



T.C.

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

**RATLARDA LAMİNEKTOMİ SONRASI GELİŞEN
PERİDURAL FİBROZİSİN ÖNLENMESİNDE TRAMADOL VE
LEVETİRASETAM ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. İbrahim Umud BULUT

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ulaş YÜKSEL

KIRIKKALE-2022



T.C.

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

**RATLARDA LAMİNEKTOMİ SONRASI GELİŞEN
PERİDURAL FİBROZİSİN ÖNLENMESİNDE TRAMADOL VE
LEVETİRASETAM ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. İbrahim Umud BULUT

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ulaş YÜKSEL

KIRIKKALE-2022

TUTANAKTIR

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan Araştırma Görevlisi Dr. İbrahim Umud BULUT'un "Ratlarda laminektomi sonrası gelişen peridural fibrozisin önlenmesinde tramadol ve levetirasetam etkilerinin araştırılması " isimli uzmanlık tezinin savunması, Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliği'nin 19. Maddesinin 5. Fıkrası, ***“Jüri en geç bir ay içerisinde tezi inceler, uzmanlık öğrencisinin tez savunmasını sözlü olarak yaptırır ve sonucunu yazılı ve gerekçeli olarak uzmanlık öğrencisi ile eğitim sorumlusuna bildirir”*** hükmü gereğince Araştırma Görevlisi Dr. İbrahim Umud BULUT tarafından gerçekleştirilmiş, bu savunma sonunda uzmanlık eğitimi tezinde başarılı bulunmuştur.

Tez Savunma Tarihi: 28.12.2022

ÜYE

Doç. Dr. Mustafa ÖĞDEN

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı

ÜYE

Doç. Dr. Ulaş YÜKSEL

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı

ÜYE

(Kurum Dışından Üye)

Dr. Öğr. Üyesi Egemen NURSOY

Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi

Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı

ETİK BEYANI

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasına;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve belgeleri akademik etik kuralları çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Dr. İbrahim Umud BULUT

28.12.2022

ÖZET

Bulut İU, Ratlarda Laminektomi Sonrası Gelişen Peridural Fibrozisin Önlenmesinde Tramadol ve Levetirasetam Etkilerinin Araştırılması, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji AD Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2022.

Amaç: Ameliyat sonrası geç dönemde oluşan peridural fibrosiz dokusu nöral oluşumların ve sinir köklerinin etrafını sarıp radiküler semptomlara ve bu semptomlara yönelik yeniden o bölgeye cerrahi girişim uygulama zorunluluğuna neden olabilir. Peridural skar dokusu yeniden ameliyat yapılması zorunluluğu ortaya çıktığında dura ve sinir kökü yaralanması gibi komplikasyonların riskini artırır. Peridural fibrozisi önleyebilmek veya düzeltebilmek için birçok ilaç ve yöntem denenmiş ancak etkinliği kabul edilmiş bir tedavi metodu henüz oluşturulamamıştır. Bu çalışmada tramadol hidroklorür ve levetirasetam isimli farmakolojik ajanların ratlarda oluşturulan peridural fibrozisi önlemeye yönelik etkileri araştırıldı.

Metod: Çalışmada 32 tane 300-350 gr ağırlığında erkek Wistar albino rat şu şekilde gruplara ayrıldı: Sham grubu (cerrahi girişim uygulandı ve hiçbir farmakolojik ajan verilmedi, n=6+2); MP grubu (cerrahi girişim uygulandı ve 14 gün süreyle 10 mg/kg/gün metilprednizolon sodyum süksinat intraperitoneal verildi; n=6+2); TRA grubu (cerrahi girişim uygulandı ve 14 gün süreyle 0,6 mg/kg/gün tramadol hidroklorür intraperitoneal verildi; n=6+2); LEV grubu (cerrahi girişim uygulandı ve 14 gün süreyle 15 mg/kg/gün levetirasetam intraperitoneal verildi; n=6+2). Sedasyon anestezi altında tüm deneklere torakal 9, 10 ve 11 standart laminektomi uygulandı ve ardından 14 gün süreyle ilaç tedavileri uygulandı. Cerrahi işleminden 4 hafta sonra tüm hayvanlara ötenazi uygulanıp omurgaları blok şekilde çıkarılıp laminektomi alanının ortasından geçecek şekilde ikiye bölündü. Proksimal parça histopatolojik incelemeler ve distal parça biyokimyasal incelemeler için saklandı.

Bulgular: Histopatolojik preparatlarda hemotoksilen eozin boyama kullanılarak peridural fibrozisin yoğunluğu ve Masson-Trikrom boyama kullanılarak oluşan kollajenin yoğunluğu derecelendirildi. İmmünohistokimyasal preparatlarda COL1A1 ve ACTA2 boyama yapılarak kollajen ve α -SMA yoğunlukları derecelendirildi. ELISA yöntemi kullanılarak TNF- α , IL-6, TGF- β , CTGF, kaspaz 3,

GSH/GSSG düzeyleri saptandı. Western blot tekniği kullanılarak pAMPK, mTOR, pmTOR ve pmTOR/mTOR düzeyleri ölçüldü. Histopatolojik incelemelerde peridural fibrozis düzeyinin en fazla Sham ve LEV grubunda olduğu; TRA ve MP gruplarında ise daha düşük düzeyde olduğu saptandı. Masson-Trikrom boyamada Sham ve LEV gruplarındaki kollajen yoğunluk derecelerinin MP ve TRA gruplarına göre fazla olduğu görüldü. İmmunhistokimyasal boyama sonrası Sham ve LEV gruplarında ölçülen COL1A1 H-SCORE değerlerinin MP ve TRA gruplarından daha yüksek olduğu saptandı. ACTA2 için H-SCORE değerlerinin gruplar arasında farklı olmadığı saptandı. Biyokimyasal incelemelerde TNF- α , IL-6, GSH/GSSH, kaspaz-3, TGF β 1 ve CTGF düzeylerinin Sham-MP, Sham-ELP, Sham-OXT, MP-ELP, MP-OXT ve ELP-OXT grupları arasında farklı olduğu görüldü. Western blot analizleri sonunda p-AMPK değerlerinin Sham-MP, Sham-TRA ve Sham-LEV grupları arasında farklı olduğu görüldü. pmTOR ve pmTOR/ mTOR değerlerinin Sham-MP, Sham-TRA, Sham-LEV, MP-TRA ve MP-LEV grupları arasında farklı olduğu saptandı. mTOR değerlerinin Sham-MP, Sham-TRA, Sham-LEV ve TRA-LEV grupları arasında farklı olduğu bulundu. Histopatolojik ve immünhistokimyasal incelemeler sonunda metilprednizolon ve tramadolun peridural fibrozis derecelerini, kollajen yoğunluk düzeylerini ve kollajen oluşumunu azaltabildikleri saptandı. Her üç ajanın da TNF, IL-6, kaspaz-3, TGF β ve CTGF düzeylerini azaltarak peridural fibrozisi azaltmada antienflamatuar ve antiapoptotik etkinliklerinin olduğu görüldü. Her üç ajanın da GSH/ GSSG düzeylerini arttırarak antioksidan etkinlik gösterdiği saptandı. Her üç ajanın da pAMPK değerlerini arttırarak, pmTOR düzeylerini azaltarak otofajiyi ve buna bağlı dokunun rejenerasyonunu artırdığı ve böylece peridural fibrozisi azalttıkları bulundu.

Sonuç: Sonuç olarak her üç ajanın da antienflamatuar, antioksidan, antiapoptotik ve güçlü otofaji ilişkili doku rejenerasyonu etkilerinin olduğu ve bu etkileri sayesinde ratlarda uygulanan laminektomi modelinde oluşan peridural fibrozisi azaltabildikleri bulundu.

Anahtar kelimeler: Peridural, Epidural, Fibrozis, Post-laminektomi, Postoperatif, Spinal, Adezyon, Nöroşirurji, Laminektomi, Dura, Bariyer

Destekleyen Kurumlar: Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje (BAP) Koordinasyon Birimi (BAP Numarası: 2021/ 004)

ABSTRACT

Bulut, IU, Investigation of the Effects of Tramadol and Levetiracetam in Prevention of Peridural Fibrosis After Laminectomy in Rats, Kırıkkale University, Faculty of Medicine, Department of Neurosurgery, Specialization Thesis, Kırıkkale, 2022.

Purpose: Peridural fibrosis tissue, which occurs in the late postoperative period, may cover the neural tissues and nerve roots and cause radicular symptoms and the necessity of applying surgical intervention to that area for these symptoms. Peridural scar tissue increases the risk of complications such as dural and nerve root injury when reoperation is required. Many drugs and methods have been tried to prevent or reduce peridural fibrosis, but a treatment method whose effectiveness has been accepted has not been established yet. This study investigated the effects of tramadol hydrochloride and levetiracetam on preventing peridural fibrosis in rats.

Method: In this study, 32 male Wistar albino rats weighing 300-350 g were divided into groups as follows: Sham group (surgical intervention was performed but no pharmacological agent was administered, n=6+2); MP group (surgical intervention was performed and 10 mg/kg/day methylprednisolone sodium succinate was administered intraperitoneally for 14 days; n=6+2); TRA group (surgical intervention was performed and 0.6 mg/kg/day tramadol hydrochloride was administered intraperitoneally for 14 days; n=6+2); and LEV group (surgical intervention was performed and 15 mg/kg/day levetiracetam was administered intraperitoneally for 14 days; n=6+2). Thoracic 9, 10, and 11 standard laminectomies were performed on all subjects under sedation anesthesia, followed by drug treatments for 14 days. Four weeks after the surgical intervention, all animals were euthanized and their spinal columns removed as a block, divided into two parts passing through the middle of the laminectomy area. The proximal part was used for histopathological evaluations and the distal part for biochemical investigations.

Results: In histopathological specimens, the intensity of peridural fibrosis was graded using hematoxylin-eosin staining and the density of collagen was graded using Masson-Trichrome staining. In immunohistochemical specimens, collagen and

alpha-SMA densities were graded by staining with COL1A1 and ACTA2, respectively. TNF- α , IL-6, TGF- β , CTGF, caspase-3, and GSH/GSSG levels were determined using the ELISA method. The levels of pAMPK, mTOR, pmTOR, and mTOR/p-mTOR were measured using the western blot.

Histopathological and immunohistochemical evaluations revealed that methylprednisolone and tramadol were able to reduce the degree of peridural fibrosis, collagen density levels, and collagen formation. All three agents showed anti-inflammatory and antiapoptotic properties in reducing peridural fibrosis by decreasing TNF, IL-6, caspase-3, TGF β , and CTGF levels. Additionally, they also showed antioxidant activity by increasing GSH/GSSG levels. Finally, they maintained autophagy and related tissue regeneration in reducing peridural fibrosis by increasing pAMPK values and decreasing pmTOR levels.

Conclusion: In conclusion, it was concluded that all three agents have anti-inflammatory, antioxidant, anti-apoptotic, and autophagy-related tissue regeneration properties, and thanks to these effects, they can reduce peridural fibrosis in the laminectomy model in rats.

Keywords: Peridural, Epidural, Fibrosis, Post-laminectomy, Postoperative, Spinal, Adhesion, Neurosurgery, Laminectomy, Dura, Barrier

Supporting Institutions: Kırıkkale University Scientific Research Project (BAP) Coordination Unit (BAP Number: 2021/ 004)

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecinde bilgi ve birikimlerini bana aktaran çok değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet Faik Özveren'e, Prof. Dr. Bülent BAKAR'a, Doç. Dr. Mustafa Öğden'e ve Doç. Dr. Ulaş YÜKSEL'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez danışmanlığımı yapan Doç. Dr. Ulaş YÜKSEL'e ve uzmanlık tezimin her aşamasında desteği ve katkılarından dolayı Prof. Dr. Bülent BAKAR'a ve Op. Dr. Mustafa İlker KARAGEDİK'e özellikle teşekkürlerimi sunarım.

Bu tezin hazırlanmasındaki değerli katkılarından dolayı Dr. Öğretim Üyesi Bahar KARTAL'a ve Prof. Dr. Aslı Fahriye CEYLAN'a teşekkür ederim.

Kısa süre de olsa çalışma fırsatı bulduğum, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Dr. Öğr. Üyesi Egemen NURSOY'a teşekkür ederim.

Birlikte çalışmayı hep özleyeceğim çok değerli arkadaşlarım Op. Dr. Süleyman AKKAYA'ya, Op. Dr. Alemiddin ÖZDEMİR'e, Op. Dr. Mustafa İlker KARAGEDİK'e, Dr. Mohammed A.A. TOS'a ve Dr. Ahmet Melih ERDOĞAN'a çok teşekkür ederim.

Birlikte çalıştığımız hemşire, personel ve sekreter arkadaşlarıma desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde en büyük emeğe sahip olan sevgili annem Hayriye BULUT'a ve babam Bayram BULUT'a, doktorluk mesleğini seçmemde ve sonrasında her daim yanımda olan, izinden yürümeye çalıştığım ablam Doç. Dr. Sercan BULUT ÇELİK'e, bu tezin hazırlanmasında geçen zamanda üzülerek ihmal etmek zorunda kaldığım canlarım Nupel Meva'ma ve Eyüp Renas'ıma, tabi ki sevgisi ve desteğiyle her zaman yanımda olan çok değerli sevgili eşim Hatice BULUT'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu uzmanlık tezi Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2021/004 numaralı bilimsel araştırma projesi olarak kabul edilmiş ve finansal olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	IV
ABSTRACT	VI
TEŞEKKÜR.....	VIII
İÇİNDEKİLER.....	IX
TABLolar DİZİNİ	XI
RESİMLER DİZİNİ.....	XII
GRAFİKLER DİZİNİ.....	XIII
KISALTMALAR DİZİNİ.....	XIV
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Yara İyileşmesi	3
2.2. Akut İnflamasyon	3
2.2.1. İnflamatuar Faz	3
2.2.2. Proliferasyon Fazı	5
2.2.3. Matürasyon Fazı	6
2.3. Kronik İnflamasyon	7
2.3.1. Hipertrofik Skar	8
2.4. Peridural Fibrozis ve Bu Fibrozisi Önlemede Kullanılan Bazı Metotlar	8
2.4.1. Peridural Fibrozis	8
3. MATERYAL VE METOT	14
3.1. Materyal	14

3.2. Metot.....	15
3.2.1. Cerrahi Uygulama	15
3.2.2. Histopatolojik İnceleme	16
3.2.3. İmmunohistokimyasal İnceleme	17
3.2.4. Enzyme Linked İmmunoabsorbent Assay (ELİSA)	18
3.2.5. Western Blot	18
3.2.6. İstatistiksel Analiz.....	19
4. BULGULAR	20
4.1. Histopatolojik İnceleme Bulguları.....	20
4.2. İmmünohistokimyasal İnceleme Bulguları.....	23
4.3. Biyokimyasal İnceleme Bulguları	26
4.3.1. Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA) Analizi.....	26
4.3.2. Western Blot Analizi.....	29
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇLAR.....	38
7. KAYNAKÇA	39
8. EKLER	55
Ek-1 Etik Kurul Kararı	56
Ek-2 Bilimsel Araştırma Projesi Öneri Formu	60
Ek-3 iThenticate İntihal Değerlendirme Raporu	61
9. ÖZGEÇMİŞ	65

TABLolar DİZİNİ

Tablo 3.1 Histopatolojik derecelendirme tablosu	16
Tablo 3.2 Fibroblast hücre yoğunluğunun Hinton kriterlerine göre derecelendirilmesi	17
Tablo 4.1 Histopatolojik inceleme bulgularının istatistiksel analiz sonuçları	21
Tablo 4.2 Histopatolojik inceleme bulgularının ikili grup karşılaştırma istatistiksel analiz sonuçları	22
Tablo 4.3 İmmunhistokimyasal bulguların grup karşılaştırmalarına ait istatistiksel analiz sonuçları	25
Tablo 4.4 İmmunhistokimyasal analiz bulguların istatistiksel analiz sonuçları ...	25
Tablo 4.5 Tüm grupların ELISA yöntemiyle elde edilen biyokimyasal inceleme sonuçlarının istatistiksel analizi	27
Tablo 4.6 Biyokimyasal analiz bulgularının ikili grup karşılaştırmalarına ait istatistiksel analiz sonuçları	28
Tablo 4.7 Tüm grupların western blot yöntemi kullanılarak elde edilen biyokimyasal sonuçlarının istatistiksel analizi	29
Tablo 4.8 Western blot analiz bulgularının ikili grup karşılaştırmalarına ait istatistiksel analiz sonuçları	30

RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1 Cerrahi prosedür. Soldan sağa doğru cerrahi hazırlık, laminektomi, yara kapatılması, postoperatif nörolojik muayenesi doğal rat.....	15
Resim 4.1 Epidural fibrosiz düzeylerinin karşılaştırmalı histopatolojik inceleme bulguları (HEx10, HEx40).....	20
Resim 4.2 Epidural fibrosiz düzeylerinin karşılaştırmalı histopatolojik inceleme bulguları (MTSx10, MTSx40).....	21
Resim 4.3 Epidural fibrosiz düzeylerinin karşılaştırmalı immünohistokimyasal inceleme bulguları (COL1x10, COL1x40).....	24
Resim 4.4 Epidural fibrosiz düzeylerinin karşılaştırmalı immünohistokimyasal inceleme bulguları (ACTA2x10, ACTA2x40).....	24

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 4.1 Hematoksilen ve eozin boyama sonrası epidural fibrozis derecelerinin gruplar arasında dağılım grafiği	22
Grafik 4.2 Masson Trikrom boyama sonrası kollajen yoğunluk derecelerinin gruplar arasında dağılım grafiği	23
Grafik 4.3 Fibroblast derecelerinin gruplar arasında dağılım grafiği.....	23
Grafik 4.4 Gruplara ait COL1A1 H-SCORE değerlerinin grafiği	26
Grafik 4.5 Gruplara ait ACTA-2 H-SCORE değerlerinin grafiği	26
Grafik 4.6 Gruplara ait biyokimyasal inceleme sonuçlarının grafiği.....	27
Grafik 4.7 Tüm gruplara ait western blot inceleme sonuçlarının grafikleri.....	31

KISALTMALAR DİZİNİ

α -SMA	Aktin- α -2, alfa düz kas aktini
ACTA2	Aktin- α -2, alfa düz kas aktini
Akt	Protein kinaz B
ALL	Anterior longitudinal ligament
AMPK	Adenozin mono fosfat aktive edici protein kinaz
ATP	Adenozin trifosfat
BAP	Bilimsel araştırma projeleri
BOS	Beyin omurilik sıvısı
C3a	Aktive edilmiş kompleman-3
C5	Kompleman-5
CLR	C-tipi lektin reseptörleri
CTGF	Bağ doku büyüme faktörü
DAB	3,3'-diaminobenzidin
DAMPs	Hasarla ilişkili moleküler paternler
DNA	Deoksi ribonükleik asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EF	Epidural fibrozis
EGF	Epidermal büyüme faktörü
ELISA	Enzim bağlı immün emici tahlil
FAK	Fokal adezyon kinaz
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
GAPDH	Gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz
GpIIb/IIIa	Glukoprotein 2b-3a

GSSG	Oksitlenmiş glutatyon
GSH	İndirgenmiş glutatyon
H&E	Hematoksilen-eosin
HCl	Hidroklorik asit
ICAM-1	İnterselüler adezyon molekülü-1
IL1	İnterlökin-1
IL-1 β	İnterlökin-1 β
IL-6	İnterlökin-6
IL-10	İnterlökin-10
INF- γ	İnterferon gamma
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
JAK/STAT	Janus kinaz/Sinyal iletici ve aktive edici transkripsiyon proteini
JNK	c-Jun N-terminal kinaz
K ⁺	Potasyum iyonu
LFA-1	Lökosit fonksiyon ilişkili antijen 1
LTB ₄	Lökotrien B ₄
MAC-1	Makrofaj 1 antijen
MAPK	Mitojenle aktive edilen protein kinaz
MMP	Matriks metalloproteinazlar
MP	Metilprednizolon grubu
MPO	Miyeloperoksidaz
mTOR	Memeli rapamisin hedefi
MTORC1	mTOR kompleks 1
MTORC2	mTOR kompleks 2
MTS	Masson-Trikrom boyama

MyD88	Myeloid farklılaşma faktörü-88
NF-κB	Nükleer faktör kappa b
NADH	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
NO	Nitrik oksit
NLR	Nükleotid bağlı oligomerizasyon domaini benzeri reseptör
NOD	Nükleotid bağlı oligomerizasyon domaini
NOS	Nitrik oksit sentetaz
p-mTOR	Fosforile memeli rapamisin hedefi
pAMPK	Fosforile adenosin mono fosfat aktive edici protein kinaz
PAF	Trombosit aktive edici faktör
PAMPs	Patojenlerle ilişkili moleküler paternler
PDGF	Trombosit-kökenli-büyüme-faktörü
PECAM-1	Platelet endotelial hücre adezyon molekülü 1
PGE2	Prostaglandin-E 2
PGF2α	Prostaglandin-F 2 alfa
PI3K	Fosfatidilinozitol 3 kinaz
PLL	Posterior longitudinal ligament
PRRs	Patern tanıyıcı reseptör
RIG	Retinoik asit indüklenebilir gen
RLR	Retinoik asit indüklenebilir gen-1 benzeri reseptör
SMAD3	SMAD ailesi üyesi 3
T-GSH	Total glutatyon
TAK	Transforme edici büyüme faktörü ile aktive olan kinaz
TEBS	Tedavi edilememiş bel sendromu
TGF-β	Transforme edici büyüme faktörü beta

TGF1 β	Transforme edici büyüme faktörü beta 1
TLR	Toll-like reseptör
TNF- α	Tümör nekroz faktörü alfa
TXA2	Tromboksan-A2
VCAM-1	Vasküler hücre adezyon molekülü 1
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VLA-4	Çok geç antijen 4
vWF	vonWillebrand-Faktör



