Haanpää, M., Korttila, K. A randomized controlled trial of perioperative administration of pregabalin for pain after laparoscopic hysterectomy. *Pain* 2008;134:106-12.
27. Zaccara ,G., Perucca, P., Gangemi, P.F. The adverse event profile of pregabalin across different disorders: a meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol* 2012;68:903-12.
28. Ben-Menachem, E. Pregabalin pharmacology and its relevance to clinical practice. *Epilepsia* 2004;45(6):13-8.
29. Zhuchenko O, Bailey J, Bonnen P, Ashizawa T, Stockton DW, Amos C., Dobyns WB, Subramony SH, Zoghbi HY, Lee CC. Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the alpha 1A-voltage-dependent calcium channel. *Nat Genet* 1997;15:62-9.
30. Liao, Y.J., Safa, P., Chen, Y.R., Sobel, R.A., Boyden, E.S., Tsien, R.W. Anti-Ca²⁺-channel antibody attenuates Ca²⁺ currents and mimics cerebellar ataxia in vivo. *Proc Nat Acad Sci* 2008;105:2705-10.
31. Nakagawasai, O., Onogi, H., Mitazaki, S., Sato, A., Watanabe, K., Saito, H et al. Behavioral and neurochemical characterization of mice deficient in the N-type Ca²⁺-channel alpha1B. *Behav Brain Res* 2010;208(1):224-30.
32. Murphy, N., Mockler, M., Ryder, M., Ledwidge, M., McDonald, K. Decompensation of chronic heart failure associated with pregabalin in patients with neuropathic pain. *J Card Fail* 2007;13(3):227-9.
33. Aksakal, E., Bakirci, E.M., Emet, M., Uzkeser, M. Complete atrioventricular block due to overdose of pregabalin. *Am J Emerg Med* 2012;30(9):2101.
34. Soares, A.C., Leite, R., Tatsuo, M.A., Duarte, I.D. Activation of ATP-sensitive K⁺-channels: mechanism of peripheral antinociceptive action of the nitric oxide donor, sodium nitroprusside. *Eur J Pharmacol* 2000;400:67-71.
35. Lanneau, C., Green, A., Hirst, W.D., Wise, A., Brown, J.T., Donnier, E et al. Pangalos, M.N. Gabapentin is not a GABAB receptor agonist. *Neuropharmacol* 2001;41:965-75.
36. . Fehrenbacher, J.C., Taylor, C.P., Vasko, M.R. Pregabalin and gabapentin reduce release of substance P and CGRP from rat spinal tissues only after inflammation or activation of protein kinase C. *Pain* 2003;105:133-41.
37. Ha, K.Y., Kim, Y.H., Rhyu, K.W., Kwon, S.E. Pregabalin as a neuroprotector after spinal cord injury in rats. *Eur Spine J* 2008;17:864-72.
38. Park, S., Ahn, E.S., Han, D.W., Lee, J.H., Min, K.T., Kim, H., Hong, Y.W. Pregabalin and gabapentin inhibit substance P-induced NF-kappaB activation in neuroblastoma and glioma cells. *J. Cell Biochem.*, 2008;105:414-23.