1. GİRİŞ

Dokuların bütünlüğü ve işleyişinin bozulmasına yara, bozulmuş doku bütünlüğünün tekrardan kazanılmasına ve işleyişin sağlanmasına ise yara iyileşmesi denir. [1] Yara iyileşmesi, ameliyat sonrası dokuların anatomik yapısının korunmasında oldukça önemlidir. Cerrahi travma sonrası istenen yara iyileşmesi cerrahi girişim öncesine en çok benzeyen anatomik bütünlüktür. Hastanın yaşı, kronik hastalıkları, kullandığı ilaçlar, beslenme durumu gibi sistemik faktörlerin yanı sıra dokunun kan akımı, yara yerinde yabancı cisim varlığı, enfeksiyon, uygulanan cerrahi teknik gibi lokal faktörler de yara iyileşmesini etkiler. [2-4] Cerrahi travma sonrasında cerrahi alanda bağ ve kan dokusu bileşenleriyle yeni bir skar yani nedbe dokusu oluşmaktadır. [5,6] Omurgaya uygulanan cerrahi girişimler sonrası oluşan skar dokusuna “peridural fibrozis” adı verilir. Oluşmuş fibrotik skar dokusu nöral doku çevresinde adezyon oluşumuna neden olarak cerrahi girişim öncesinde mevcut olana benzer nöral sıkışma semptomları ortaya çıkarabilir. Bu sürecin sonunda ek cerrahi girişim(ler) gerekebilir ve girişimler hastada ciddi ve tehlikeli komplikasyonlara neden olabilir. [7] Peridural fibrozisin gelişmesinde lomber spinöz proçes ve laminanın alındığı bölgedeki kas dokusu kaynaklı fibroblastların ve cerrahi girişim esnasında oluşan kanamanın önemli rol oynadığı bilinmektedir. [8] Peridural fibrozis oluşma riskini en aza indirmek ve skar dokusunun fazla miktarda oluşmasını engellemek için bugüne kadar pek çok biyolojik ve medikal ajan kullanılmış ancak kesin başarı sağlayan net bir yöntem henüz bulunamamıştır. [7,9]

Günümüzde metilprednizolon halen hipertrofik skar oluşumunun önlenmesinde ve/ veya tedavisinde kullanılan ilk seçenek ilaçtır. Bu ajan büyüme faktörleri ve sitokin düzeylerini azaltarak monosit, fibroblast ve monositlerin aktive edilmesini önler ve böylece yara yerinde kollajen üretimini baskılar. Ancak bu immünsüpresif etkisi nedeni ile enfeksiyona yatkınlık oluşturduğu ve yara iyileşmesini geciktirdiği de bilinmektedir. [10-12] Ayrıca epitelyal migrasyonu ve kontraksiyonu baskıladığı ve yaranın tensil kuvvetini azalttığı da literatürde gösterilmiştir. [13-17]

Tramadol akut ve kronik ağrı tedavisinde kullanılan santral etkili bir opioid bileşiktir. Bu etkilerini “mu” ve “kappa” reseptörleri aracılığıyla yapmaktadır. Tramadolun bir takım sitokin ve kemokinlerin salınımını azaltarak ödem azaltıcı ve antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. [18,19] Yapılan son

Çalışmalarda “kappa” reseptörünün uyarılmasıyla immünsupresif etki ortaya çıkması arasında korelasyon olduğu gösterilmiş ve lökosit ve astrosit zarlarında da bu reseptörlerin varlığı ortaya konmuştur. Ancak bu anti-enflamatuar yollar bu çalışmalarda tam olarak açıklanmamıştır. [18] Diğer yandan tramadolun peridural fibrozis oluşumu üzerine olan etkileri hakkında literatürde henüz yeterli bilimsel veri bulunmamaktadır.

Antiepileptik bir ilaç olan levetirasetam α -etil-2-okso-1-pirolidin asetamidin S-enantiomeri, pirasetamın etil analogunun S-kimyasal bileşenidir. Antiepileptik diğer ilaçlarla kimyasal olarak benzememektedir. [20,21] Levetirasetamın N-tipi yüksek voltajlı kalsiyum kanallarını kapatıp hücre içi kalsiyum seviyesini azalttığı ve gamma- aminobutirik asit (GABA) ve glisin ile düzenlenen akımlardaki azalmayı tersine çevirdiği bilinmektedir. [20,22,23] Bazı hayvan deneylerinde levetirasetamın nöroprotektif etkileri bildirilmiştir. [24,25] Ratlarda yapılan çalışmalarda beyin hasarı sonrası levetirasetamın pozitif etkileri gösterilmiştir. [26] Oliver ve ark levetirasetamın ratlarda epilepsi sonrası hipokampüste oksidatif stresi azaltıldığını göstermişlerdir. [27] Kim ve ark levetirasetamın status epileptikustaki sıçanlarda beyin dokusunda apoptozisi ciddi anlamda önlediğini göstermişlerdir. [28]

Bu deneysel çalışma ratlarda oluşturulan laminektomi modelinde hem gelececek peridural fibrozisi azaltmada/ önlemede tramadol ve levetirasetam etkilerini araştırmak hem de bu ajanların peridural fibrozisi azaltmada/ önlemede metilprednizolona olan olası üstünlüklerini test etmek üzere yapıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara İyileşmesi

Yara, anatomik veya fonksiyonel olarak doku ya da organ bütünlüğünün, işleyişinin bozulması anlamına gelir. Dokunun anatomik bütünlüğü ve fonksiyonel özelliklerini tekrar kazanması sürecine yara iyileşmesi denilmektedir. [1,29] Yara iyileşmesi arzu edilen tam bir iyileşme halinde olmayabilir, tam bir rejenerasyonu olmayıp skar dokusu ile iyileşme gösteren fibrotik bir doku oluşabilir. Yara iyileşmesi, akut ve kronik şeklinde inflamasyon süreçleri ile iyileşme gösterebilir. [30]

2.2. Akut İnflamasyon

Yara iyileşmesinde akut inflamasyon sürecinde inflamasyon, proliferasyon ve matürasyon fazları rol alır.

2.2.1. İnflamatuvar Faz

Birinci aşamada; yaralanma sonrası yara yerindeki hasarlı damarlar büzüşür; tromboplastik ürünler ortama yayılmaya başlar. Hasarlı bölgede trombositler birleşerek tıkaç oluşturur. Ekstrinsik ve intrinsik pıhtılaşma sistemleri protrombini trombine dönüştürmeye başlar. Daha sonra aktive trombin, fibrinojeni fibrine çevirip trombus oluşumu ve nihayetinde hemostaz sağlanır.

Trombositler, inflamatuvar hücrelerden fibroblast aktivasyon faktörlerinin ve vazokonstriktörlerin sitoplazma dışına salıverilmesini sağlar. Nötrofiller bölgeye ilk gelmeye başlayan ve inflamasyonu başlatan inflamatuvar hücrelerdir. [30] Lökositler ilk önce damar duvarına hareket ederler (marginasyon), sonrasında damar endoteline tutunur ve yuvarlanır (rolling). Endotele tutunan lökositler, endotele yapışarak adezyonu gerçekleştirmiş olur. Adezyon, endotel dışındaki endotelial lökosit adezyon molekül-1 (ELAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), intersellüler adezyon molekül-1 (ICAM-1) ve CD34 ile lökositlerde bulunan reseptörlerin (sialyl Lewis X, L-selectin gibi) kaynaşması sonucu gerçekleşir. [31-34]

Adezyon sonrasında lökositler ortama kollejenaz salarak damar dışına hareket ederler (transmigasyon). Eozinofil, monosit, bazofil ve nötrofil benzer etki ile hareket ederler. Permeabilitenin artması sonucu lökositler ve proteinden zengin sıvı (eksudasyon) intertisyel aralığa çıkar. Damar dışına hareket eden lökositler kemotaktik ajanların sayesinde hasarlı bölgeye göç ederler (kemotaksi). Bazı lökosit reseptörlerine kemotaktik ajanların bağlanması ile lökositler aktive olur. Hasarlı bölgedeki lökositler lizozomal enzimleri ve oksijen radikalleri ve fagositozu kullanarak hasar yapmış ajanları ortadan kaldırmaya çalışırlar. [34,35]

Akut inflamasyonda rol alan başlıca kimyasal ajanlar şunlardır:

Vazoaktif aminlerden histamin ve serotonin permeabiliteyi artırır. [36]

Plazma proteazları ise Hageman faktörü, trombin, fibrin, Faktör X ile pıhtılaşma sisteminin; vazoaktif kinin üretimi ile kinin sisteminin; C3a ve C5a üretimi ile kompleman sisteminin; plazmin aktivasyonu ile fibrinolitik sisteminin aktivasyonunu başlatır.

Hageman faktörü plazmada inaktif şekildedir ve aktive olmuş trombositlerle etkileşince aktive olur. [37]

Diğer yandan lipid kökenli mediatörlerden lökotrienler ve prostaglandinler inflamatuvar uyarı ile oluşan poliansatüre yağ asitleridir. [38]

Trombosit aktive edici faktör (PAF) lökosit toplanması, adhezyonu ve kemotaksisini, damar geçirgenliği artışını sağlar. [39]

Nitrik Oksit (NO) ise damarlarda vazodilatasyon yapar ve trombositlerin agregasyon ve adhezyonuna sebep olur. [40,41]

Lökosit ve makrofajlardan salınan *lökositik lizozomal enzimler* kemotaktis ve damar geçirgenliği artırır. [34,35]

Serbest oksijen radikalleri lökositler tarafından hücre dışına salınır. Damar geçirgenliğini artırarak lökosit transmigasyonunu sağlarlar. [40,41]

Transferrin, seruloplazmin, glutatyon peroksidaz, süperoksid dismutaz ve katalaz enzimi *antioksidan mekanizmalar* olup serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırır. [38]

Sitokinler için lenfokin, büyüme faktörü, koloni stimüle edici faktör, interferon ve tümör nekroz faktörü örnekleri sayılabilir. [37]

İlk üç günde monosit baskınlığı söz konusudur. Monositler makrofajlara dönüşür. Makrofajlar, sitokin ve büyüme faktörü salgılayarak bakteri yıkım ürünlerini fagosite eder. [40,41]

2.2.2. Proliferasyon Fazı

Yara iyileşmesinin ikinci aşaması proliferasyon fazı olup yaralanmanın 4 ila 12 günleri arasında ortaya çıkar. Bu fazda granülasyon, fibroplazi, kontraksiyon ve epitelizasyon gerçekleşir.

Granülasyon dokusu oluşumu: Hasarlanmadan dört gün sonra, ekstrasellüler matriks (ECM), granülasyon dokusuyla yer değiştirir. Kollajen ve kan damarları, granülasyon dokusu oluşumuna katkıda bulunur. [42] Fibroblastların kontraktıl davranışı sonucu yara kontraksiyonu ortaya çıkar.

Migrasyon: Fibroblast migrasyonuna yardımcı sitokinler arasında “transforme edici büyüme faktörü-beta” (Transforming Growth Factor- β , TGF- β), “trombosit kökenli büyüme faktörü” (Platelet Derived Growth Factor, PDGF), “nöral büyüme faktörü” (Neural Growth Factor, NGF), “Cysteine-zengin anjiyojenik indükleyici-61” (Cysteine-rich angiogenic inducer-61, Cyr-61) ve “bağ dokusu büyüme faktörü” (Connective Tissue Growth Factor, CTGF) bulunur. [43] Hücre yüzeyindeki integrinler, ECM ve fibroblastlar arasında tutunmayı sağlar. [44] İntegrin ligandları büyüme faktörleri, kollajen ve elastini kapsayan ECM bileşenleridir. Fibroblastlar yara bölgesine göç ederken engelleri bazı matriks metalloproteinazları (MMP) yardımıyla aşarlar. Anjiogenez ve fibroblast hareketinde görevi olan MMP’lerin ECM’yi yıkım görevleri de vardır. Bugüne değin 24 çeşit MMP tanımlanmıştır. [45] MMP-19 TNF- α tarafından, MMP-1, MMP-2 ve MMP-3 ise TGF- β tarafından uyarılırlar.

ECM üretimi ve büyüme faktörlerinin salınması: Fibroblastlar büyüme faktörlerinin yapımından ve glikozaminoglikan, kollajen, proteoglikan gibi ekstrasellüler matriks bileşenlerini sentezlemekten sorumludur. Doku hasarı sonrası üçüncü ila beşinci günlerde başlayan kollajen üretimi TGF- β , IGF-1, PDGF, Cyr-61, “sfingozin-1-fosfat” (Sphingosine-1-phosphate, S1P), “epidermal büyüme faktörü”

(Epidermal Growth Factor, EGF), “fibroblast büyüme faktörü-2” (Fibroblast Growth Factor-2, FGF-2), CTGF tarafından uyarılır. [46] Ribozomlarda gerçekleşen kollajen yapımının ilk aşaması kollajen öncülü prokollajenin yapımıdır. [44] Lizinin ve prolinin endoplazmik retikulumdaki hidroksilasyonu prokollajen sentezinde önemli yer tutar. Bu süreç fibril oluşumu ve prokollajen bileşenlerinin agregasyonu açısından önemlidir. Hücre dışında fibrillerin oluşumu için prokollajen zincirleri bir araya gelirler.

Proliferasyon fazında meydana gelen bir diğer olay ise anjiogenezdır. [47] Endotelyal hücreler ECM’ de fibroblastlarla aynı şekilde yer değiştirirler ve bu olay doku hasarının ikinci gününde gerçekleşir. Endotelyal hücrelerin hareketinin uyarılması ECM, TGF- β , “vasküler endotelyal büyüme faktörü” (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF), anjiopoietin ve FGF tarafından olur. [44] Endotelyal hücreler ECM’ yi taşıdıkları integrin reseptörleri ile tanırılır. İntegrin reseptör sayıları TGF- β , VEGF ve FGF tarafından artırılır.

MMP’ler bazal membranın yıkımında ve anjiogenez oluşumunda görev alırlar. [45] MT-MMP, MMP-1, MMP-2, MMP-9, ve MMP-19 anjiogenezde görevli olan matriks metalloproteinazlardır. [44]

2.2.3. Matürasyon Fazı

Yara iyileşmesinde en uzun olan aşama matürasyon fazıdır. [48] Yara matürasyonu basamakları önce yara kontraksiyonu, sonra kızarıklık, daha sonra yara kalınlığında azalma ve nihayetinde yara kuvvetinde artma ile sonuçlanır. Yara kontraksiyonu myofibroblastlar aracılığıyla yaranın sonrasını yaklaşık dördüncü beşinci günde oluşmaya başlar. [42,44,47] Myofibroblastlar kontraksiyon özelliği gösteren aktin filamentlerini içeren fibroblastlardır. Myofibroblastlar integrin molekülleri aracılığıyla ECM’ye yapışırılır. Matürasyon fazında yara kalınlığı azalırken yara kuvveti artar. [44] Yaranın sonrasını yirmi birinci güne kadar kollajen üretimi artar, ancak bu aşamadan sonra üretimde azalma olur. [42]

ECM’de miktarı artan kollajenin döngüsüyle fibroblastlardaki kollajen üretiminin azaldığı bilinmektedir. [49] TNF- α ve IFN- γ da kollajen üretimini azaltır. [50] İyileşmenin yirmi birinci gününde kollajen miktarı en yüksek boyutuna ulaşmış olsa da yara kuvveti normalin %20’si kadarına ve altıncı haftada ise yara kuvveti normalin ancak %80’i kadarına ulaşabilir. Yara kuvvetinin arttığı bu zaman

aralığındaki asıl hadise kollajenin yıkımı ve tekrardan düzene konulmasıdır. [42,44] Kollajenin yıkımının “doku metalloproteinaz inhibitörü” (Tissue Inhibitor of Metalloproteinase, TIMP) ve MMP yapımı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Yara matürasyonu MMP’lerin ve TIMP’lerin bir uyum içinde yapımı ile ilişkilidir. Yara matürasyonunda zaman içinde Tip I kollajen miktarında artış olurken Tip III kollajen, proteoglikan ve su miktarında azalma olur. Kollajen fibriller yeniden şekillenir.

2.3. Kronik İnflamasyon

Dokunun yaralanmasına neden olan işleyiş devam ederse akut inflamasyon fazı kronik inflamasyon fazına ilerler. Burada dikkat çeken hücreler monositler olup bu hücreler IFN- γ ile aktifleşerek dokularda makrofaj formuna dönüşürler. Doku hasarı için hem fibroze sebep olan bileşenlerin salıverilmesinden hem de fibroze engel olan kollajenaz ve elastaz gibi enzimlerin salıverilmesinden sorumludurlar. Bu düzenin en önemli parçasını makrofajlar oluştururlar. Bir diğer önemli hücre grubu ise lenfositlerdir. Lenfositler çeşitli sitokinleri ortama salgılayarak monosit ve makrofajları aktifleştirirler. Akut inflamasyon ile kronik inflamasyonun birbirinden ayrımı doku yıkımı ve fibrozis ile olur. Fibrozis sürecinde fonksiyon bozukluğunun gerçekleşmesi ekstrasellüler matriks birikmesi ve fibroblast proliferasyonu ile olur. [34,35,51] Sürecin başka bir aşaması kollajen yapımı ve birikmesi ile olur. Üç polipeptid sarmalından oluşan, kollajen, skar dokusunun temel bileşenidir. Kollajen sentezi TGF- β ve İnterlökin-2 (IL-2) ile artış gösterebilir. [52] Fibroblastlar yaralanma sonrası 36-72 saatler arasında mezenşimal hücre farklılaşmasıyla oluşurlar. [31,32,53] Kollajen ise yaralanma sonrası 72 ile 120 saatlerde fibroblastlar tarafından sentezlenir. Kollajenaz makrofaj, fibroblast ve nötrofillerden salgılanır. Kollajenaz enzimi kollajenin sarmal yapısını değiştirip parçalanacak duruma getirilmesi ve yeni modellenmenin oluşturulması için gereklidir. Fibronektin, trombospondin, laminin, tenasinler adheziv glikoproteinlerdendir. Monositler, fibroblastlar ve endotel hücreleri tarafından sentezlenen fibronektin ekstrasellüler matriks bileşenlerini bir araya getirir, hücre farklılaşmasını ve hareketini sağlar. [53] Granülasyon dokusunda ilk olarak tip III kollajen birikerek yerini daha sonra yetişkin doku kollajeni olan tip I kollajene bırakır. [54]

2.3.1. Hipertrofik Skar

Skar oluşumunun fazla miktarda artması sonucu hipertrofik skar oluşur. Matur skarlarda oluşan olumsuz geri dönüş işleyişi ile fibroblastların fazla çoğalması önlenmektedir. Bu işleyişin aksamasının hipertrofik skar oluşmasından sorumlu olduğu düşünülmektedir. Hipertrofik skarlar etrafındaki doğal dokuyu kenarlara doğru genişleterek büyürler, doğal dokuya geçmezler ve zaman içinde boyutlarında küçülme görülebilir. [55,56] Hipertrofik skar etyolojisinde en bilinen risk faktörü ailesel yatkınlıktır. Hipertrofik skar tedavisinde günümüzde genellikle cerrahi çıkarma ve sonrasında glukokortikoid ilaç uygulaması yapılmaktadır. [57]

Hipertrofik skar oluşumunda anormal fibroblast aktivitesi, büyüme faktörleri ve çeşitli sitokin düzeylerinde artış (TGF- β 1/ β 2, VEGF, PDGF), apoptoziste azalma ve plazminojen aktivatör inhibitörü-1 düzeyinde artma sorumlu tutulmaktadır. [47] Fibrinin yara iyileşmesinde, kollajen sentezinde, inflamatuvar hücre migrasyonunda ve granülasyon dokusunun oluşumunda önemli yeri vardır. Fibrin plazmin ile parçalanır. Plazmin ise plazminojen aktivatör ve ürokinaz ile artarken plazminojen aktivatör inhibitörü-1 ile azaltılır. [58] Diğer yandan apoptozis embriyonik gelişimde doku şekillenmesi ve hücre yenilenmesinde rol almaktadır. Yapılan çalışmalarda yara iyileşmesinde de önemli rolleri olduğu görülmüştür. Hipertrofik skardaki fibroblastlarda normal skardakilere nazaran artmış miktarda p53 geni ekspresyonu olduğu bilinmektedir. Bu da kollajen yapımının artmasına yanıt olarak apoptozisin artışı olarak değerlendirilmiştir. [59]

2.4. Peridural Fibrozis ve Bu Fibrozisi Önlemede Kullanılan Bazı Metotlar

2.4.1. Peridural Fibrozis

Spinal cerrahi girişimlerden sonra beklenen ve istenmeyen durumlardan biri peridural fibrozistir. [60] Bazı çalışmalarda bu fibrozisin hastalarda gelişme oranı %20-47 ile ifade edilmiştir. [61] Peridural fibrozis ile ameliyat sonrası ağrı ilişkisi klinik takip ve ameliyat sonrası görüntüleme ile bağlantılı görülmüştür. [62] Peridural fibrozisin paravertebral kas, periostta oluşan fibröz doku ve ameliyat sonrası sahada kalan hematoma sonucu oluştuğu tahmin edilmektedir. Bu etkenler ameliyat sahasında kollojen sentezini artırır. Böylece IL-6, INF- γ , TNF- α , TGF β 1,