39. Wang JC, Kanim LE, Yoo S, Campbell P, Berk A, Lieberman J. Effect of regional gene therapy with bone morphogenetic protein-2-producing bone marrow cells on spinal fusion in rats. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85-A(5):905-11.
40. Gezici AR, Ergün R, Gürel K, Yılmaz F, Okay Ö, Bozdoğan Ö The effect of risedronate on posterior lateral spinal fusion in a rat model. *J Korean Neurosurg Soc* 2009;46(1):45-51.
41. Emery SE, Brazinski MS, Koka A, Bensusan JS, Stevenson S The biological and biomechanical effects of irradiation on anterior spinal bone grafts in a canine model. *J Bone Joint Surg Am* 1994;76(4):540-8.
42. Kıter E, Er E, Şen Türk N, Oto M, Akkaya S . Efficacy of 5-Fluorouracil in inhibition of unintended bone formation in spinal surgery: a histological evaluation on a rat model of spontaneous spinal fusion. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2014;48(1):86-91.
43. He Y, Revel M, Loty B. A quantitative model of post-laminectomy scar formation. Effects of a nonsteroidal antiinflammatory drug. *Spine* 1995;20:557-63.
44. Salamon ML, Althausen PL, Gupta MC, Laubach J. The effects of BMP- 7 in a rat posterolateral intertransverse process fusion model. *Journal of spinal disorders & techniques*. 2003;16(1):90-5.
45. Cho DC, Ryu K, Kim KT, Sung JK. The Therapeutic Effects of Combination Therapy with Curcumin and Alendronate on Spine Fusion Surgery in the Ovariectomized Rats. *Korean J Spine*. 2017;14(2):35-40.
46. Diwan AD, Khan SN, Cammisa FP Jr, Sandhu HS, Lane JM . Nitric oxide modulates recombinant human bone morphogenetic protein-2-induced corticocancellous autograft incorporation: a study in rat intertransverse fusion *Eur Spine J* 2010;19(6):931-9.
47. Boden SD, Schimandle JH, Hutton WC. 1995 Volvo Award in basic sciences. The use of an osteoinductive growth factor for lumbar spinal fusion. Part II: Study of dose, carrier, and species. *Spine* 1995;20(24):2633-44.
48. Editorial: EMEA Scientific Discussion http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Scientific_Discussion/human/000546/WC500046600.pdf 29.11.2017 tarihinde erişilmiştir.
49. Schimandle J, Boden S, Hutton W. Experimental spinal fusion with recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Spine* 1995;20(12):1326-37.
50. Grauer J, Patel T, Erulkar J, Troiano N, Panjabi M, Friedlaender G. Evaluation of OP 1 as a graft substitute for intertransverse process lumbar fusion. *Spine* 2001;26(2):127-133.
51. Bomback D, Grauer J, Lugo R, Troiano N, Patel T, Friedlaender G. Comparison of posterolateral lumbar fusion rates of grafton putty and op-1 putty in an athymic rat model. *Spine* 2004;29(15):1612-7.

52. Sandhu HS, Khan S, Suh D, Boden S. Demineralized bone matrix, bone morphogenetic proteins, and animal models of spine fusion: an overview. *Eur Spine J* 2001;10(2):122-31.
53. Carano RAD, Filvaroff EH. Angiogenesis and bone repair. *Drug Discov Today* 2003;8(21):980–9.
54. Nunes EA, Canever L, Oliveira L et al. Effects of pregabalin on behavioral alterations induced by ketamine in rats. *Rev Bras Psiquiatr* 2012;34:329-33.
55. Chen RW, Liu H, An JX et al. Cognitive effects of electro-acupuncture and pregabalin in a trigeminal neuralgia rat model induced by cobra venom. *J Pain Res* 2017;10:1887-97.



EKLER



Ek 1



T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(Trakya University, Local Ethics Committee of Animal Experiments)

Oturum Sayısı: 2016/04

Karar Tarihi: 28.03.2016

KARAR NO: 2016.04.03

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Mert ÇİFTDEMİR'in yaptığı, Araş.Gör.Dr. Erdi İMRE'nin uzmanlık tezi olarak planlanan TÜHADYEK-2016/24 protokol nolu "Ratlarda vertebra füzyonu üzerinde pregabalinin etkisi" başlıklı çalışmanın değişiklik önerisi görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergelerinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Doç. Dr. Enis ULUÇAM
Başkan
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Vet. Hekim Ziya ÇUKUR
Vet. Hek. Üye
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

-İZİMLİ-

Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

-İZİMLİ-

Doç. Dr. Y. Atakan SEZER
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Doç. Dr. Tevfik AKTOZ
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Doç. Dr. Hakan GÜRKAN
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Yrd. Doç. Dr. Elvan BAKAR
Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

Ecz. F. Uygur GÜLER
Sivil Toplum Kuruluşu Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır

-MARELETİ-

Osman GÜLTEKİN
Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: var yok
Toplantı Katılım: evet hayır