CTGF, VEGF isimli mediyatörlerce devam eden inflamatuvar süreç fibrozisin oluşması ile noktalanır. [63-65] Fibroblastlar ise spinöz proçes çıkıntısı ve laminadan sıyrılan kas dokusu kaynaklı oluşur. Sonrasında ligamentum flavum alındığında fibroblastlar peridural mesafeye geçerler. Oluşan fibrotik doku ise paravertebral kasların iyileşmesi açısından önemlidir. Diğer yandan bu fibrotik doku büyüyüp nöral yapılara bası yapabilir ve invaze edebilir ve bu da radiküler semptomlara sebebiyet verir. [62,66-68] Macnab ve Larocca tarafından “postlaminektomi membran” diye tanımlanan skar dokusunun sahadaki yağ dokusunun yıkımından, omurga kaslarının ve sahada kalan hematomların fibrotik reaksiyonu alevlendirmesiyle ilgili olduğu bilinmektedir. [68-73] Nachemson ve ark anulus fibrozisin hasarlanması sonrası intervertebral disk aralığından protein sızmasının da skar oluşumuna yardım ettiğini ileri sürmüştür. [66] Lomber spondilopati nedeniyle ameliyat olan, sonrasında ağrıları geçmeyen ve yeniden ameliyat edilen 38 hasta ile yapılan çalışmada Benoist ve ark hastaların tamamında peridural fibrozis dışında başka patolojik bir hadise olmadığını belirtmişlerdir. [74] Ayrıca Jönsson ve ark, öncesinde ameliyat olmuş 93 hastayı yeniden ameliyat ettikten sonra 35 hastada peridural fibrozis izlemişlerdir. [75] Bazı çalışmalarda ise ameliyat sahasında kalan pamuk fibrillerin peridural fibrozisin oluşmasına yardım ettiği ileri sürülmüştür. [76-78]

Peridural skar dokusu yeniden ameliyat yapılması zorunluluğu ortaya çıktığında dura ve sinir kökü yaralanması gibi komplikasyonların riskini artırır. [68] Çeşitli tedaviler ve cerrahi teknikler peridural fibrozisi azaltmak için literatürde paylaşılmıştır. Bunlar arasında küçük cerrahi insizyon uygulamak, hemostazın tam yapılması, çeşitli farmakolojik ajanların lokal uygulanması, dura ve doku arasına konulabilen biyolojik, sentetik ve mekanik materyallerin kullanımı yer almaktadır. Çalışılmış bazı farmakolojik ajanlar siklosporin-a, kortikosteroidler, 5-florourasil, metotreksat, alfa-lipoik asit, interferon-gamma, mitomisin-C, aprotinin, tacrolimus, rekombinant plasminojen aktivatörleridir. Çalışılmış bazı dural bariyerler arasında ise ADCON-L, vicryl mesh, zenoderm, seprafilm membran, oxiplex, gelfoam, silastik, dacron, karboksimetilselülöz, sodyum hyaluronat, gore-tex membran yer almaktadır. Bu yöntemler hayvan model çalışmalarında yeterli başarı sağlayabilmişse de klinik kullanımda yeterli kabul görmemiştir. [66-68,79-82]

Metilprednizolon: Uzun süredir omurilik yaralanmaları ve beyin ödeminde kullanılan sentetik glukokortikoidlerden metilprednizolonun mineralokortikoid etkisinin düşük ve antienflamatuar etkisinin yüksek olduğu bilinmektedir. [83,84] Metilprednizolon siklooksijenaz ve lipooksijenaz yollarını baskılayarak araşidonik asit bileşenlerinden proinflamatuar kollajen ve sitokin yapımını, enflamatuar sitokin yapımını, enflamatuar hücre migrasyonunu ve akut faz reaktan salıverilmesini engeller. Metilprednizolonun nöroprotektif etkisinin omurilik hasarında oluşan lipid peroksidasyonun inhibisyonu ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Böylece hücrenin fonksiyonel ve anatomik yapısı korunmuş olur. [85-89] Kalsiyumun hücre içi ve dışı yoğunluğunu ayarlayarak asit-baz oranının dengede kalmasını sağlar. Hasarlanmış dokuda su ve sodyum birikimini azaltıp potasyum salınmasının önüne geçer. Hücre içi histamin etkinliğini inhibe ederek damar geçirgenliğini ve vazodilatasyonu ve dolayısı ile ekstraselüler ödemi azalttığı bilinmektedir. [90] Yüksek doz metilprednizolon tedavisinin hasarlanmış omurilikte kan akımını arttırdığı ve bunun sonucunda nörolojik kayıplarda azalma olduğu gösterilmiştir. Büyüme faktörleri ve sitokin düzeylerinin azalmasıyla monosit, fibroblast ve monositlerin aktive edilmesini önleyerek, kollajen üretimini baskılar. İmmünsüpresif etkisiyle enfeksiyona yatkınlık oluşturur. Skar dokusu oluşturma mekanizmasını engellediği ve fakat yara iyileşmesini geciktirdiği bilinmektedir. [10-12] Epitelyal migrasyonu ve kontraksiyonu baskıladığı ve yaranın tensil kuvvetini azalttığıda gösterilmiştir. [13-17]

Tramadol: Bu farmakolojik ajan (1RS,2RS)-2-[(dimetilamino)metil]-1-(3-metoksifenil)-sikloheksanol hidroklorür, morfin ve kodein ile ilişkili bir opioid türevidir. [91] Merkezi sinir sistemindeki seçici “*mu*” ve “*kappa*” reseptörleri üzerinden zayıf etkili ağrı kesici özelliği vardır ve bu özelliği nedeni ile uzun zamandır klinik kullanımda hastalara ameliyat sonrasında intravenöz ve/ veya oral yoldan analjezik ilaç olarak uygulanmaktadır. TNF, IL-1 ve IL-6 salınımını azaltarak ödem azaltıcı ve antiinflamatuar özellikleri olduğu gösterilmiştir. [92] Hem lökosit hem de astrosit membranlarında bulunan “*kappa*” reseptörünün uyarılmasının immünsüpresif etkisinin olduğu bilinmektedir. [18]

Lokal anestezipler ameliyat sonrası ağrı kesici yönüyle sıklıkla kullanılır. Ancak lokal anesteziplerin, nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte yara iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkilerinin olduğu çeşitli hayvan modeli çalışmalarında

gösterilmiştir. [93,94] Opioidlerin aynı zamanda lokal anestezi etkileri de vardır. [95,96] Nöron uç plaklarında norepinefrin geri alımının inhibisyonuyla analjezik etkiye de sahiptir. Tramadolün periferik nöronal hücreler üzerinde lokal anestezi etkileri bilinmektedir. [19,97] Cerrahi kesi bölgesine lokal tramadol infiltrasyonu ameliyat sonrası oluşan ağrıyı azaltmak için uygulanmaktadır. [98] Yapılan bir klinik çalışmada cerrahi kesi bölgesine tramadol infiltrasyonu uygulanmasının yara iyileşmesi üzerinde olumsuz etki oluşturmadığı bildirilmiştir. [99]

Tramadol doz bağımlı uzun süreli kullanımda ya da yüksek doz uygulamada farklı dokulardaki hücrelerde birikebilir ve böylece oksidatif strese ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna neden olabilir. Hücrelerde birikmesi ve mitokondriyal bozulma oluşması farklı dozlarda ortaya çıkabilmekte olup hücre hasarının ciddiyeti büyük ölçüde doza bağımlıdır. [100] Tramadolun bazı inflamatuvar ve apoptotik belirteçlerde artışa neden olduğu bildirilmiştir. [101] Tramadolun glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz seviyelerinde ciddi düşüşlere neden olduğu bilinmektedir. [102] Ancak literatürde tramadolün yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinin ne olduğu net olarak bilinmemektedir.

Tramadol'un M1 makrofaj sitokinlerinin (TNF- α , IL-6, IL-12) üretimini inhibe ederken, M2 makrofaj belirteçlerinin (Arg1, Ym1, Mrc1, Fizz1) salgılanmasını teşvik ettiği bulunmuştur. [150] Diğer yandan Hancı ve ark yaptıkları deneysel çalışmada cerrahi yara oluşturulup hiçbir ilaç tedavisi uygulanmayan kontrol grubu ile tramadol yara infiltrasyon grubu arasında kollajen üretimi, kopma-direnç ölçümleri, ödem, vaskülarite ve inflamasyon skorları açısından anlamlı fark olmadığını ortaya koymuşlardır. Çalışmanın sonunda tramadolün cerrahi iyileşme sürecini olumsuz etkilemeden yara infiltrasyon anesteziinde kullanılabileceği fikrini ileri sürmüşlerdir. [103] Özkan ve ark yaptıkları deneysel çalışmada yara yerine tramadol uygulamışlar ve histopatolojik olarak yara iyileşmesinde tramadolün kollajen oluşumu üzerine kontrol grubuna göre olumsuz etkisinin olmadığını göstermişlerdir. Bu çalışmada biyokimyasal olarak hidroksiprolin düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmanın sonuçları, tramadol infiltrasyonunun yara iyileşmesi üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığını ortaya koymuştur. [99]

Levetirasetam: Bu ajan ([S]-a-etil-2-okso-1-pirolidin asetamid) geniş antikonvülsan aktivite spektrumuna sahip güvenli bir antiepileptik ilaçtır. [21,25,104-

106] Levetirasetamın antinosiseptif etkileri ile ilgili çeşitli çalışmalarda yüz güldürücü kanıtlar bildirilmiştir. Bunlardan postoperatif ağrıda, diyabetik nöropatide, trigeminal nevraljide, multipl skleroz ile ilişkili kronik ağrıda, anestezi kaynaklı hiperaljezide azaltıcı etkilerinin olabileceği gösterilmiştir. Bunlara karşın levetirasetamın antinosiseptif etki mekanizması tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. [107-112] Çeşitli araştırmalarda antiepileptik ilaçların hayvan modellerinde oluşturulan enflamatuar ağrı üzerinde antinosiseptif etkilerinin olabileceği gösterilmiştir. [113-117] Diğer yandan levetirasetamın hasarlı nöronal dokularda TNF- α , IL-1 β , IL-6, iNOS düzeylerini azaltarak ve TGF- β ekspresyonunu düzenleyerek mikrogliya aktivasyonunu kontrol edebildiği ve antienflamatuar etki gösterebildiği bildirilmiştir. [118-121]

Levetirasetamın antienflamatuar etkisini JAK2/STAT3 sinyalizasyonunun LPS'ye bağlı fosforilasyonunu inhibe ederek gösterdiği rapor edilmiştir. TLR4 ve MAPK salınımlarını baskılayarak IL-1 β , IL-6 inflammatuar sitokinlerinin salınımını azalttığı bildirilmiştir. [105,122,123] Nootropik ajan pirasetamın bir analogu olan levetirasetam sinaptik vezikül proteini 2A'ya (SV2A) bağlanarak hücrelere T-tipi kanalı inhibe etmeden N-tipi kanalı seçici olarak inhibe ederek kalsiyum akışını düzenlediği gösterilmiştir. [124-126] Bununla birlikte membran depolarizasyonunu düzenlediği ve hücre içindeki potasyum akışını azaltarak geri dönüşümsüz hücresel hasarı önlediği rapor edilmiştir. [125,127-131] Levetirasetamın hipokampüste lipid peroksidasyonu ile bağlantılı olarak xCT ve iNOS ekspresyonunu değiştirerek, artan bazal endojen antioksidan yeteneğini sinerjik olarak artırarak ve bazal glutamat konsantrasyonunu azaltarak ve ardından GSH'nin bir iç malzemesi olan sistin alımını yukarı doğru düzenleyerek nöroprotektif bir rol oynadığı gösterilmiştir. [132]

Oksidatif stres genellikle ya artan oksidan enzimlerden ya da azalan antioksidan enzimlerden kaynaklanır ve aşırı seviyelerde serbest radikal ara ürünlerle sonuçlanır. [133] Literatürde antiepileptik ilaçların (AEİ) oksidan veya antioksidan enzimler üzerindeki etkisi ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır. [134,135] Antiepileptik ve antiapoptotik ilaç olarak levetirasetamın hipoksiden sonra uygulanmasının nöronal apoptozu azalttığı rapor edilmiştir. [136,137] Levetirasetam enflamatuar reaksiyonları azaltarak sinir hücrelerinin apoptozunu hafifletebilir. Levetirasetamın CD8 T hücresi türevli perforini inhibe ederek omurilik yaralanmasında inflammatuar reaksiyonları azaltabildiği öne sürülmüştür. [138] Diyabetik sıçanların levetirasetam

ile tedavisinin siyatik sinirlerdeki enflamasyonu, fibrozisi ve apoptoz belirteçlerini önemli ölçüde azaltabildiği ve NGF ekspresyonundaki azalmayı önlediği rapor edilmiştir. Ayrıca levetirasetamın diyabetik sıçanlarda plazma lipid peroksidlerini önemli ölçüde azaltabildiği ve toplam antioksidan kapasiteyi artırabildiği saptanmıştır. [139] Yapılan çalışmalarda levetirasetamın hasarlı nöronal dokularda superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), GSH düzeylerini belirgin şekilde arttırabildiği gösterilmiştir. [27,135,140-142] Ayrıca levetirasetamın hasarlı nöronal dokularda kaspaz-3 düzeylerini azaltabildiği ve antiapoptotik etkinliğinin olduğu bulunmuştur. [139] Literatürde levetirasetam ile otofajik etkinlik arasındaki ilişkiyi inceleyen çok az çalışmaya rastlanmıştır. Yapılan bir çalışmada hasarlı nöronal dokularda levetirasetamın AMPK/Akt aktivasyonunu arttırdığı ve antiotofajik etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir. [143]

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmanın tamamı Kırıkkale Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından belirlenen kurallar doğrultusunda, gerekli onay alındıktan sonra yapıldı (Karar tarihi: 21.10.2020, Toplantı sayı numarası: 2020/06 ve Karar numarası: 37).

Bu tez çalışması Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje (BAP) Koordinasyon Birimi tarafından finansal açıdan desteklendi (BAP Proje Numarası: 2021/ 004)

Çalışma 300-350 gram ağırlığında erkek cinsiyette sekizi yedek olmak üzere toplam 32 adet Wistar Albino rat ile yapıldı. Deney öncesinde deney hayvanlarının deneye alınma kriterleri deneklerin genç yaşta olması, canlı, düzgün hareketli, tüyleri düzgün ve vücut bütünlüğünün tam olması ve vücut anomalisi ve şekil bozukluğunun bulunmaması olarak belirlendi. Deney hayvanlarının deneyden çıkarılma kriterleri ise cerrahi alanda veya organizmanın başka yerinde ortaya çıkacak enfeksiyon, cerrahiye sekonder sakatlık (paraparezi, parapleji), kilo kaybı (yiyecek ve su alımında azalma), cerrahi yaranın izlem sırasında açılması, diğer hayvanlar tarafından cerrahi yaraya veya diğer vücut bölgelerine zarar verilmesi (doku kaybına neden olabilecek kadar ciddi düzeyde dişlenmesi, tırnaklanması ya da yenmesi) şeklinde deney öncesinde belirlendi. Deney hayvanları randomize şekilde aşağıdaki gibi dört ayrı gruba ayrıldı:

Sham grubu (cerrahi girişim uygulandı ancak deneysel farmakolojik ajan uygulanmadı; n: 6+2)

MP grubu (cerrahi girişim uygulandı ve intraperitoneal yoldan metilprednizolon sodyum süksinat uygulandı; n: 6+2)

TRA grubu (cerrahi girişim uygulandı ve intraperitoneal yoldan tramadol hidroklorür verildi; n: 6+2)

LEV grubu (cerrahi girişim uygulandı ve intraperitoneal yoldan levetirasetam verildi; n: 6+2)

Sedasyon anestezi için intraperitoneal yoldan 40 mg/kg ketamine HCl (Ketalar®; Pfizer Inc, USA) ve 5 mg/kg xylazine HCl (Rompun® %2; Bayer HealthCare AG, Germany) kullanıldı.

3.2. Metot

3.2.1. Cerrahi Uygulama

Sedasyon anestezi altında deneklerin sırtları tıraşlandıktan ve cerrahi alanın povidon-iyot ile antisepsisi sağlandıktan sonra her gruptan altı hayvana omuriliğe zarar vermeden torakal 9, 10 ve 11 omurgalarının (T9, T10, T11) laminalarına mikroskop kullanılarak standart laminektomi prosedürü uygulandı ve spinal kord durası açığa çıkarıldı. Laminektomi sırasında dura sağlam bırakıldı ve dura altına ve omuriliğe herhangi bir girişimde bulunulmadı. Cerrahi alanda hemostaz dikkatlice sağlandıktan sonra cerrahi katlar anatomiye uygun şekilde dikilerek kapatılıp cerrahi girişime son verildi (Resim 3.1). Daha sonra MP grubuna 10 mg/ kg dozda metilprednizolon sodyum süksinat (Prednol-L 250 mg ampül, Gensenta İlaç San. Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye), TRA grubuna 0.6 mg/ kg dozda tramadol hidroklorür (Madol 100mg/2ml ampül, Koçak Farma İlaç ve Kimya Sanayi A.Ş., İstanbul, Türkiye) ve LEV grubuna 15 mg/ kg dozunda levetirasetam (Levetam 500 mg/5 ml flakon, Polifarma İlaç San. ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) intraperitoneal yoldan verildi. Takiben ratlar sedasyon anesteziden çıkarıldı ve kendi kafeslerinde altı hafta süre ile yaşatıldı. Hayvanların kafesleri içinde 12 saat gündüz ve 12 saat gece ritminde serbest su ve yiyecek ulaşımına ve serbest dolaşımına izin verildi ve 14 gün süre ile ilaç tedavilerine devam edilip on beşinci gün tedaviler sonlandırıldı.



Resim 3.1 Cerrahi prosedür. Soldan sağa doğru cerrahi hazırlık, laminaların ortaya konması, laminektomi, yara kapatılması, postoperatif nörolojik muayenesi doğal rat.

Deneyin izlem aşamasında Sham grubunda 3, MP grubunda 4 ve TRA grubunda 1 adet denek postoperatif erken dönemde beklenmedik şekilde öldü. Ölen deneklerin yerine yedekte tutulan ve herhangi bir cerrahi işlem ve veya ilaç uygulanmamış denekler gerekli işlemler yapıldıktan sonra konuldu.

Cerrahi işlemlerden dört hafta sonra tüm hayvanlara (toplam 24 adet denek) sedasyon anestezi altında abdominal aortadan tüm vücut kanı alınarak ötenazi uygulandı ve sonrasında tüm deneklerin omurgaları blok şekilde çıkarıldı. Çıkarılan omurga bloğu laminektomi alanının ortasından geçecek şekilde kesilip iki kısma ayrıldı. Bu kısımlardan proksimal parça histopatolojik incelemeler için ve distal parça biyokimyasal incelemeler için uygun ortamlarda saklandı.

3.2.2. Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik incelemeler için ayrılan dokular oda sıcaklığında %10 nötral formalinde 24 saat süre ile fikse edildikten sonra %10 EDTA solüsyonu kullanılarak dekalsifiye edildi ve ardından parafine gömülüp 3 µm kalınlığında kesitler alındı. Ardından bu kesitler hematoksilen-eosin ve Massons-Trikrom boyaları ile boyandı. Histopatolojik incelemeler deney gruplarına ve deneysel farmakolojik ajanlara kör histoloji uzmanı tarafından gerçekleştirildi.

Tüm kesitler ışık mikroskobu (Olympus BX51; Olympus, Tokyo, Japan) ile incelenip fotoğraflandı. Gruplarda her bir preparatta laminektomi bölgesinde rastgele seçilen 5 ayrı alanda 40x büyütmede peridural fibrozis oluşum düzeyi literatürde de kabul edilmiş olan derecelendirme yöntemi kullanılarak belirlendi (Tablo 3.1). [9]

Tablo 3.1 Histopatolojik derecelendirme tablosu

Skor	Derece	Tanım
0	Normal	Dura materde fibrozis dokusu yok
1	Hafif	Dura mater ve fibrozis dokusu arasında ince bir fibröz bant olması
2	Orta	Laminektomi alanının 2/3 ünden azında aralıksız yapışma olması
3	Ağır	Laminektomi alanının 2/3 ünden fazlasını etkileyen büyük yapışıklıklar veya sinir köküne uzanan yapışıklık olması

Histopatolojik preparatlarda epidural fibrozisin derecelendirilmesi fibroblastların baskınlığına göre derece 1 (100'den az fibroblast), derece 2 (100-150 arası fibroblast) ve derece 3 (150'den fazla fibroblast) olarak derecelendirildi. Fibroblast sayısı ışık mikroskobu altında 40x büyütmede 3 bölgede fibroblastlar sayılıp bu sayıların ortalaması alınarak elde edildi (Tablo 3.2). [144]

Tablo 3.2 Fibroblast hücre yoğunluğunun Hinton kriterlerine göre derecelendirilmesi

Derece	Tanım
Derece 1	<100 fibroblast
Derece 2	100–150 fibroblast
Derece 3	>150 fibroblast

3.2.3. İmmunohistokimyasal İnceleme

İmmünohistokimyasal incelemeler için parafine gömülü bloklardan elde edilen 3 µm kalınlığındaki doku kesitleri pozitif yüklü lamlara yerleştirildi ve xylene ile parafinden arındırıldı ve giderek artan konsantrasyonlarda etanol solüsyonu kullanılarak dehidrate edildi. “Antijen retrieval” işlemi mikrodalgada 10 dakika boyunca 96°C'de gerçekleştirildi (10 mM/ L sitrat tamponu, pH 6). Kesitler bloklayıcı serum (Ultra V Block, ScyTek Laboratories, Utah, USA) ile bloke edildi. Hazırlanan kesitler COL1A1 (COL1A1 monoclonal antibody, E-AB-22152, Elabscience), Alfa-Düz Kas Aktini (Alfa-SMA) (ACTA2 Monoclonal antibody, E-AB-22155, Elabscience) ve primer antikorları ile +4°C de bir gece inkübe edildi. Her antikor için negatif kontroller eklendi. Birincil antikor ile inkübasyonun ardından doku kesitleri her seferinde 5 dakika olmak üzere iki kez PBS ile yıkandı ve daha sonra “biotinylated anti-mouse” sekonder antikor (BA-9200; Vector Laboratories, Burlingame, CA) ile oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. PBS ile üç defa yıkama yapıldıktan sonra antijen-antikor kompleksleri, 10 dakika boyunca bir streptavidin-peroksidaz kompleksi (TP-060-HL; LabVision, Fremont, CA, ABD)

kullanılarak tespit edildi. Kesitler, 3,3'-diaminobenzidin (DAB) ile inkübe edildi ve bağlanmayı göstermek için hematoksin ile hafifçe boyandı.

Daha sonra bu preparatlardan elde edilecek H-SCORE değerleri aşağıda yer alan kriterler kullanılarak hesaplandı. [151]

(0) = negatif immünreaktivite

(1+) = zayıf immünreaktivite

(2+) = hafif immünreaktivite

(3+) = güçlü immünreaktivite

H-SCORE, her boyama yoğunluğu kategorisindeki hücrelerin oranının toplamının tartılan yoğunluk puanı ile çarpılmasıyla şu şekilde hesaplandı:

$$\text{H-SCORE} = \sum P_i (i + 1)$$

Burada (i)=yoğunluk puanı ve (P_i)=hücre oranı olarak tanımlandı.

3.2.4. Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay (ELİSA)

Biyokimyasal analiz çalışmaları için ayrılan dokular kuru ortamda -80 °C' de hemen dondurularak saklandı. Takiben donmuş dokular eritilip fosfat tampon salin solusyonu ile yıkandı ve buz içindeki %0.9 NaCl solusyonu ile homojenize edildi (Labor Technique, Germany). Homojenize edilmiş dokular 10 dakika +4 °C ortamda santrifüj edildi ve elde edilen süpernatant materyalde TNF-α (pg/ mg protein) (TNF-α) (E-EL-R0019, Elabscience), IL-6 (pg/ mg protein) (E-EL-R0015, Elabscience), dönüştürücü büyüme faktörü-1 beta (TGF1β) (E-EL-R0162, Elabscience), bağ doku büyüme faktörü (CTGF) (pg/ mg protein) (E-EL-R0259, Elabscience), GSH/GSSG (Total Glutathione (T-GSH)/ Oxidized Glutathione (GSSG) Colorimetric Assay Kit, E-BC-K097-M, Elabscience) ve kaspaz-3 (pmol p-NA/ug protein) (SRB-T-81638/ Rat Caspase 3 ELISA Kit, E1648RA, BT Lab) düzeyleri orijinal ELİSA kitleri kullanılarak ölçüldü.

3.2.5. Western Blot

Donmuş dokular eritilip homojenize edildikten sonra otofaji belirleyicileri olan p-AMPK (phospho-AMPKα-2535, Cell Signaling Technology), mTOR (mTOR-Antibody-2972, Cell Signaling Technology) ve pmTOR (mTOR-Antibody-2971,

Cell Signaling Technology) protein ekspresyonu western blot tekniği kullanılarak incelendi. Yükleme kontrolü olarak gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz (GAPDH) kullanıldı.

3.2.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmada etik kurallar gereği istatistiksel analiz yapılmasına izin verebilecek minimum sayıda deney hayvanı kullanıldı. Değerlerin normal ve homojen dağılıp dağılmadığını belirlemeye yönelik verilere *Kolmogorov-Smirnov* testi uygulandı.

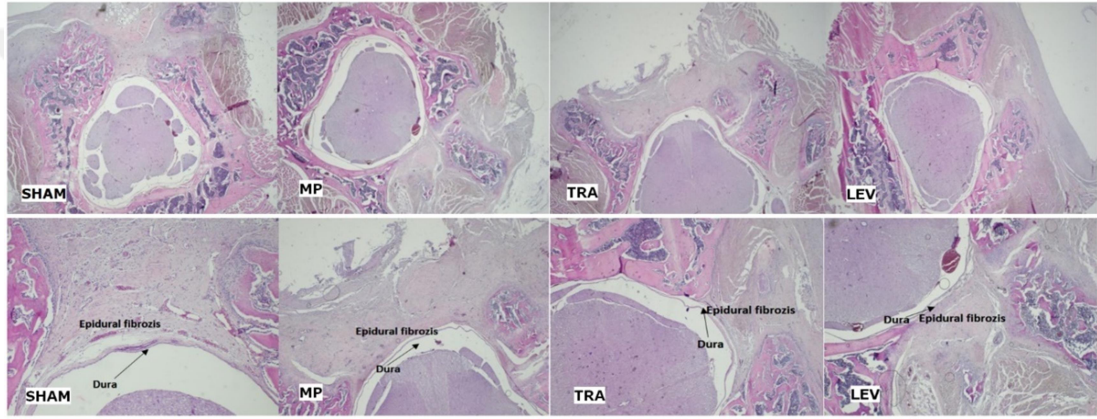
Normal dağılım gösteren çalışma verilerinin gruplar arasındaki istatistiksel farklılık analizinde tek yönlü varyans analizi (*One-Way Analysis of Variance; One-Way ANOVA*) testi kullanıldı ve $p<0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi. Grupların ikili karşılaştırmalarında *Tukey Multiple Comparisons* ve *Bonferroni Correction* testi kullanıldı ve $p<0.0083$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Normal dağılım göstermeyen verilerin gruplar arasındaki istatistiksel farklılık analizlerinde *Kruskal Wallis* testi kullanıldı ve $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi. Grupların ikili karşılaştırmalarında *Mann Whitney U* testi ve *Bonferroni Correction* testi kullanıldı ve $p<0.0083$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik İnceleme Bulguları

Sham grubunda yer alan ratlarda laminektomi alanında çok şiddetli epidural fibrozis izlendi. Oluşan fibrotik dokunun omurilik kanalına doğru ilerlediği ve dura matere yapıştığı izlendi. MP, TRA ve LEV gruplarında gelişen epidural fibrozisin daha az olduğu ve fibröz dokunun daha hafif olduğu ve dura matere kısmi adezyonu gözlemlendi (Resim 4.1).

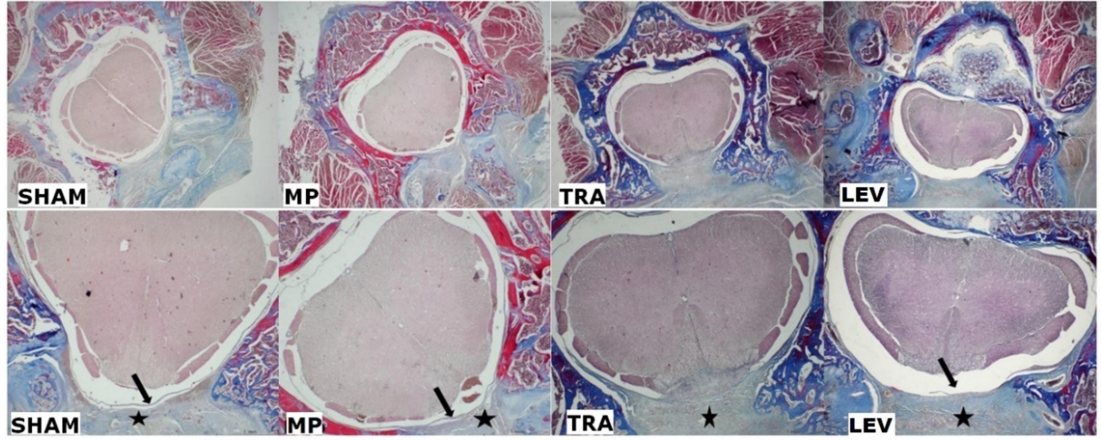


Resim 4.1 Epidural fibrozis düzeylerinin karşılaştırmalı histopatolojik inceleme bulguları (HEx10, HEx40)

Hematoksilen ve eozin boyama sonrası elde edilen histopatolojik bulguların karşılaştırılması sonrasında epidural fibrozis derecelerinin gruplar arasında farklı olduğu saptandı ($X^2=19.439$, $p<0.001$) (Tablo 4.1, Grafik 4.1).

Epidural fibrozis derecelerinin Sham-MP ($Z=-2.961$, $p=0.003$), Sham-TRA ($Z=-2.956$, $p=0.003$), Sham-LEV ($Z=-2.989$, $p=0.003$), MP-LEV ($Z=-2.797$, $p=0.005$) ve TRA-LEV ($Z=-2.879$, $p=0.004$) grupları arasında farklı olduğu bulundu (Tablo 4.2).

Masson'un trikrom boyamada Sham grubunda yüksek yoğunluklu kollajen oluşumu olduğu ancak MP, TRA ve LEV gruplarında kollajen yoğunluğunun Sham grubuna göre daha düşük yoğunlukta olduğu gözlemlendi (Resim 4.2).



Resim 4.2 Epidural fibrosis düzeylerinin karşılaştırmalı histopatolojik inceleme bulguları (MTSx10, MTSx40)

Masson Trikrom boyama sonrası epidural fibrozis derecelerinin gruplar arasında farklı olduğu bulundu ($X^2=19.763$, $p<0.001$) (Tablo 4.1, Grafik 4.2). Epidural fibrozis derecelerinin Sham-MP ($Z=-2.918$, $p=0.003$), Sham-TRA ($Z=-2.945$, $p=0.003$), Sham-LEV ($Z=-2.945$, $p=0.003$), MP-LEV ($Z=-2.884$, $p=0.004$) ve TRA-LEV ($Z=-2.989$, $p=0.003$) grupları arasında farklı olduğu görüldü (Tablo 4.2).

Fibroblast sayılarının da gruplar arasında farklı olduğu saptandı ($X^2=19.110$, $p<0.001$) (Tablo 4.1, Grafik 4.3). Fibroblast derecelerinin Sham-MP ($Z=-2.929$, $p=0.003$), Sham-TRA ($Z=-2.918$, $p=0.004$), Sham-LEV ($Z=-2.676$, $p=0.007$), MP-LEV ($Z=-2.933$, $p=0.003$) ve TRA-LEV ($Z=-2.922$, $p=0.003$) grupları arasında farklı olduğu bulundu (Tablo 4.2).

Tablo 4.1 Histopatolojik inceleme bulgularının istatistiksel analiz sonuçları

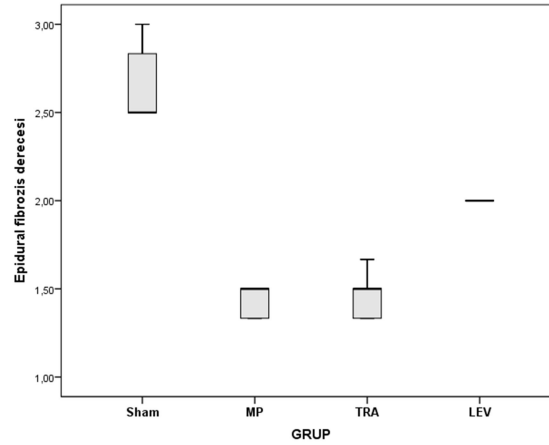
	Sham	MP	TRA	LEV		
	Ortalama±SS/Medyan	Ortalama±SS/Medyan	Ortalama±SS/Medyan	Ortalama±SS/Medyan		
Değişken	(min-mak)	(min-mak)	(min-mak)	(min-mak)	F/ X^2	p
Epidural fibrosis derecesi	2.50 (2.50-3.00)	1.50 (1.33-1.83)	1.50 (1.00-1.67)	2.00 (1.67-2.17)	19.439	<0.001
Kollajen yoğunluk derecesi	2.60 (2.40-3.00)	1.50 (1.40-1.80)	1.60 (1.00-1.60)	2.00 (1.80-2.20)	19.763	<0.001
Fibroblast yoğunluk derecesi	2.67 (2.33-3.00)	1.33 (1.00-2.00)	1.50 (1.00-2.00)	2.33 (2.00-2.33)	19.110	<0.001

Kruskal Wallis test, $p<0.05$

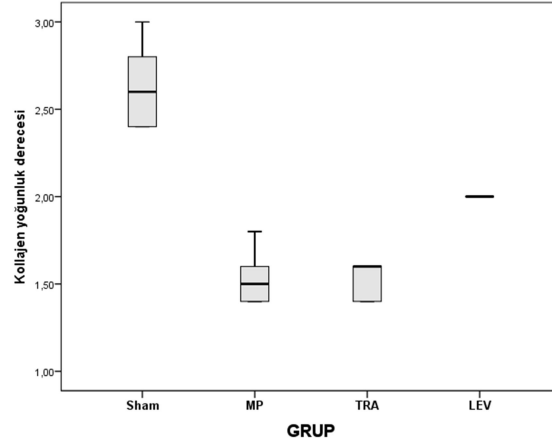
Tablo 4.2 Histopatolojik inceleme bulgularının ikili grup karşılaştırma istatistiksel analiz sonuçları

Değişken	Grup (I/J)	Z	p
Epidural fibrosiz derecesi	Sham / MP	-2.961	0.003
	Sham / TRA	-2.956	0.003
	Sham / LEV	-2.989	0.003
	MP/ TRA	-0.258	0.796
	MP/ LEV	-2.797	0.005
	TRA/ LEV	-2.879	0.004
Kollajen yoğunluk derecesi	Sham / MP	-2.918	0.004
	Sham / TRA	-2.945	0.003
	Sham / LEV	-2.945	0.003
	MP/ TRA	-0.087	0.930
	MP/ LEV	-2.884	0.004
	TRA/ LEV	-2.989	0.003
Fibroblast yoğunluk derecesi	Sham / MP	-2.929	0.003
	Sham / TRA	-2.918	0.004
	Sham / LEV	-2.676	0.007
	MP/ TRA	-0.336	0.737
	MP/ LEV	-2.933	0.003
	TRA/ LEV	-2.922	0.003

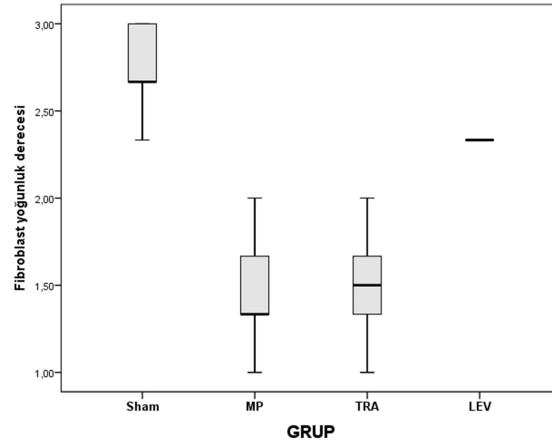
Mann-Whitney U testi ve Bonferroni Correction testi, $p < 0.0083$



Grafik 4.1 Hematoksilen ve eozin boyama sonrası epidural fibrosis derecelerinin gruplar arasında dağılım grafiği



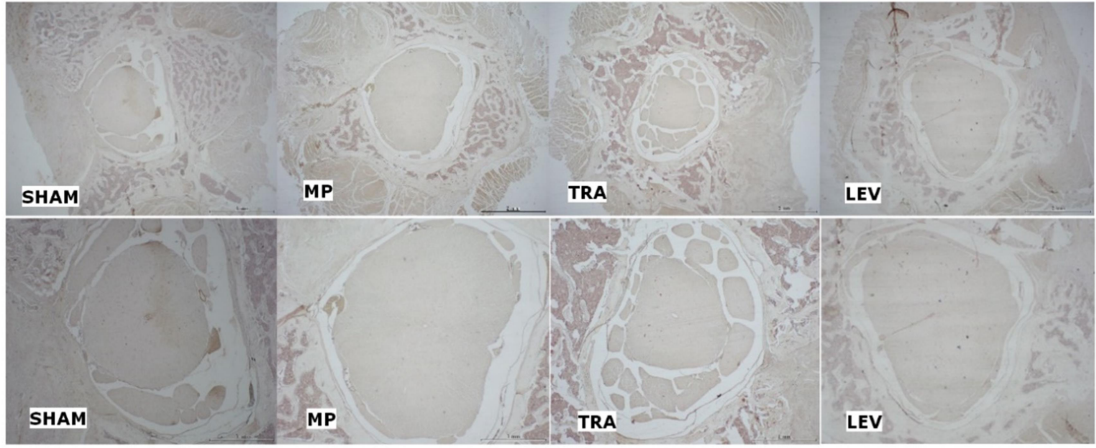
Grafik 4.2 Masson Trikrom boyama sonrası kollajen yoğunluk derecelerinin gruplar arasında dağılım grafiği



Grafik 4.3 Fibroblast derecelerinin gruplar arasında dağılım grafiği

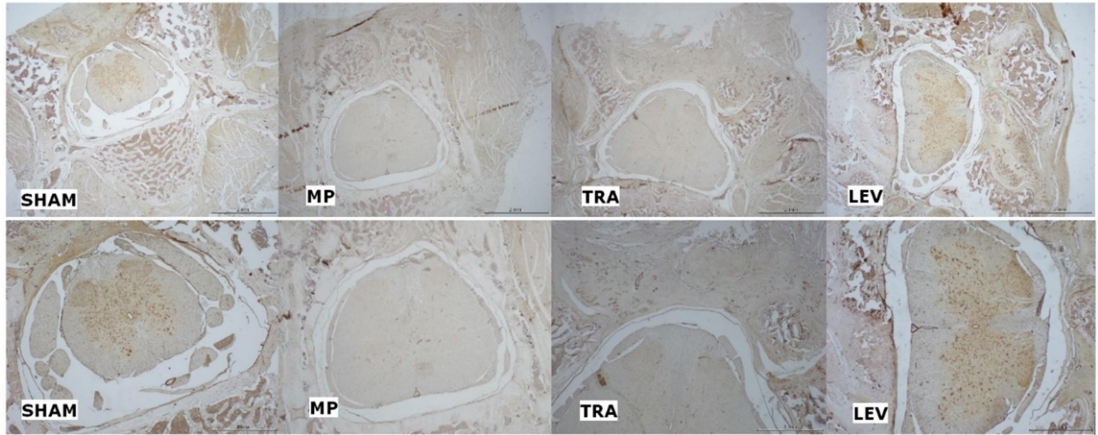
4.2. İmmünohistokimyasal İnceleme Bulguları

Epidural fibroziste kollajen tip 1 belirteci olan COL1A1 ile immün boyama sonrası Sham ve LEV gruplarında COL1A1 immunreaktivitesinin şiddetli olduğu gözlemlendi. MP ve gruplarında ise bu immünreaktivitenin Sham grubuna göre daha az ve birbirlerine benzer olduğu gözlemlendi (Resim 4.3).



Resim 4.3 Epidural fibrosiz düzeylerinin karşılaştırmalı immünohistokimyasal inceleme bulguları (COL1x10, COL1x40)

Epidural fibroziste ACTA2 ile immünboyama sonrası Sham ve OXT grubunda ACTA2 immünreaktivitesinin şiddetli olduğu gözlemlendi. MP ve ELP gruplarında ise bu immünreaktivitenin Sham ve OXT grubuna göre daha az ve birbirlerine benzer olduğu gözlemlendi (Resim 4.4).



Resim 4.4 Epidural fibrosiz düzeylerinin karşılaştırmalı immünohistokimyasal inceleme bulguları (ACTA2x10, ACTA2x40)

İmmünohistokimyasal boyama sonrası COL1A1 için H-SCORE değerleri tüm gruplar arasında farklı bulundu ($F=32.081$, $p<0.001$) (Tablo 4.3, Grafik 4.4). İkili grup karşılaştırmaları sonunda COL1A1 H-SCORE değerlerinin Sham-MP (ortalama fark=58.056, $p<0.001$), Sham-TRA (ortalama fark=51.667, $p<0.001$), MP-LEV

(ortalama fark=-34.722, $p<0.001$) ve TRA-LEV (ortalama fark=-28.333, $p=0.002$) grupları arasında farklı olduğu saptandı (Tablo 4.4).

Diğer yandan ACTA2 için H-SCORE değerlerinin tüm gruplar arasında istatistiksel olarak farklı olduğu görüldü ($X^2=15.848$, $p=0.001$) (Tablo 4.3, Grafik 4.5). İkili grup karşılaştırmalarında ACTA2 H-SCORE değerlerinin Sham-MP ($Z=-2.887$, $p=0.004$) ve Sham-TRA ($Z=-2.892$, $p=0.004$) grupları arasında farklı olduğu bulundu (Tablo 4.4).

Tablo 4.3 İmmunhistokimyasal bulguların grup karşılaştırmalarına ait istatistiksel analiz sonuçları

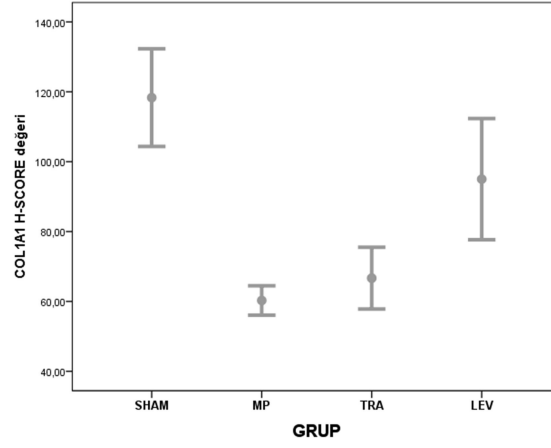
	Sham	MP	TRA	LEV		
	Ortalama±SS/ Medyan (min- mak)	Ortalama±SS/ Medyan (min- mak)	Ortalama±SS/ Medyan (min- mak)	Ortalama±SS/ Medyan (min- mak)	F/ X2	p
COL1A1	118.33±13.33	60.28±4.00	66.67±8.43	95.00±16.53	32.081*	<0.001
ACTA2	168 (128-202)	97 (88-120)	87 (82-112)	112 (90-140)	15.848†	0.001

(*) F değeri. One-Way Analysis of Variance testi; (†) X^2 değeri. Kruskal Wallis testi, $p < 0.05$

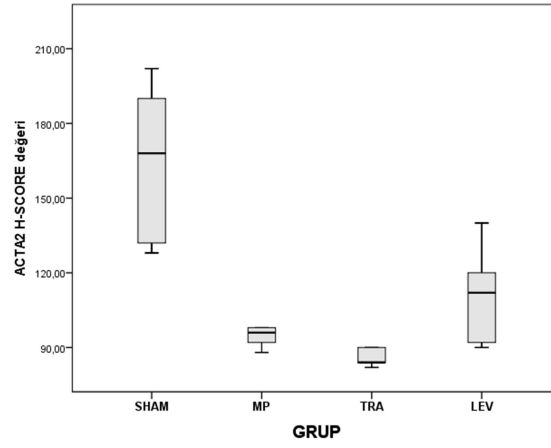
Tablo 4.4 İmmunhistokimyasal analiz bulguların istatistiksel analiz sonuçları

Değişken	Grup (I/J)	Ortalama fark/ Z	p
COL1A1 H-SCORE	Sham / MP	58.056*	<0.001
	Sham /TRA	51.667*	<0.001
	Sham / LEV	23.333*	0.012
	MP/ TRA	-6.389*	0.776
	MP/ LEV	-34.722*	<0.001
	TRA/ LEV	-28.333*	0.002
ACTA2 H-SCORE	Sham / MP	-2.887†	0.004
	Sham /TRA	-2.892†	0.004
	Sham / LEV	-2.562†	0.010
	MP/ TRA	-1.771†	0.077
	MP/ LEV	-0.966†	0.334
	TRA/ LEV	-2.262†	0.024

(*) ortalama fark değeri. Tukey Multiple Comparisons testi; (†) Z değeri. Mann-Whitney U testi ve Bonferroni Correction testi, $p < 0.0083$



Grafik 4.4 Gruplara ait COL1A1 H-SCORE değerlerinin grafiği



Grafik 4.5 Gruplara ait ACTA-2 H-SCORE değerlerinin grafiği

4.3. Biyokimyasal İnceleme Bulguları

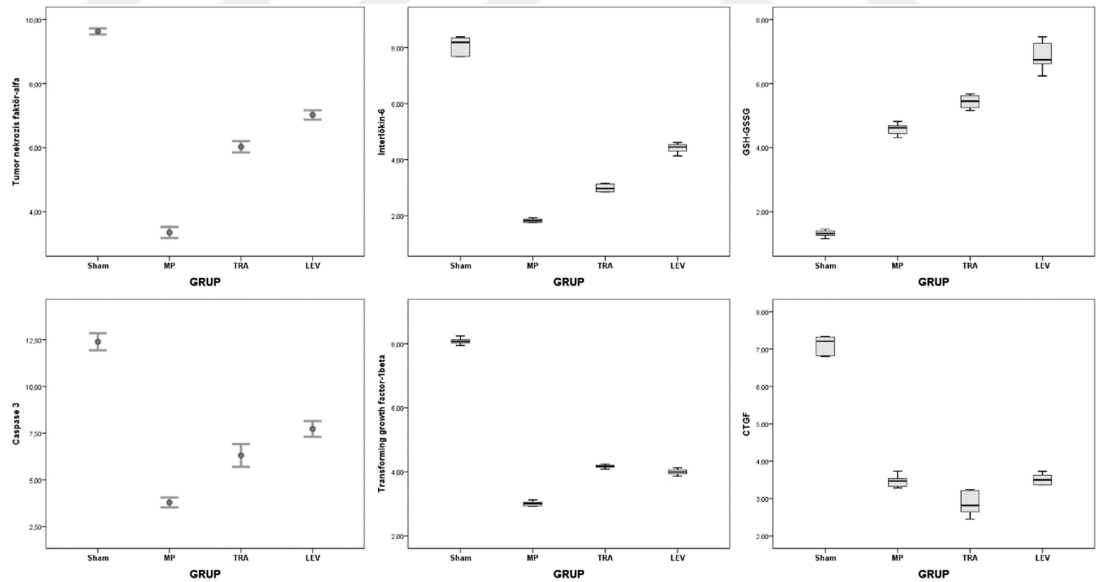
4.3.1. Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA) Analizi

Gruplar arasında TNF- α ($F=1962.289$, $p<0.001$), TGF- 1β ($X^2=21.367$, $p<0.001$), kaspaz-3 ($F=415.059$, $p<0.001$), GSH/GSSH ($X^2=21.609$, $p<0.001$), IL-6 ($X^2=21.600$, $p<0.001$) ve CTGF ($X^2=18.402$, $p<0.001$) düzeyleri istatistiksel olarak farklıydı (Tablo 4.5, Grafik 4.6). İkili grup karşılaştırmaları sonucunda CTGF düzeyleri hariç diğer bütün biyokimyasal parametrelerin Sham-MP, Sham-ELP, Sham-OXT, MP-ELP, MP-OXT ve ELP-OXT grupları arasında farklı olduğu görüldü ($p<0.0083$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.5 Tüm grupların ELISA yöntemiyle elde edilen biyokimyasal inceleme sonuçlarının istatistiksel analizi

	Sham	MP	TRA	LEV		
	Ortalama±SS/ Medyan (min- mak)	Ortalama±SS/ Medyan (min- mak)	Ortalama±SS/ Medyan (min- mak)	Ortalama±SS/ Medyan (min- mak)	F/ X ²	p
TNF- α	9.63±0.09	3.35±0.17	6.03±0.17	7.02±0.14	1962.289*	<0.001
IL6	8.19 (7.68-8.38)	1.82 (1.75-1.93)	2.97 (2.34-3.17)	4.45 (4.14-4.61)	21.600†	<0.001
GSH/GSSG	1.32 (1.16-1.46)	4.62 (4.32-4.82)	5.45 (5.16-5.68)	6.74 (6.24-7.64)	21.609†	<0.001
Caspase3	12.39±0.44	3.79±0.25	6.31±0.58	7.73±0.40	415.059*	<0.001
TGF-1 β	8.07 (7.95-8.24)	3.01 (2.93-3.12)	4.17 (4.08-4.25)	4.00 (3.86-4.13)	21.367†	<0.001
CTGF	7.21 (6.80-7.34)	3.47 (3.28-3.74)	2.81 (2.45-3.24)	3.50 (2.86-3.73)	18.407†	<0.001

(*) F değeri. One-Way Analysis of Variance testi; (†) X² değeri. Kruskal Wallis testi, p <0.05



Grafik 4.6 Gruplara ait biyokimyasal inceleme sonuçlarının grafiği

Tablo 4.6 Biyokimyasal analiz bulgularının ikili grup karşılaştırmalarına ait istatistiksel analiz sonuçları

Değişken	Grup (I/J)	Ortlama fark/ Z	p
TNF- α	Sham / MP	6.282*	<0.001
	Sham /TRA	3.605*	<0.001
	Sham / LEV	2.608*	<0.001
	MP/ TRA	-2.677*	<0.001
	MP/ LEV	-3.674*	<0.001
	TRA/ LEV	-1.000*	<0.001
IL-6	Sham / MP	-2.882†	0.004
	Sham /TRA	-2.882†	0.004
	Sham / LEV	-2.882†	0.004
	MP/ TRA	-2.882†	0.004
	MP/ LEV	-2.882†	0.004
	TRA/ LEV	-2.882†	0.004
GSH/GSSG	Sham / MP	-2.887†	0.004
	Sham /TRA	-2.887†	0.004
	Sham / LEV	-2.887†	0.004
	MP/ TRA	-2.882†	0.004
	MP/ LEV	-2.882†	0.004
	TRA/ LEV	-2.882†	0.004
Caspase 3	Sham / MP	8.605*	<0.001
	Sham /TRA	6.082*	<0.001
	Sham / LEV	4.667*	<0.001
	MP/ TRA	-2.523*	<0.001
	MP/ LEV	-3.938*	<0.001
	TRA/ LEV	-1.415*	<0.001
TGF-1 β	Sham / MP	-2.882†	0.004
	Sham /TRA	-2.882†	0.004
	Sham / LEV	-2.882†	0.004
	MP/ TRA	-2.882†	0.004
	MP/ LEV	-2.882†	0.004
	TRA/ LEV	-2.722†	0.006
CTGF	Sham / MP	-2.882†	0.004
	Sham /TRA	-2.882†	0.004
	Sham / LEV	-2.882†	0.004
	MP/ TRA	-2.882†	0.004
	MP/ LEV	-0.320†	0.749
	TRA/ LEV	-2.402†	0.016

(*) ortalama fark değeri. Tukey Multiple Comparisons testi; (†) Z değeri. Mann-Whitney U testi and Bonferroni Correction testi, p <0.0083

4.3.2. Western Blot Analizi

Western blot analizleri sonunda pAMPK ($X^2=17.119$, $p=0.001$), pmTOR ($X^2=20.745$, $p<0.001$), mTOR ($F=38.288$, $p<0.001$) ve pmTOR/ mTOR ($X^2=-2.887$, $p=0.004$) değerlerinin gruplar arasında farklı olduğu bulundu (Tablo 4.7, Grafik 4.7).

p-AMPK değerlerinin Sham-MP ($Z=-2.887$, $p=0.004$), Sham-TRA ($Z=-2.882$, $p=0.004$) ve Sham-LEV ($Z=-2.887$, $p=0.004$) grupları arasında farklı olduğu görüldü.

pmTOR değerlerinin ise Sham-MP ($Z=-2.908$, $p=0.004$), Sham-TRA ($Z=-2.908$, $p=0.004$), Sham-LEV ($Z=-2.903$, $p=0.004$), MP-TRA ($Z=-2.892$, $p=0.004$) ve MP-LEV ($Z=-2.887$, $p=0.004$) grupları arasında farklı olduğu saptandı.

mTOR değerlerinin Sham-MP (ortalama fark=-0.185, $p<0.001$), Sham-TRA (ortalama fark=-0.129, $p<0.001$), Sham-LEV (ortalama fark=-0.223, $p<0.001$) ve TRA-LEV (ortalama fark=-0.094, $p=0.002$) grupları arasında farklı olduğu bulundu.

Ancak pmTOR/ mTOR değerlerinin Sham-MP ($Z=-2.887$, $p=0.004$), Sham-TRA ($Z=-2.887$, $p=0.004$), Sham-LEV ($Z=-2.887$, $p=0.004$), MP-TRA ($Z=-2.882$, $p=0.004$) ve MP-LEV ($Z=-2.882$, $p=0.004$) grupları arasında farklı olduğu saptandı (Tablo 4.8).

Tablo 4.7 Tüm grupların western blot yöntemi kullanılarak elde edilen biyokimyasal sonuçlarının istatistiksel analizi

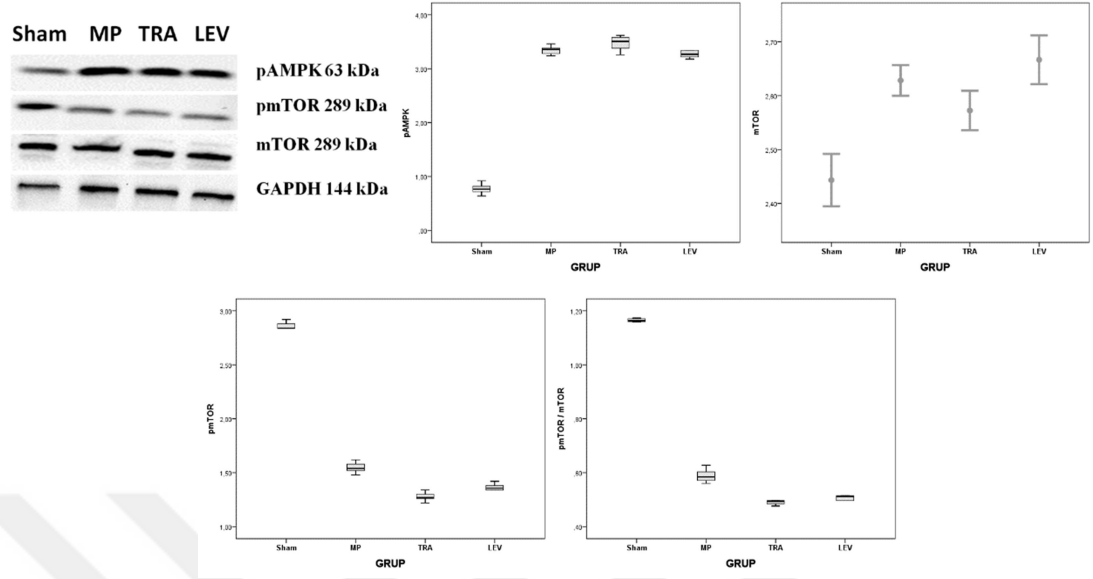
	Sham	MP	TRA	LEV		
Değişken	Ortalama±SS/ Medyan (min- mak)	Ortalama±SS/ Medyan (min- mak)	Ortalama±SS/ Medyan (min- mak)	Ortalama±SS/ Medyan (min- mak)	F/ X^2	p
pAMPK	0.77 (0.64-0.92)	3.36 (3.24-3.46)	3.51 (3.26-3.62)	3.27 (3.18-3.34)	17.119†	0.001
pmTOR	2.84 (2.76-2.92)	1.54 (1.48-1.62)	1.27 (1.22-1.34)	1.36 (1.26-1.42)	20.745†	<0.001
mTOR	2.44±.05	2.63±.03	2.57±.04	2.67±.04	38.288*	<0.001
pmTOR/ mTOR	1.16 (1.16-1.17)	0.58 (0.56-0.63)	0.49 (0.48-0.53)	0.51 (0.46-0.55)	-2.887†	0.004

(*) F değeri. One-way Analysis of Variance testi; (†) X^2 değeri. Kruskal Wallis testi, $p < 0.05$

Tablo 4.8 Western blot analiz bulgularının ikili grup karşılaştırmalarına ait istatistiksel analiz sonuçları

Değişken	Grup (I/J)	Ortalama fark/ Z	p
pAMPK	Sham / MP	-2.887†	0.004
	Sham / TRA	-2.882†	0.004
	Sham / LEV	-2.887†	0.004
	MP/ TRA	-1.613†	0.107
	MP/ LEV	-1.699†	0.089
	TRA/ LEV	-2.330†	0.020
pmTOR	Sham / MP	-2.908†	0.004
	Sham / TRA	-2.908†	0.004
	Sham / LEV	-2.903†	0.004
	MP/ TRA	-2.892†	0.004
	MP/ LEV	-2.887†	0.004
	TRA/ LEV	-2.181†	0.029
mTOR	Sham / MP	-0.185*	<0.001
	Sham / TRA	-0.129*	<0.001
	Sham / LEV	-0.223*	<0.001
	MP/ TRA	0.056*	0.090
	MP/ LEV	-0.038*	0.340
	TRA/ LEV	-0.094*	0.002
pmTOR/ mTOR	Sham / MP	-2.887†	0.004
	Sham / TRA	-2.887†	0.004
	Sham / LEV	-2.887†	0.004
	MP/ TRA	-2.882†	0.004
	MP/ LEV	-2.882†	0.004
	TRA/ LEV	-1.121†	0.262

(*) ortalama fark değeri. Tukey Multiple Comparisons testi; (†) Z değeri. Mann-Whitney U testi and Bonferroni Correction testi, $p < 0.0083$



Grafik 4.7 Tüm gruplara ait western blot inceleme sonuçlarının grafikleri

5. TARTIŞMA

Fibroblastlar yaralanma sonrası 36-72 saatler arasında mezenşimal hücre farklılaşmasıyla oluşurlar. [31,32,53] Kollajen yaralanma sonrası 72 ile 120 saatlerde fibroblastlar tarafından sentezlenir. [53] Yaralanma sonrası yirmi birinci güne kadar kollajen üretimi artar, ancak bu aşamadan sonra üretimde azalma olur. [42] Yara matürasyonunda zaman içinde Tip I kollajen miktarında artış olurken Tip III kollajen, proteoglikan ve su miktarında azalma olur. Kollajen fibriller yeniden şekillenir. [54] Omuriliğe uygulanan cerrahi girişimler sonrası oluşan peridural fibrozisin paravertebral kas, periostta oluşan fibröz doku ve ameliyat sonrası sahada kalan hematoma sonucu oluştuğu tahmin edilmektedir. Bu etkenler ameliyat sahasında kollojen sentezini artırır. Böylece IL-6, INF- γ , TNF- α , TGF β 1, CTGF, VEGF isimli mediyatörlerce devam eden inflamatuvar süreç fibrozisin oluşması ile noktalanır. [63-65] Diğer yandan miyofibroblastların fibroblastlarda bulunanlara benzer şekilde güçlü bir kasılma kuvveti üretme kapasiteleri aracılığıyla yara dokusunu kapatmada önemli rol oynadığı kabul edilmektedir. Yara kasılması α -SMA stres liflerine dahil edildiğinde bu aktin izoformunun granülasyon dokusu kasılmasında önemli bir rol oynadığı öne sürülmüştür. [145,146] Miyofibroblast farklılaşmasında yer alan sitokinler arasında yer alan TGF β 'nin doğrudan in vivo ve in vitro α -SMA ekspresyonunu indüklediği kanıtlanmıştır. [147,148]

Çalışmamızda uygulanan histopatolojik incelemeler sonrası epidural fibrozis düzeyinin en fazla Sham ve LEV grubunda olduğu görüldü. Diğer yandan TRA ve MP gruplarında epidural fibrozis düzeylerinin benzer ve diğer iki gruptan daha düşük düzeyde olduğu görüldü. Ayrıca MTS boyama sonrası Sham ve LEV gruplarında kollajen yoğunluk derecesinin MP ve TRA gruplarına göre belirgin düzeyde fazla olduğu bulundu. Ayrıca fibroblast yoğunluk derecelerinin Sham ve LEV gruplarında yüksek ama TRA ve MP gruplarında düşük olduğu saptandı. Bu bulgularla laminektomi sonrası gelişen epidural fibrozis düzeylerini azaltmada metilprednizolonun ve tramadolun levitirasetama göre daha etkili olduğu görüldü. Diğer yandan her ne kadar istatistiksel düzeyde anlamlı farklılık ortaya konamamış olsa da sayısal veriler incelendiğinde levitirasetamın da epidural fibrozisi Sham grubuna göre azaltabildiği ancak bu azaltma etkisinin metilprednizolon ya da tramadol kadar güçlü olmadığı düşünüldü.

Ayrıca immünohistokimyasal incelemeler sonunda Sham ve LEV gruplarında elde edilen COL1A1 H-SCORE değerlerinin MP ve TRA gruplarına göre belirgin düzeyde yüksek olduğu saptandı. Bu bulgularla hem metilprednizolonun hem de tramadolun laminektomi sonrası iyileşme döneminde cerrahi yapılan alanda kollajen oluşumunu belirgin düzeyde azaltabildiği gözlemlendi. Ancak sayısal verilere bakıldığında her ne kadar istatistiksel anlamlılık ortaya konamamış olsa da levitirasetamin da cerrahi yarada iyileşme sırasında kollajen oluşumunu azaltabildiği ancak bu etkisinin metilprednizolon ve tramadol kadar güçlü olmadığı düşünüldü. Her üç ajanın da α -SMA düzeylerini gösteren ACTA-2 H-SCORE değerlerini değiştiremediği görüldü. Bu bulgular ile her üç ajanın da yara tensil güçlerinde belirgin farklılık oluşturmadığı düşünüldü. Ancak sayısal veriler incelendiğinde her ne kadar istatistiksel farklılık bulunamamış olsa da ACTA-2 H-SCORE değerlerinin TRA grubunda en düşük olduğu ve bunu sırası ile MP ve LEV gruplarının takip ettiği görüldü. Böylece her üç ajanın da TGF- β düzeylerini azaltarak α -SMA düzeylerini azaltabileceği ve yara kasılma kuvvetlerini azaltabileceği düşünüldü ancak istatistiksel olarak bu düşünce desteklenemedi. Sonuç olarak her üç ajanın da yara gerilme/ kontraksiyon güçlerinde belirgin farklılık oluşturmadığı ve bu güçleri azaltmadığı savunuldu.

Makrofajlar, klasik (M1) veya alternatif (M2) aktivasyonun iki uç noktası arasındaki bir süreklilikte, çevrelerine yanıt olarak farklı fenotipleri benimseyebilirler. M1 fenotipi, proinflatuar sitokinlerin ve reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimi yoluyla inflamasyonun erken fazında anahtar bir rol oynar. M2 makrofajları ise doku onarımını ve inflamasyonun çözülmesini uyarır. [149] Bu çalışmanın biyokimyasal inceleme sonuçları incelendiğinde her üç ajanın da TNF düzeylerini Sham grubuna göre belirgin düzeyde azaltabildiği, bu azaltıcı etkinin en fazla metilprednizolonda olduğu, tramadol ve levitirasetamin bu etkiyi daha az gösterebildiği görüldü. Bu bulgularla her üç ajanın da yara iyileşme süreçlerinde yaralı dokuya makrofaj ve fibroblastları çağırma kemoatraktan görevi gören TNF düzeylerini azaltarak antienflatuar etki oluşturdıkları, böylece bu etki ile indirekt yoldan epidural fibrozis oluşumunu azaltabildikleri düşünüldü. Diğer yandan yara iyileşmesinin kronik sürecinde fibroblastları aktive eden IL-6 düzeylerini azaltabilmede her üç ajanın da etkili olduğu görüldü. Bu azaltıcı etkinliğin metilprednizolonda en fazla olduğu ve onu sırası ile tramadol ve levitirasetamin

izlediği saptandı. Bu bulgularla her üç ajanın da yara iyileşmesinin subakut kronik döneminde antienflamatuar etki göstererek fibroblast göçünü azaltmada ve indirekt yoldan epidural fibrozisi azaltmada etkili olabileceği düşünüldü.

Yaralanmış dokuya ulaşan lökositler ve sonrasında aktifleşen makrofajlar tarafından hücre dışına serbest oksijen radikallerini salınır. Bu oksijen radikalleri hem yara yerindeki patojenleri hem de ölü doku artıklarını temizlemekte kullanılır. [40,41] Çalışmamızda doku serbest oksijen radikallerinin indirek belirteci olarak kullanılan GSH/ GSSG düzeylerinin LEV grubunda en fazla ve Sham grubunda en düşük düzeyde olduğu görüldü. MP ve TRA gruplarında ise LEV grubuna göre daha düşük değerlerin elde edildiği saptandı. Bu bulgularla her üç ajanın da yaralı dokuda yıkıcı etkileri olan serbest radikallerin oluşumunu azaltabildikleri, bu etkinliği büyük oranda TNF ve IL 6 düzeylerini azaltarak ortama gelecek olan fagositik hücreleri azaltarak gösterdikleri düşünüldü.

Gruplara ait doku caspase-3 düzeylerinin Sham grubunda en yüksek ve MP grubunda en düşük olduğu saptandı. Bu bulgularla yara yerinde apoptozun engellenmesinde metilprednizolonun en etkili olduğu, onu sırası ile tramadol ve levetirasetamın takip ettiği görüldü. Böylece yara iyileşmesinin kronik safhasında halen apoptotik aktivitelerin devam ettiği ancak her üç ajanın da laminektomi sonrası gelişen epidural fibrozisi azaltmada antiapoptotik etkinliğinin olduğu, ancak bu etkinliğin en fazla metilprednizolonda olduğu ve en az levetirasetamda olduğu düşünüldü.

Yara yerinde kronik dönemde epidural fibrozisin ana komponenti olan kollajenin oluşumunun arttırılmasında etkili olan TGF β düzeylerinin Sham grubunda en fazla ve diğer üç grupta ise en düşük olduğu saptandı. Her üç ajanın da nerede ise benzer düzeyde TGF β inhibisyonu yaptığı gözlemlendi. Bu bulgularla her üç ajanın da epidural fibrozisin oluşmasında etkili olan kollajen sentezinin azaltılmasında etkili olabileceği düşünüldü. Ancak COL1A1 H-SCORE değerlerine bakıldığında kollajen oluşum düzeylerinin Sham grubunda en fazla ve metilprednizolon ve tramadol verilen deneklerde ise en az olduğu bulundu. Ancak levetirasetamın bu etkinliği göstermede zayıf kaldığı görüldü. Diğer yandan kollajen oluşum basamaklarında önemli görevleri olan CTGF değerlerinin Sham grubunda en fazla ve TRA grubunda en az olduğu bulundu. Ancak her üç ajanın da CTGF değerlerini düşürebildiği gözlemlendi. Bu etkinliği göstermede levetirasetamın zayıf kaldığı bulundu. Bu sonuçlarla her üç

ajanın da epidural fibrozis oluşumunda önemli yeri olan kollajenin azaltılmasında etkili olabileceği savunuldu.

Çalışmamızın western blot sonuçları incelendiğinde pAMPK değerlerinin Sham grubunda en düşük ve TRA grubunda en yüksek olduğu bulundu. Diğer yandan pmTOR düzeylerinin Sham grubunda en yüksek ve TRA grubunda en düşük olduğu saptandı. İlaveten pmTOR/ mTOR değerlerinin de Sham grubunda en yüksek ve TRA grubunda en düşük olduğu gözlemlendi. Bu bulgularla otofaji basamaklarının inhibisyonunda tramadolun en etkili ajan olduğu ve onu sırası ile metilprednizolonun ve levetirasetaminin takip ettiği bulundu. Bu sonuçlarla laminektomi sonrası kronik dönemde yara yerinde otofajik olayların devam ettiği ve otofajiyi azaltmada her üç ajanın da etkili olabileceği ve böylece epidural fibrozisi azaltabilecekleri düşünüldü.

Vücutta oluşan bir yaranın iyileşmesi için gelişen reaksiyonların hem başlatıcısı hem sürdürücüsü ve bazı durumlarda da fibrozisin meydana gelmesine sebep olan mekanizma enflamatuar süreçtir. Enflamasyonda vücudun sinyalizasyon sistemi sitokinler (TNF- α , INF- γ , TGF1 β , IL-6, VEGF, CTGF gibi mediyatörler) ve bağışıklık sisteminin hücresel elemanları (nötrofil, lenfosit, monosit gibi hücreler) aracılığıyla ortama çekilen fibroblastlar oluşan fibrozisin asıl kaynağı olan hücrelerdir. [9,63,64] Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ışığında her üç farmakolojik ajanın da yara iyileşmesinin akut, subakut ve kronik dönem enflamatuar reaksiyonlarında antiinflamatuar etki gösterebildiği sonucuna ulaşıldı. Her ne kadar akut dönem reaksiyonların oluşumunu başlatan nötrofil ve monositlerin sayım sonuçları bu çalışmada yer almamış olsa da her üç ajanın fibroblastların yaralı dokuya göçünü büyük oranda azaltabildiği görüldü ve bu azaltmanın akut ve subakut dönemde nötrofil, monosit ve makrofaj sayılarındaki azaltmaları ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Bu düşünceyi destekleyen bulgular ise dokularda ölçülen akut döneme ait TNF ve subakut döneme ait IL-6 seviyelerinin her üç grupta da Sham grubuna göre düşük ölçülmesi oldu. Ayrıca dokularda ölçülen GSH/ GSSG düzeylerinin Sham grubunda en düşük ve diğer üç grupta yüksek ölçülmüş olması da ortamdaki nötrofil ve monosit sayılarının ve dolayısı ile bu hücrelerden ortama salınan serbest oksijen radikallerinin seviyelerinin düşük olduğunun indirekt göstergesi idi. Nitekim literatürde levetirasetaminin hasarlı nöronal dokularda TNF- α , IL-1 β , IL-6, iNOS düzeylerini azaltarak ve TGF- β ekspresyonunu düzenleyerek mikrogliya aktivasyonu kontrol edebildiği ve antiinflamatuar etki gösterebildiği

bildirilmiştir. [118-121] Ayrıca tramadolün M1 sitokinlerinin (TNF- α , IL-6, IL-12) üretimini inhibe ederken M2 belirteçlerinin (Arg1, Ym1, Mrc1, Fizz1) salgılanmasını teşvik ettiği bulunmuştur. [150] Dolayısı ile yaralı dokuya göç eden nötrofil ve monosit sayısının azalmasının beraberinde makrofaj sayısının azalmasına da neden olduğu düşünüldü. Azalan makrofaj sayısının ise dokuda ölçülen TGF β ve CGTF düzeylerinin azalmasına neden olduğu ve bunun da fibroblast ve myofibroblast sayılarında azalma ile sonuçlandığı kabul edildi. Azalan fibroblast sayısının ise yaralı dokuda sentezlenecek olan kollajen ve α -SMA düzeylerini azalttığı savunuldu. Ayrıca azalan TGF β ve CGTF düzeylerinin dokularda caspase-3, pmTOR/ mTOR düzeylerini azalttığı ve pAMKA düzeylerini arttırdığı ve bunun da yaralı dokudaki doku yıkımını minimuma indirdiği düşünüldü. Tüm bu bulgularla her üç ajanın da omurga cerrahisi sonrası hastada gelişebilecek epidural fibrozisi azaltmada etkili olabileceği kabul edildi.

Yukarda özetlenen sonuçlar doğrultusunda metilprednizolonun yara iyileşmesi üzerine olan negatif etkileri de düşünüldüğünde tramadol ve/ veya levetirasetamin ameliyat sonrası hastalarda epidural fibrozisi önlemeye yönelik kullanımının hastaya büyük faydalar sağlayabileceği savunuldu. Özellikle tramadolun opioid analjezik özelliği göz önünde bulundurulduğunda ameliyat sonrası hastalarda hem ağrıyı ciddi düzeyde azaltmada hem de epidural fibrozis oluşumunu en aza indirmede etkili bir ilaç olabileceği düşünüldü. Diğer yandan levetirasetamin antifibrotik etkileri yanı sıra antinosiseptif etkileri de göz önünde bulundurulduğunda ameliyat sonrası kullanımının hastada hem epidural fibrozisi azaltmada hem de mükerrer ameliyat edilen hastalarda olası nöropatik ağrı oluşumunu engellemede etkili bir ajan olabileceği savunuldu.

Limitasyonlar

Bu çalışmanın bazı kısıtlılıkları vardı: Birincisi, bu çalışmada ileri düzey histopatolojik (floresans mikroskopi, elektron mikroskopi gibi) ve biyokimyasal (gerçek zamanlı polimeraz zincir tepkimesi (rt-PCR) gibi) metotlar ekonomik ve/ veya alt yapı yetersizlikleri nedeni ile uygulanamadı. Ayrıca bu çalışma yara iyileşmesinin kronik dönem sonuçlarına yönelik yapıldığı için dokulardaki nötrofil, monosit ve makrofaj hücre sayım sonuçları da bu çalışmada yer almadı. Dolayısı ile bu çalışmada dokularda ölçülen düşük TNF, IL-6, TGF β , CGTF, caspase-3, pmTOR/ mTOR düzeylerinin ve yüksek GSH/ GSSG ve pAMKA düzeylerinin hangi

mekanizmalar sonrası ortaya çıktığı ayrıntılı bir şekilde ortaya konamadı. Ancak yine de çalışmadan elde edilen sonuçlar oldukça ilginçti ve bu alanda yapılacak yeni çalışmalara ışık tutacak nitelikte idi. İkincisi, bu çalışmada kullanılan farmakolojik ajanların yara yerine lokal uygulanmasıyla (absorbe olabilen sünger benzeri materyallere emdirilerek yara yerine bırakılmaları gibi) epidural fibrozis üzerine olan etkileri, absorbe olabilen materyallerin de yara yerinde yabancı cisim reaksiyonuna neden olarak bulguları bozabileceği düşünülerek çalışmaya dahil edilmedi. Üçüncüsü, deneyde kullanılan farmakolojik ajanlar farklı gruplara değişik dozlarda sistemik uygulanmadığından bu ilaçların yara iyileşmesinde kullanılabilecek optimum dozları belirlenemedi. Dördüncüsü, deneklerde oluşturulan yara modelinde iyileşme sonrasında yara yerinde oluşan cilt, cilt-altı, kas fasyası ve kas dokularındaki gerilme (tensil) kuvvetlerinin ölçümü bazı teknik yetersizlikler nedeni ile test edilemedi. Bu nedenle de çalışmada kullanılan ajanların yara iyileşmesi sonrası yaranın tensil kuvvetine olan etkileri ortaya konamadı. Beşincisi, deneyin uygulandığı hayvanlarda oluşan epidural fibrozise ikincil gelişebilecek sinirsel yapılarıdaki fonksiyon kayıplarını göstermeye yönelik motor aktiviteyi değerlendiren testler (yüzme testi, tırmanma testi gibi) uygulanmadı. Son olarak, teknik yetersizlikler nedeni ile epidural alanda oluşan fibrotik dokuların miktarı ve nöral dokular üzerine olan mekanik baskısı radyolojik yöntemler (MR gibi) kullanılarak gösterilemedi.

6. SONUÇLAR

1. Histopatolojik incelemeler sonunda metilprednizolon ve tramadolun epidural fibrozis derecelerini, fibroblast ve kollajen yoğunluk düzeylerini azaltabildikleri saptandı.
2. İmmünohistokimyasal incelemeler sonunda epidural fibrozisi oluşturan kollajen doku düzeylerini azaltmada metilprednizolonun ve tramadolun daha fazla etkili olduğu bulundu.
3. Her üç ajanın da TNF ve IL 6 düzeylerini azalttığı ve böylece epidural fibrozisi azaltmada antienflamatuar etkinliklerinin olduğu görüldü.
4. Her üç ajanın da GSH/ GSSG düzeylerini arttırdığı ve böylece epidural fibrozisi azaltmada antioksidan etkinliklerinin olduğu görüldü.
5. Her üç ajanın da caspase-3 düzeylerini azaltarak antiapoptotik etki gösterdikleri bulundu.
6. Her üç ajanın da TGF ve CTGF düzeylerini azaltarak epidural fibroziste kollajen olumunu azaltabildikleri saptandı.
7. Her üç ajanın da pAMPK değerlerini artırarak, pmTOR düzeylerini azaltarak otofajiyi kontrol ettikleri ve epidural fibrozisi azalttıkları bulundu.

Sonuç olarak her üç ajanın da antienflamatuar, antioksidan, antiapoptotik, antiofajik etkilerinin olduğu ve bu etkileri sayesinde epidural fibrozisi azaltabildikleri bulundu. Metilprednizolonun yara üzerine olan olumsuz etkileri göz önünde bulundurulduğunda tramadol ve levotrasetaimin klinik uygulamada epidural fibrozisi azaltmada etkin ilaçlar olarak kullanılabileceği düşünüldü. Ayrıca tramadolun narkotik analjezik etkileri de göz önünde bulundurulduğunda hem ameliyat sonrası dönemde oluşan ağrıların azaltılmasında hem de epidural fibrozis düzeyinin azaltılmasında etkin bir ilaç olabileceği ve klinik kullanımda akılda bulundurulması gerektiği savunuldu.

7. KAYNAKÇA

1. Aktaş Ş. Kronik yarada lokal faktörler ve yardımcı tedaviler. ANKEM Derg. 2012; 26: 217-222.
2. Barbul A. Wound healing. Schwartz's Principles of Surgery. Mc Graw Hill Eight edition. 2005; 223.
3. Sherris DA, Kern EB. The Wound. In Basic Surgical Skills, Mayo Foundation for medical Education and research, Rochester, 1999:8-12.
4. Onat DA. Yara İyileşmesi. Temel Klinik Bilimler. Saraçoğlu F(ed), cilt2, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Ankara, 1989:635-636.
5. Rook's Textbook of Dermatology. (2004). In T. Burns, S. Breathnach, N. Cox, & C. Griffiths (Eds.), Rook's Textbook of Dermatology. Blackwell Publishing, Inc. <https://doi.org/10.1002/9780470750520>
6. Francis, C., Soltani, Francis, C., Hammoudeh, Urata, Reinisch, Motamed, & Sanchez-Lara. (2012). Hypertrophic scarring in cleft lip repair: a comparison of incidence among ethnic groups. Clinical Epidemiology, 4(1), 187. <https://doi.org/10.2147/CLEP.S31119>
7. Korovessis P. Effectivity of Biophysical Barriers in Peridural Fibrosis. J Invest Surg. 2019 Jun;32(4):369-370. doi: 10.1080/08941939.2018.1425780.
8. DiFazio FA, Nichols JB, Pope MH, Frymoyer JW. (1995). The use of expanded polytetrafluoroethylene as an interpositional membrane after lumbar laminectomy. Spine 20:986-991.
9. Kasimcan, M.O., Bakar, B., Aktaş, S., Alhan, A., & Yilmaz, M. (2011). Effectiveness of the biophysical barriers on the peridural fibrosis of a postlaminectomy rat model: An experimental research. Injury, 42(8), 778–781. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2010.12.017>
10. Bitar, M.S. (1998). Glucocorticoid dynamics and impaired wound healing in diabetes mellitus. American Journal of Pathology, 152(2), 547–554.

11. Castela, E., Archier, E., Devaux, S., Gallini, A., Aractingi, S., Cribier, B., Jullien, D., Aubin, F., Bachelez, H., Joly, P., Le Maître, M., Misery, L., Richard, M.A., Paul, C., & Ortonne, J.P. (2012). Topical corticosteroids in plaque psoriasis: a systematic review of risk of adrenal axis suppression and skin atrophy. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 26 Suppl 3(SUPPL. 3), 47–51. <https://doi.org/10.1111/J.1468-3083.2012.04523.X>
12. Diwan, P. V., Tilloo, L.D., & Kulkarni, D.R. (1983). Steroid depressed wound healing and tridax procumbens. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 27(1), 32–36.
13. Beck, L.S., DeGuzman, L., Lee, W.P., Xu, Y., Siegel, M.W., & Amento, E.P. (1993). One systemic administration of transforming growth factor-beta 1 reverses age- or glucocorticoid-impaired wound healing. *The Journal of Clinical Investigation*, 92(6), 2841–2849. <https://doi.org/10.1172/JCI116904>
14. Ehrlich, H.P., & Hunt, T.K. (1969). The effects of cortisone and anabolic steroids on the tensile strength of healing wounds. *Annals of Surgery*, 170(2), 203. <https://doi.org/10.1097/00000658-196908000-00007>
15. Ehrlich, H.P., Tarver, H., & Hunt, T.K. (1973). Effects of vitamin A and glucocorticoids upon inflammation and collagen synthesis. *Annals of Surgery*, 177(2), 222. <https://doi.org/10.1097/00000658-197302000-00017>
16. Perez, J.R., Shull, S., Cutroneo, K.R., Gendimenico, G.J., Capetola, R.J., & Mezick, J.A. (1992). Glucocorticoid and retinoid regulation of alpha-2 type I procollagen promoter activity. *Journal of Cellular Biochemistry*, 50(1), 26–34. <https://doi.org/10.1002/JCB.240500107>
17. Wicke, C., Halliday, B., Allen, D., Roche, N.S., Scheuenestuhl, H., Spencer, M.M., Roberts, A.B., & Hunt, T.K. (2000). Effects of steroids and retinoids on wound healing. *Archives of Surgery*, 135(11), 1265–1270. <https://doi.org/10.1001/archsurg.135.11.1265>
18. Finley MJ , Happel CM , Kaminsky DE , ve diğerleri. Opioid ve nosiseptin reseptörleri, sitokin ve sitokin reseptörü ekspresyonunu düzenler . *Hücre İmmünolü*. 2008 ;252(1–2): 146 – 154

19. Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, et al: Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an ‘atypical’ opioid analgesic. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 260: 275-285.
20. Patsalos P.N. Pharmacokinetic profile of levetiracetam: toward ideal characteristics, *Pharmacol Ther* 2000; 85: 77-85.
21. Verrotti A, D'Adamo E, Parisi P, Chiarelli F, Curatolo P. Levetiracetam in childhood epilepsy. *Paediatr Drugs*. 2010; 12: 177-86.
22. Deckers CL, Genton P, Sills GJ, Schmidt D. Current limitations of antiepileptic drug therapy: a conference review. *Epilepsy Res*. 2003; 53: 1-17.
23. Patsalos P.N. Clinical Pharmacokinetics of Levetiracetam. *Clin Pharmacokinet* 2004; 43: 707-724.
24. Mazarati AM, Baldwin R, Klitgaard H, Matagne A. Anticonvulsant effects of levetiracetam and levetiracetam-diazepam combinations in experimental status epilepticus. *Epilepsy Res* 2004; 58: 167-74.
25. Egemen Nursoy, Mustafa Ogden, Bulent Bakar, Gungor Çağdaş Dincel, Uçler Kisa, & Mehmet Faik Ozveren, Research on the Effects of Levetiracetam in Spinal Cord Injury Model in Rats: An Experimental Study *J Invest Surg*. 2020 Mar;33(3):252-262.
26. Hanon E, Klitgaard H. Neuroprotective properties of the novel antiepileptic drug levetiracetam in the rat middle cerebral artery occlusion model of focal cerebral ischemia. *Seizure*. 2001; 10: 287-93.
27. Oliveira AA, Almeida JP, Freitas RM, et al. Effects of levetiracetam in lipid peroxidation level, nitrite-nitrate formation and antioxidant enzymatic activity in mice brain after pilocarpine-induced seizures. *Cell Mol Neurobiol*. 2007; 27: 395-406.
28. Kim JS, Kondratyev A, Tomita Y, Gale K. Neurodevelopmental impact of antiepileptic drugs and seizures in the immature brain. *Epilepsia*. 2007;48 Suppl 5: 19-26.
29. Robbins SL, Kumar V. İltihap ve onarım. Uluoglu O. *Patoloji Dördüncü Baskı*. Philadelphia, WB Saunders, 1990: 32-75.

30. Öztöpalan DF, Işık R, Durmuş AS. Yara İyileşmesinde Büyüme Faktörleri ve Sitokinlerin Rolü. Dicle Üniv Vet Fak Derg 2017;10(1):83-883, 9.kaynak, 10.kaynak
31. Feldmann M, Brennan FM. Cytokines and disease. Oppenheim JJ, Feldmann M (eds). Cytokine Reference. San Diego, Academic Press, 2001: 35-51.
32. Feldmann M, Male D: Cell cooperation in the immune response. Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology Second Edition. London, Churchill Livingstone, 1991: 1-8.
33. Male D, Roitt I: Adaptive and innate immunity. Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology Second Edition. London, Churchill Livingstone, 1991: 1-9.
34. Mitchell RN, Cotran RS. Akut ve kronik inflamasyon. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Temel Patoloji 6. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2000: 25-46.
35. Mitchell RN, Cotran RS. Onarım: Hücre rejenerasyonu, fibrosis ve yara iyileşmesi. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Temel Patoloji 6. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2000: 47-59.
36. Bienvenu J. Exploration of cytokines in biological fluids. CR Seances Soc Biol Fil 1995; 189(55): 545.
37. Kuby J. Immunology. W.H. Freeman and Company, 1992: 245.
38. Cekinmez M, Erdogan B, Tufan K, Sarica FB, Ozen O, Caner H. Is topical tissue plasminogen activator application effective on prevention of the post-laminectomy epidural fibrosis? An experimental study. Neurological Research 2009; 31: 322-326
39. Aghabeigi B. The pathophysiology of pain. Br Dent J. 1992; 173(3): 91-97.
40. Bevilacqua MP, Nelson RM, Mannori G, Cecconi O. Endothelial-leucocyte adhesion molecules in human disease. Annu Rev Med 1994; 45: 361-378.
41. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Inflammation and repair. Pathologic basis of disease. Philadelphia, WB Saunders Comp, 1994: 51-92
42. Gurtner G. Wound healing in normal and abnormal. Grabb and Smith's Plastic Surgery. Philadelphia, Lippincott-Raven, 2007: 15-22.

43. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003; 83(3): 835-870
44. Baum CL, Arpey CJ. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatol Surg* 2005; 31(6): 674-686.
45. Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274(31): 21491-4.
46. Lawrence WT. Physiology of the acute wound. *Clin Plast Surg* 1998; 25(3): 321-40.
47. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. *Plast Reconstr Surg* 2006; 117(7 Suppl): 1-32.
48. Damjanov I, Linder J: *Inflammation and Regeneration: Anderson's Pathology Tenth Edition*. Philadelphia, Mosby, 1996: 387-416.
49. Simpson DM, Ross R. The neutrophilic leukocyte in wound repair a study with antineutrophil serum. *J Clin Invest* 1972; 51(8): 2009-2023.
50. Buck M, Houghum K, Chojkier M. Tumor necrosis factor-alpha inhibits collagen alpha1(I) gene expression and wound healing in a murine model of cachexia. *Am J Pathol* 1996; 149(1): 195-204.
51. Mullington JM, Hinze-Selch D, Pollmavhar T. Mediators of inflammation. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 933(10): 201.
52. Einhaus SL, Robertson JT, Dohan FCJ, Wujek JR, Ahmad S: Reduction of peridural fibrosis after lumbar laminotomy and discectomy in dogs by a resorbable gel Adcon-L. *Spine* 1997; 22: 1440-1447.
53. Enlace WA, Ramage EA, Lamp D, Howie SE: A type 2 (Th2 like) pattern of immune response predominates in the pulmonary interstitium of patients with cryptogenic fibrosing alveolitis (CFA). *Clin Exp Immunol* 1995; 101: 436-441.
54. Lichtenstein IL, Herzikoff S, Shore JM, Jiron MW, Stuart S, Mizuno L: The Dynamics of wound healing. *Surg Gynecol and Obstet* 1970; 130(4): 685-690.
55. Bayat A, Bock O, Mrowietz U, Ollier WE, Ferguson MW. Genetic susceptibility to keloid disease and hypertrophic scarring: transforming growth factor

beta1 common polymorphisms and plasma levels. *Plast Reconstr Surg*. 2003; 111(2): 535- 546.

56. Szulgit G, Rudolph R, Wandel A, Tenenhaus M, Panos R, Gardner H. Alterations in fibroblast alpha1beta1 integrin collagen receptor expression in keloids and hypertrophic scars. *J Invest Dermatol* 2002; 118(3): 409-415.

57. Urioste SS, Arndt KA, Dover JS. Keloids and hypertrophic scars: review and treatment strategies. *Semin Cutan Med Surg*. 1999; 18(2): 159-171.

58. Tuan TL, Zhu JY, Sun B, Nichter LS, Nimni ME, Laug WE. Elevated levels of plasminogen activator inhibitor-1 may account for the altered fibrinolysis by keloid fibroblasts. *J Invest Dermatol* 1996; 106(5): 1007-1011

59. Ladin DA, Hou Z, Patel D, McPhail M, Olson JC, Saed GM, Fivenson DP. p53 and apoptosis alterations in keloids and keloid fibroblasts. *Wound Repair Regen* 1998; 6(1): 28-37.

60. Nakano M, Matsui H, Miaki K, Yamagami T, Tsuji H. Postlaminectomy adhesion of the cauda equina. changes of postoperative vascular permeability of the equina in rats. *Spine* 1997; 22(10): 1105-1114.

61. Schwicker D. Cost effectiveness of lumbar disc surgery and of a preventive treatment for peridural fibrosis. *Eur Spine J* 1996; 5(1): 21-25.

62. Geisler FH. Prevention of epidural fibrosis: current methodologies. *Neurological Research* 1999; 21(1): 9-22.

63. Akkurt, I., Bakar, B., Dincel, G.C., Yildiran, F.A.B., Ogden, M., Nursoy, E., & Sari, E. (2019). Effectiveness of the Biophysical Barriers to the Peridural Fibrosis in Rat Laminectomy Model. *Journal of Investigative Surgery*, 32(4), 361–368.

64. Hedayatyanfard, K., Haddadi, N., Ziai, S.A., Karim, H., Niazi, F., Steckelings, U.M., Habibi, B., Modarressi, A., & Dehpour, A. (2020). The renin-angiotensin system in cutaneous hypertrophic scar and keloid formation. *Experimental Dermatology*, exd.14154. <https://doi.org/10.1111/exd.14154>

65. Yang, T., Chen, Y.-Y., Liu, J.-R., Zhao, H., Vaziri, N.D., Guo, Y., & Zhao, Y.-Y. (2019). Natural products against renin-angiotensin system for antifibrosis

therapy. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 179, 623–633.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.091>

66. Gorgulu A, Simsek O, Cobanoglu S, Imer M, Turgay P. The effect of epidural free fat graft on the outcome of lumbar disc surgery. *Neurosurgical Review* 2004; 27(3): 181-184.

67. Kemaloglu S, Ozkan U, Yılmaz F, Nas K, Gur A, Acemoglu H, Karasu H, Cakmak E. Prevention of spinal epidural fibrosis by recombinant tissue plasminogen activator in rats. *Spinal Cord* 2003; 41: 427-431.

68. Temel SG, Ozturk C, Temiz A, Ersozlu S, Aydinli U. A new material for prevention of epidural fibrosis after laminectomy. *J Spinal Disord Tech* 2006; 19: 270-275.

69. H, Atalay B. Başarısız bel cerrahisi sendromu. Zileli M, Özer AF (editörler), *Omurilik ve Omurga cerrahisi*. 2. Baskı. İzmir, Meta Basım, 2002: 789-795.

70. Gerszten PC, Moossy JJ. Inhibition of peridural fibrosis after laminectomy using low-dose external beam radiation in a dog model. *Neurosurgery* 2000; 46(6): 1478-1485.

71. Kato T, Haro H, Komori H, Shinomiya K. Evaluation of hyaluronic acid sheet for the prevention of postlaminectomy adhesions. *The Spine Journal* 2005; 5(5): 479-488

72. Pospiech J, Pajonk F, Stolke D. Epidural scar tissue formation after spinal surgery: an experimental study. *Eur Spine* 1995; 4: 213-219.

73. Young WF, Jallo J. Failed back surgery syndrome. *Contemporary Neurosurgery* 1993; 15(21): 1-6.

74. Benoist M, Ficat C, Baraf P, Cauchoix J. Postoperative lumbar epiduroaracnoiditis. *Spine* 1994; 5(5): 432-436.

75. Jönsson BO, Strömquist B. Repeat Decompression of lumbar Nerve Roots. A Prospective Two-year Evaluation. *J Bone Joint Surg (Br)* 1993; 75-b(6): 894-897.

76. Haughton VM, Nyugen CM, Ho KC. The etiology of focal spinal arachnoiditis: an experimental study. *Spine* 1993; 18(9): 1193-1198.

77. Hoyland JA, Freemont AJ, Denton J, Thomas AMC, McMillian JJ, Jasyon MIV. Retained surgical swab debris in post-laminectomy arachnoiditis and peridural fibrosis. *J Bone Joint Surg (Br)* 1988; 70-b: 659-662.
78. Jayson MIV. The role of vascular damage and fibrosis in the pathogenesis of nerve root damage. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 1992; 279: 40-48.
79. Alkalay RN, Kim DH, Urry DW, Xu J, Parker TM, Glazer PA. Prevention of postlaminectomy epidural fibrosis using bioelastic materials. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2003; 28(15): 1659-1665.
80. Bryant MS, Bremer AM, Nyugen TQ. Autogeneic fat transplants in the epidural space in routine lumbar spine: MR imaging assesment. *AJNR* 1988; 9: 169-178.
81. Prusick VR, Lint DS, Bruder J. Cauda Equina Syndrome as a complication of free epidural fat grafting. *J Bone Joint Surg* 1988; 70-A(8): 1256-1258.
82. Yuan J, Zou M, Xiang X, Zhu H, Chu W, Liu W, Chen F, Lin J. Curcumin improves neural function after spinal cord injury by the joint inhibition of the intracellular and extracellular components of glial scar. *J Surg Research* 2015; 195: 325-245
83. Koç RK, Akdemir H, Karaküçük Eİ, et al: Effect of methylprednisolone, tirilazad mesylate and vitamin E on lipid peroxydation after experimental spinal cord injury. *Spinal Cord*, 1999, 37: 29-32.
84. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, Holford TR, Young W, Baskin DS, Eisenberg HM, Flamm E, Leo-Summers L, Maroon J, et al. A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury. Results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study. *N Engl J Med*. 1990 May 17;322(20):1405-11. doi: 10.1056/NEJM199005173222001. PMID: 2278545.
85. Bao, F., Chen, Y., Dekaban, G.A., & Weaver, L.C. (2004). An anti-CD11d integrin antibody reduces cyclooxygenase-2 expression and protein and DNA oxidation after spinal cord injury in rats. *Journal of Neurochemistry*, 90(5), 1194–1204. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02580.x>

86. Xu, J., Fan, G., Chen, S., Wu, Y., Xu, X.M., & Hsu, C.Y. (1998). Methylprednisolone inhibition of TNF- α expression and NF- κ B activation after spinal cord injury in rats. *Molecular Brain Research*, 59(2), 135–142. [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(98\)00142-9](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(98)00142-9)
87. Wagner, A.E., Huck, G., Stiehl, D.P., Jelkmann, W., & Hellwig-Bürgel, T. (2008). Dexamethasone impairs hypoxia-inducible factor-1 function. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 372(2), 336–340. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2008.05.061>
88. Smith, W.L., DeWitt, D.L., & Garavito, R.M. (2000). Cyclooxygenases: Structural, Cellular, and Molecular Biology. *Annual Review of Biochemistry*, 69(1), 145–182. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.69.1.145>
89. Franz, M.G., Steed, D.L., & Robson, M.C. (2007). Optimizing healing of the acute wound by minimizing complications. *Current Problems in Surgery*, 44(11), 691–763. <https://doi.org/10.1067/J.CPSURG.2007.07.001>
90. Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C., & Perkins, J.A. (2017). Robbins Basic Pathology. In Elsevier Health Sciences. Elsevier.
91. S. Grond, A. Sablotzki Clinical pharmacology of tramadol Clin Pharmacokinet, 43 (2004), pp. 879-923
92. Kraychete, D. C., Sakata, R. K., Issy, A. M., Bacellar, O., Jesus, R. S., & Carvalho, E. M. (2009). Proinflammatory cytokines in patients with neuropathic pain treated with Tramadol. *Revista brasileira de anestesiologia*, 59(3), 297–303. <https://doi.org/10.1590/s0034-70942009000300004>
93. Drucker M., Cardenas E., Arizti P., Valenzuela A., Gamboa A. Experimental studies on the effect of lidocaine on wound healing. *World J Surg*, 1998, 22 : 394-397
94. Dere K., Sen H., Teksoz E et al. The comparison of the effects of different doses of levobupivacaine infiltration on wound healing. *J Invest Surg*, 2009, 22 : 112-116.
95. Leffler A., Frank G., Kistner K., Niedermirtl F., Koppert W., Reeh P. W., Nau C. Local anesthetic-like inhibition of voltagegated Na(+) channels by the partial μ -opioid receptor agonist buprenorphine. *Anesthesiology*, 2012, 116 : 1335-1346.

96. Brodin P., Skoglund L. A. Dose-response inhibition of rat compound nerve action potential by dextropropoxyphene and codeine compared to morphine and cocaine in vitro. *Gen Pharmacol*, 1990, 21 : 551-553.

97. Kakagia D., Vogiatzaki T., Eleftheriadis S., Trypsiannis G., Iatrou C. Local infiltrative anesthetic effect of tramadol compared to lidocaine for excision of cutaneous lesions : Pilot randomized, double-blind clinical study. *J Cutan Med Surg*, 2012, 16 : 101-106.

98. Matkap E., BEdirli N., akkaya t., GüMüş H. Preincisional local infiltration of tramadol at the trocar site versus intravenous tramadol for pain control after laparoscopic cholecystectomy. *J Clin Anesth*, 2011, 23 : 197-201.)

99. D. Özkan, D. Seher, J. Ergil, A. Yalcindag, U. Han, Z. Ginis, M. Akinci & N. Delibas3 (2013) The Effects of Tramadol Infiltration on Wound Healing in Rats, *Acta Chirurgica Belgica*, 113:6, 434-438

100. TeresaCunha-OliveiraAna CristinaRegoCatarina R.OliveiraCellular and molecular mechanisms involved in the neurotoxicity of opioid and psychostimulant drugs *Brain Res Rev*. 2008 Jun;58(1):192-208.

101. RezaSoltani, Mahdi EskandarianBoroujeni, FakhroddinAghajanpour, AysanKhatmi, SamiraEzi, Tramadol exposure upregulated apoptosis, inflammation and autophagy in PC12 cells and rat's striatum: An in vitro- in vivo approach *J Chem Neuroanat*. 2020 Nov;109:101820.

102. Amany Mohamed Shalaby , Adel Mohamed Aboregela , Mohamed Ali Alabiad , Dina Fouad El Shaer, Tramadol Promotes Oxidative Stress, Fibrosis, Apoptosis, Ultrastructural and Biochemical alterations in the Adrenal Cortex of Adult Male Rat with Possible Reversibility after Withdrawal, *Microsc Microanal*. 2020 Jun;26(3):509-523.

103. Hancı V, Hakimoğlu S, Özaçmak H, Bektaş S, Özaçmak HS, Özdamar SO, Yurtlu S, Turan İÖ. Comparison of the effects of bupivacaine, lidocaine, and tramadol infiltration on wound healing in rats. *Rev Bras Anesthesiol*. 2012 Nov-Dec;62(6):799-810. doi: 10.1016/S0034-7094(12)70180-0. PMID: 23176988.

104. De Smedt T, Raedt R, Vonck K, Boon P. Levetiracetam: the profile of a novel anticonvulsant drug-part I: preclinical data. *CNS Drug Rev*. 2007;13:43–56.

105. Micov A, Tomic M, Popovic B, Stepanovic'-Petrovic R. The antihyperalgesic effect of levetiracetam in an inflammatory model of pain in rats: mechanism of action. *Br J Pharmacol*. 2010;161:384–92
106. Hall ED, Springer JE. Neuroprotection and acute spinal cord injury: a reappraisal. *NeuroRx*. 2004;1(1):80-100.
107. Archer DP, Lamberty Y, Wang B, Davis MJ, Samanani N, Roth SH. Levetiracetam reduces anesthetic-induced hyperalgesia in rats. *Anesth Analg*. 2007;104:180–185.
108. Ardid D, Lamberty Y, Alloui A, Coudore-Civiale MA, Klitgaard H, Eschaliere A. Antihyperalgesic effect of levetiracetam in neuropathic pain models in rats. *Eur J Pharmacol*. 2003;473:27–33.
109. MS, Anderson DG, Snyder JW, Deschner S, Cifu DX. Effectiveness of levetiracetam in the treatment of lumbar radiculopathy: an open-label prospective cohort study. *PM R*. 2009 Apr;1(4):335-9. doi: 10.1016/j.pmrj.2008.12.004. PMID: 19627916.
110. Rossi S, Mataluni G, Codecà C, Fiore S, Buttari F, Musella A, et al. Effects of levetiracetam on chronic pain in multiple sclerosis: results of a pilot, randomized, placebo-controlled study. *Eur J Neurol*. 2009;16:360–366.
111. Silva J, Dolezal T, Prochazkova M, Votava M, Krsiak M. Preemptive levetiracetam decreases postoperative pain in rats. *Neuro Endocrinol Lett*. 2008;29:953–957.
112. Jorns TP, Johnston A, Zakrzewska JM. Pilot study to evaluate the efficacy and tolerability of levetiracetam (Keppra) in treatment of patients with trigeminal neuralgia. *Eur J Neurol*. 2009;16:740–744.
113. Field MJ, Oles RJ, Lewis AS, McCleary S, Hughes J, Singh L. Gabapentin (neurontin) and S-(+)-3-isobutylgaba represent a novel class of selective antihyperalgesic agents. *Br J Pharmacol*. 1997;121:1513–1522.
114. Tomić MA, Vučković SM, Stepanović-Petrović RM, Ugrešić N, Prostran MS, Bošković B. The anti-hyperalgesic effects of carbamazepine and oxcarbazepine are attenuated by treatment with adenosine receptor antagonists. *Pain*. 2004;111:253–260.

115. Stepanović-Petrović RM, Tomić MA, Vučković SM, Kocev N, Ugrešić ND, Prostran MS, et al. GABAergic mechanisms are involved in the antihyperalgesic effects of carbamazepine and oxcarbazepine in a rat model of inflammatory hyperalgesia. *Pharmacology*. 2008;82:53–58.
116. Stöhr T, Krause E, Selve N. Lacosamide displays potent antinociceptive effects in animal models for inflammatory pain. *Eur J Pain*. 2006;10:241–249.
117. Vučković SM, Tomić MA, Stepanović-Petrović RM, Ugrešić N, Prostran MS, Bošković B. The effects of alpha2-adrenoceptor agents on anti-hyperalgesic effects of carbamazepine and oxcarbazepine in a rat model of inflammatory pain. *Pain*. 2006;125:10-19.
118. Itoh K, Ishihara Y, Komori R, Nochi H, Taniguchi R, Chiba Y, Ueno M, Takata-Tsuji F, Dohgu S, Kataoka Y. Levetiracetam treatment influences blood-brain barrier failure associated with angiogenesis and inflammatory responses in the acute phase of epileptogenesis in post-status epilepticus mice. *Brain Res*. 2016 Dec 1;1652:1-13. doi: 10.1016/j.brainres.2016.09.038. Epub 2016 Sep 28. PMID: 27693413.
119. Mohammad HMF, Sami MM, Makary S, Toraih EA, Mohamed AO, El-Ghaiesh SH. Neuroprotective effect of levetiracetam in mouse diabetic retinopathy: Effect on glucose transporter-1 and GAP43 expression. *Life Sci*. 2019 Sep 1;232:116588. doi: 10.1016/j.lfs.2019.116588. Epub 2019 Jun 18. PMID: 31226418.
120. Stienen MN, Haghighi A, Dambach H, Thöne J, Wiemann M, Gold R, Chan A, Dermietzel R, Faustmann PM, Hinkerohe D, Prochnow N. Anti-inflammatory effects of the anticonvulsant drug levetiracetam on electrophysiological properties of astroglia are mediated via TGFβ1 regulation. *Br J Pharmacol*. 2011 Jan;162(2):491-507. doi: 10.1111/j.1476-5381.2010.01038.x. PMID: 20955362; PMCID: PMC3031068.
121. Yao X, Yang W, Ren Z, Zhang H, Shi D, Li Y, Yu Z, Guo Q, Yang G, Gu Y, Zhao H, Ren K. Neuroprotective and Angiogenesis Effects of Levetiracetam Following Ischemic Stroke in Rats. *Front Pharmacol*. 2021 May 14;12:638209. doi: 10.3389/fphar.2021.638209. PMID: 34054520; PMCID: PMC8161206.

122. Omnia Ahmed Mohamed Abed El-Gaphar, Amira M.Abo-Youssef, Gouda KamelHalal, Levetiracetam mitigates lipopolysaccharide-induced JAK2/STAT3 and TLR4/MAPK signaling pathways activation in a rat model of adjuvant- induced arthritis Eur J Pharmacol.2018 Mayıs 5;826:85-95
123. Radica M Stepanović-Petrović , Ana M Micov, Maja A Tomić, Nenad D Ugrišić, The local peripheral antihyperalgesic effect of levetiracetam and its mechanism of action in an inflammatory pain model Anesth Analg.2012 Dec;115(6):1457-66
124. E.A. Lukyanetz, V.M. Shkryl, P.G. Kostyuk , Selective blockade of N-type calcium channels by levetiracetam Epilepsia, 43 (1) (2002), pp. 9-18
125. Niespodziany I., Klitgaard H., Margineanu D.G., Levetiracetam inhibits the high-voltage-activated Ca(2+) current in pyramidal neurones of rat hippocampal slices, Neurosci. Lett., 306 (2001), pp. 5-8
126. V. Belcastro, L. Pierguidi, N. Tambasco, Levetiracetam in brain ischemia: clinical implications in neuroprotection and prevention of post-stroke epilepsy, Brain Dev, 33 (4) (2011), pp. 289-293
127. M. Madeja, D.G. Margineanu, A. Gorji, E. Siep, P. Boerrigter, H. Klitgaard, et al., Reduction of voltage-operated potassium currents by levetiracetam: a novel antiepileptic mechanism of action? , Neuropharmacology, 45 (5) (2003), pp. 661-671
128. Fuks B., Gillard M., Michel P., Lynch B., Vertongen P., Leprince P., Klitgaard H., Chatelain P., Localization and photoaffinity labelling of the levetiracetam binding site in rat brain and certain cell lines, Eur. J. Pharmacol., 478 (2003), pp. 11-19
129. Gillard M., Fuks B., Michel P., Vertongen P., Massingham R., Chatelain P., Binding characteristics of [3H]ucb 30889 to levetiracetam binding sites in rat brain, Eur. J. Pharmacol., 478 (2003), pp. 1-9
130. Lynch B.A., Lambeng N., Nocka K., Kensel-Hammes P., Bajjalieh S.M., Matagne A., Fuks B., The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam, Proc.Natl. Acad. Sci. U. S. A., 101 (2004), pp. 9861-9866

131. Lukyanetz E.A., Shkryl V.M., Kostyuk P.G., Selective blockade of N-type calcium channels by levetiracetam, *Epilepsia*, 43 (2002), pp. 9-18
132. Yuto Ueda, Taku Doi, Mayuko Takaki, Keiko Nagatomo, Akira Nakajima, L James Willmore Levetiracetam enhances endogenous antioxidant in the hippocampus of rats: in vivo evaluation by brain microdialysis combined with ESR spectroscopy *Brain Res.* 2009 Apr 17;1266:1-7.
133. Sies H, Cadenas E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1985;311(1152):617-631.
134. Kutluhan S, Nazıroğlu M, Celik O, et al. Effects of selenium and topiramate on lipid peroxidation and antioxidant vitamin levels in blood of pentylenetetrazol-induced epileptic rats. *Biol Trace Elem Res* 2009;129(1-3):181-189.
135. Asuman Orhan Varoglu 1, Abdulkadir Yildirim, Recep Aygul, Omer Lutfi Gundogdu, Yasar Nuri Sahin Effects of valproate, carbamazepine, and levetiracetam on the antioxidant and oxidant systems in epileptic patients and their clinical importance *Clin Neuropharmacol.* 2010 May;33(3):155-157.
136. Hasan Kilicdag , Kenan Daglıoglu, Seyda Erdogan, Aslan Guzel, Leman Sencar, Sait Polat, Suzan Zorludemir, The effect of levetiracetam on neuronal apoptosis in neonatal rat model of hypoxic ischemic brain injury *Early Hum Dev.* 2013 May;89(5):355-360.
137. Bianca Maria Scicchitano, Silvia Sorrentino, Gabriella Proietti, Gina Lama, Gabriella Dobrowolny, Levetiracetam enhances the temozolomide effect on glioblastoma stem cell proliferation and apoptosis *Cancer Cell Int.* 2018 Sep 10;18:136.
138. Hong Xia, Jiaqiang Huang, Jian Liu, Hua Zhang, Dawei Chen, Wen Zhang, Levetiracetam Attenuates the Spinal Cord Injury Induced by Acute Trauma via Suppressing the Expression of Perforin *Comput Math Methods Med.* 2022 May 19;2022:7218666.
139. Oytun Erbaş, Fatih Oltulu, Mustafa Yılmaz, Altuğ Yavaşoğlu, Dilek Taşkıran, Neuroprotective effects of chronic administration of levetiracetam in a rat model of diabetic neuropathy *Diabetes Res Clin Pract.* 2016 Apr;114:106-16.

140. Bayhan I, Turtay MG, Ciftci O, Cetin A, Basak N, Namık Oztanır M, Oguzturk H, Gurbuz S, Guven T. Comparison of immunological, histological and oxidative effects of felbamate and levetiracetam in traumatic brain injury. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020 Jun;24(12):7083-7091. doi: 10.26355/eurrev_202006_21702. PMID: 32633403.

141. Souza AG, Chaves Filho AJM, Souza Oliveira JV, de Souza DAA, Lopes IS, de Carvalho MAJ, de Lima KA, Florenço Sousa FC, Mendes Vasconcelos SM, Macedo D, de França Fonteles MM. Prevention of pentylenetetrazole-induced kindling and behavioral comorbidities in mice by levetiracetam combined with the GLP-1 agonist liraglutide: Involvement of brain antioxidant and BDNF upregulating properties. *Biomed Pharmacother.* 2019 Jan;109:429-439. doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.066. Epub 2018 Nov 3. PMID: 30399578

142. Mazhar F, Malhi SM, Simjee SU. Comparative studies on the effects of clinically used anticonvulsants on the oxidative stress biomarkers in pentylenetetrazole-induced kindling model of epileptogenesis in mice. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2017 Jan 1;28(1):31-42. doi: 10.1515/jbcpp-2016-0034. PMID: 27658141.

143. Shi JQ, Wang BR, Tian YY, Xu J, Gao L, Zhao SL, Jiang T, Xie HG, Zhang YD. Antiepileptics topiramate and levetiracetam alleviate behavioral deficits and reduce neuropathology in APPswe/PS1dE9 transgenic mice. *CNS Neurosci Ther.* 2013 Nov;19(11):871-81. doi: 10.1111/cns.12144. Epub 2013 Jul 27. PMID: 23889921; PMCID: PMC6493595.

144. Hinton, JL, Warejcka DJ, Mei Y, McLendon RE, Laurencin C, Lucas PA, Robinson JS Jr. Inhibition of epidural scar formation after lumbar laminectomy in the rat. *Spine (Phila Pa 1976).* 1995 Mar 1;20(5):564-70; discussion 579-80. doi: 10.1097/00007632-199503010-00011. PMID: 7604326.

145. Serini G, Gabbiani G. Mechanisms of myofibroblast activity and phenotypic modulation. *Exp Cell Res.* 1999 Aug 1;250(2):273-83. doi: 10.1006/excr.1999.4543. PMID: 10413583.

146. Darby I, Skalli O, Gabbiani G. Alpha-smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing. *Lab Invest.* 1990 Jul;63(1):21-9. PMID: 2197503.

147. Desmoulière A, Geinoz A, Gabbiani F, Gabbiani G. Transforming growth factor-beta 1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts. *J Cell Biol.* 1993 Jul;122(1):103-11. doi: 10.1083/jcb.122.1.103. PMID: 8314838; PMCID: PMC2119614.

148. Rønnov-Jessen L, Petersen OW. Induction of alpha-smooth muscle actin by transforming growth factor-beta 1 in quiescent human breast gland fibroblasts. Implications for myofibroblast generation in breast neoplasia. *Lab Invest.* 1993 Jun;68(6):696-707. PMID: 8515656.

149. Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest.* 2012 Mar;122(3):787-95. doi: 10.1172/JCI59643. Epub 2012 Mar 1. PMID: 22378047; PMCID: PMC3287223.

150. Zhang J, Chen L, Sun Y, Li Y. Tramadol differentially regulates M1 and M2 macrophages from human umbilical cord blood. *Inflammopharmacology.* 2017 Mar 17. doi: 10.1007/s10787-017-0338-z. Epub ahead of print. PMID: 28303368.

151. Hirsch, F.R., Varella-Garcia, M., Bunn, P.A., Di Maria, M. V., Veve, R., Bremnes, R.M., Barón, A.E., Zeng, C., & Franklin, W.A. (2003). Epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung carcinomas: correlation between gene copy number and protein expression and impact on prognosis. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 21(20), 3798–3807. <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.11.069>



8. EKLER

Ek-1 Etik Kurul Kararı



Toplantı Tarihi : 21/10/2020

Toplantı Sayısı : 2020/06

Karar No : 37

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

1) Projenin Başlığı:

Ratlarda laminektomi sonrası gelişen peridural fibrozisin önlenmesinde tramadol ve levettirasetam etkilerinin araştırılması

2) Proje Yöneticisi:

Unvan, Adı, Soyadı : Dr. Öğr. Üyesi Ulaş YÜKSEL
Anabilim Dalı : Nöroşirurji AD
Fakülte/Enstitü : Tıp Fakültesi
Üniversite/Kurum : Kırıkkale Üniversitesi
Cep Telefonu :
İş Telefonu :
E-Mail Adresi :
Yazışma Adresi : Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Beyin Cerrahisi Kliniği
Deney Hayvanı Kullanım Sertifikası ☒var/ ☐yok
Deney Hayvanı Kullanım Sertifikası yıl/sayı 2016/KKUHADYK / 0777

Sayı	Araştırmacının
1)	Unvanı, Adı ve Soyadı:Arş.Gör.Dr. İbrahim Umud BULUT Projedeki görevi:Deneyin gerçekleştirilmesi, yardımcı araştırmacı Görev yeri: Kırıkkale Üniversitesi Fakültesi Nöroşirurji AD Adres: E-Mail Adresi: Telefon numarası:
2)	Unvanı, Adı ve Soyadı:Doç. Dr. Bülent BAKAR Projedeki görevi:Danışma, yardımcı araştırmacı Görev yeri: Kırıkkale Üniversitesi Fakültesi Nöroşirurji AD Adres: E-Mail Adresi: Telefon numarası:
3)	Unvanı, Adı ve Soyadı:Prof. Dr. Aslı Ceylan Projedeki görevi:Biyokimyasal değerlendirme Görev yeri: Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD Adres: E-Mail Adresi:

1

	Telefon numarası:
4	Unvanı, Adı ve Soyadı: Dr. Öğr. Üyesi Bahar Kartal Projedeki görevi: Histopatolojik değerlendirme Görev yeri: Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD Adres: E-Mail Adresi: Telefon numarası:

4) Proje Tarihleri:

Proje Başlangıç Tarihi : 01.01.2021
 Proje Bitiş Tarihi : 01.07.2022
 Proje Süresi : 18 AY

5) Hayvan Türü,ırkı, Sayısı, Cinsiyeti, Yaşı, Ağırlığı:

Tür	ırk	Sayı	Cinsiyet	Yaş	Ağırlığı
☒ Siçan	Wistar Albino	32	☒ E ☐ D		300-350

6) Deneyin Yapılacağı Yer:

☒ Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deneyel Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı

7) Projenin Özeti

Günümüz spinal cerrahi klinik pratiğinde stenoz, disk hernisi veya fraktürler için yapılan cerrahi girişimlerin çoğunda farklı derecelerde de olsa yapılan laminektomi prosedürü, dura ile çevre dokular arasındaki bariyeri ortadan kaldırarak olası bir fibrozis durumunda ciddi komplikasyonlara yol açabilen klinik tablolar oluşturmaktadır. Epidural fibrozis adı verilen bu klinik tablo hem postoperatif geçmeyen ağrı, yeni gelişen stenoz ve bası bulguları ile başvurulabilmekte, yeniden yapılması gereken cerrahi girişimlerin de riskini artırmaktadır.

Bu çalışmada daha önce yapılan literatür taramasında epidural fibrozis için kullanılmakta olan metilprednizolon gibi antienflamatuar ajanlar, bariyerler ve lokal uygulama denemeleri görülmüş ancak maliyet-etkin, yan etki profili yaygın kullanıma müsait olacak kadar güvenli bir ilaca rastlanmamıştır. Son dönemde çeşitli dokularda fibrozis ve yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri gösterilmiş olan tramadol ve levitirasetamın daha önce epidural fibrozis üzerinde etkinliği kanıtlanmış metilprednizolon ve postoperatif ilaçsız takip ile karşılaştırılarak, bahsi geçen ilaçların epidural fibrozisin engellenmesinde ve azaltılmasında etkinliği ortaya koyulmuş olacaktır.

Deneyel araştırma protokolunda tramadol hidroklorür ve levitirasetam isimli farmakolojik ajanlar test edilecektir. Ratlarda laminektomi yapılarak spinal cerrahi sonrası peridural fibrozis modeli oluşturulacak ve sonrasında takipleri yapılarak kronik dönemde (otuz gün) deneyel ajanların peridural fibrozis fizyopatogenezine etkileri araştırılacaktır. Deney süresi sonunda deneklere ötenazi uygulanacak ve deneklerin cerrahi geçirmiş spinal kolon segmentleri makroskopik olarak çıkarılıp postmortem aşağıdaki muameleye tabi tutulacaktır.

- **Histopatolojik inceleme** için ayrılan dokular rutin doku takip işleminden sonra parafine gömülecek; parafin dokulardan 5 µm kalınlığında kesitler alınıp hematoksilin-eosin ve masson-trikrom ile boyanacaktır. Tüm kesitler ışık mikroskobu ile incelenip fotoğraflanacaktır.

- **İmmünohistokimyasal inceleme** için ayrılan dokular rutin doku takip işlemleri sonrası immün boyalar ile boyanacaktır. Tüm kesitler ışık mikroskobu ile incelenip fotoğraflanacaktır.

- **Biyokimyasal analiz** çalışmalarında ise yaralı dokudaki inflamatuvar sitokin analizi, apoptoz ve otofaji yolları incelenerek doku yıkımının ve fibrozisin kantitatif analizi yapılacaktır.

İnflamatuvar Sitokinler	Apopto Belirteçleri	Otofaji Belirteçleri
✓ Interlökin-6	✓ Kaspaz-3	✓ belcin-1
✓ Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α)		✓ Lc3 I/II
✓ Dönüştürücü büyüme faktörü-1 beta (TGF1 β)		✓ p62
✓ Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)		✓ mTOR
✓ Bağ Doku Büyüme Faktörü (CTGF)		✓ p-mTOR
		✓ AMPK
		✓ p-AMPK

Elde edilen histopatolojik ve biyokimyasal analizi sonuçları ışığında bu kimyasal maddelerin kronik süreçte peridural fibrozisin engellenmesi için tedavi üzerine olası olumlu etkileri ortaya konmuş olacaktır.

KARAR: Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji AD Dr. Öğr. Üyesi Ulaş YÜKSEL ‘ın, ‘‘ **Ratlarda laminektomi sonrası gelişen peridural fibrozisin önlenmesinde tramadol ve levitirasetam etkilerinin araştırılması** ‘‘ isimli projesi, Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deney Hayvanları Araştırma Ünitesinde yapılması şartı ile, Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu Yönergesinde belirtilmiş olan Etik İlkelere uygun olduğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Siyami KARAHAN
Başkan

Prof. Dr. Murat YILDIRIM
Başkan Vekili

Prof. Dr. Berkant ÖZPOLAT
Üye

Prof. Dr. Umut TEKİN
Üye

Prof. Dr. Mustafa TÜRK
Üye

Prof. Dr. Serkan ERAT
Üye

Doç. Dr. Faruk PEHLİVANLI
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Nahit PAMUKOĞLU
Üye

Yusuf BOSTANCI
Üye

Mustafa AKIN
Üye

Dr. Yaşar ŞAHİN
Üye

Tanın ve Orman Bakanlığının 15.02.2014 tarihli Resmi Gazetede yayınlanarak yürürlüğe giren Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik hükümlerince karar alınmış olup ilgili yönetmelik hükümlerine uymayanlara ve yetkisi olmadığı halde hayvan deneyi yapanlara 5199 Hayvanları Koruma Kanununun 28 inci maddesinin birinci fıkrasının (f) bendi gereğince işlem uygulanır.

Ek-2 Bilimsel Araştırma Projesi Öneri Formu

	T.C. KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ PROJE ÖNERİ FORMU	F-1
---	---	------------

1. GENEL BİLGİLER

Proje No	2021/004
Proje Başlığı	Ratlarda Laminektomi Sonrası Gelişen Peridural Fibrozisin Önlenmesinde Tramadol Ve Levetirasetam Etkilerinin Araştırılması
Project Title	Investigation of the Effects of Tramadol and Levetiracetam in Prevention of Peridural Fibrosis After Laminectomy in Rats

Projenin Türü	Doktora/Tıpta Uzmanlık Tez Projesi
Etik Kurul İzin Belgesi	☒ Var Ek'de Sunuldu. ☐ Gerekli Değil.
Öğrenci Kayıt Tarihi	02-10-2017
Mali Destek Sağlanması için Son Tarih	02-10-2022

Proje Yürütücüsü

Ünvanı, Adı SOYADI	Dr. Öğr. Üyesi Ulaş YÜKSEL	İmza :
Bölümü	Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü	
Fakülte/Enstitü/YO/Merkez	Tıp Fakültesi	
Proje Katkısı (%)	20	
E-posta :		İş Telefonu :

Destekleyen Kuruluş	Onaylayan Yetkili
Adı :	Adı SOYADI :
Adresi :	Görevi :
	İmza :
Telefon :	E-posta :
	Tarih :

	Öneri (Proje Yürütücüsü)	Kabul (Komisyon)
Başlangıç Tarihi	15-01-2021 10:38:08	08-02-2021
Süresi	18 ay	18 ay

Proje Personeli

Ünvanı, Adı SOYADI	[1] Arş. Gör. Dr. İbrahim Umud BULUT	[2] Doç. Dr. Bülent BAKAR	[3] Prof. Dr. Aslı Fahriye CEYLAN IŞIK	[4] Dr. Öğr. Üyesi Bahar KARTAL
E-Posta				
Proje'deki Görevi	Araştırmacı	Araştırmacı	Araştırmacı	Araştırmacı
Projeye Katkısı(%)	20	20	20	20

Ek-3 iThenticate İntihal Değerlendirme Raporu

IBRAHİM UMUD BULUT-TEZ-
PLAGIARISM.docx

WORD COUNT

9468

TIME SUBMITTED

08-JAN-2023 09:50PM

PAPER ID

95309987

IBRAHIM UMUD BULUT-TEZ-PLAGIARISM.docx

ORIGINALITY REPORT

16%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

- 1 **acikbilim.yok.gov.tr** 1146 words — 11%
Internet
- 2 Elif Sari, Bulent Bakar, Gungor Cagdas Dincel, Fatma Azize Budak Yildiran. "Effects of DMSO on a rabbit ear hypertrophic scar model: A controlled randomized experimental study", Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery, 2017 168 words — 2%
Crossref
- 3 Suleyman Akkaya, Mustafa Ogden, Bahar Kartal, Bahar Say, Fahriye Aslı Ceylan, Merva Akkaya, Bulent Bakar. "Evaluation of the therapeutic effects of calcium dobesilate in sciatic nerve crush injury in rats.", Injury, 2022 121 words — 1%
Crossref
- 4 **9lib.net** 71 words — 1%
Internet
- 5 Alemiddin Ozdemir, Mustafa Ogden, Bahar Kartal, Asli Fahriye Ceylan, Ulas Yuksel, Bulent Bakar. "Investigation of therapeutic effects of calcium dobesilate in cerebral hypoxia/ reperfusion injury in rats", Neurological Research, 2022 62 words — 1%
Crossref
- 6 Kopic, Emina. "Yaş Tip Yaşa Bağlı Maküla Dejenerasyonunda Intravitreal Aflibersept ve 29 words — < 1%

Ranibizumab Tedavisinin Anatomik ve Fonksiyonel Sonuçlarının
Karşılaştırılması", Bursa Uludag University (Turkey), 2022

ProQuest

-
- 7 titck.gov.tr 21 words — < 1%
Internet
-
- 8 Wenjie Xu, Hancheng Geng, Liyun Wu, Junyan Jin, Dong Han, Xiaoming Zhu, Yunxia Yang, Haokun Liu, Shouqi Xie. "Feeding restriction unalters physiological responses to dietary lipid and carbohydrate levels in juvenile gibel carp (Carassius gibelio)", Aquaculture Reports, 2022 15 words — < 1%
Crossref
-
- 9 Savran, Mehmet. "Sicanlarda epidural fibrozisin onlenmesinde, sitikolinin sistemik ve lokal etkinliginin laminotomi / diskektomi modelinde arastirilmesi", Bursa Uludag University (Turkey), 2021 12 words — < 1%
ProQuest
-
- 10 www.turkiyeklinikleri.com 11 words — < 1%
Internet
-
- 11 avesis.cu.edu.tr 9 words — < 1%
Internet
-
- 12 www.tandfonline.com 9 words — < 1%
Internet
-
- 13 Aba, Yilda Arzu. "Adolesan Gebelere Verilen Danismanlik Hizmetlerinin: Anne Adayinin Dogum oncesi Ve Sonrasina Uyumu Ile Bebegini Algilamasina Etkisi", Marmara Universitesi (Turkey) 8 words — < 1%
ProQuest
-
- 14 acikerisim.deu.edu.tr 8 words — < 1%
Internet
-

- 15 acikerisim.erbakan.edu.tr 8 words — < 1%
Internet
-
- 16 docksci.com 8 words — < 1%
Internet
-
- 17 Emine Arzu Kose, Bulent Bakar, Sebnem Kupana Ayva, Kamer Kilinc, Alpaslan Apan. "Neuroprotective effects of racemic ketamine and (S)-ketamine on spinal cord injury in rat", Injury, 2012 6 words — < 1%
Crossref
-
- 18 Kasimcan, M.O.. "Effectiveness of the biophysical barriers on the peridural fibrosis of a postlaminectomy rat model: An experimental research", Injury, 201108 6 words — < 1%
Crossref
-
- 19 Koca, Raviye Ozen. "Norokinin 3 Reseptorunun Sican Deneyisel Alzheimer Modelinde Kognitif Davranislar uzerine Etkisi", Necmettin Erbakan University (Turkey) 6 words — < 1%
ProQuest

EXCLUDE QUOTES OFF
EXCLUDE BIBLIOGRAPHY OFF

EXCLUDE SOURCES OFF
EXCLUDE MATCHES OFF

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: İbrahim Umud BULUT

Doğum Tarihi:

Yabancı Dil: İngilizce

Eğitim Durumu: Üniversite mezunu

Lisans: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi 2000-2008

Yüksek Lisans:

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahi A.D. 2017-

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl/Yıllar:

2008-2010 Batman Bölge Devlet Hastanesi/Acil Servis

2010-2012 Batman Beşiri Çevrimova Aile Sağlığı Merkezi

2012-2015 Batman 3 Nolu Aile Sağlığı Merkezi

2015-2017 Batman 5 Nolu Aile Sağlığı Merkezi

2017- Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Kliniği, Kırıkkale
Yayınları (SCI):

- Çelik, S. B., Bucaktepe, G. E., Uludağ, A., Bulut, İ. U., Erdem, Ö., & Altınbaş, K. (2016). Screening mixed depression and bipolarity in the postpartum period at a primary health care center. *Comprehensive Psychiatry*, 71, 57-62. <https://doi.org/10.1016/j.comppsy.2016.07.013>
- Ogden, M., Bakar, B., Karagedik, M. I., Bulut, I. U., Cetin, C., Aydin, G., Kisa, U., & Ozveren, M. F. (2019). Analysis of biochemical laboratory values to determine etiology and prognosis in patients with subarachnoid hemorrhage: a clinical study. *Neurological research*, 41(2), 156–167. <https://doi.org/10.1080/01616412.2018.1545414>
- Ogden, M., Yuksel, U., Karagedik, M. I., Bulut, I. U., & Bakar, B. (2022). Predictive Markers in Decision-Making for Screwing the Fractured Thoracolumbar Vertebra in the Short-Segment Instrumentation. *Spine surgery and related research*, 6(5), 503–511. <https://doi.org/10.22603/ssrr.2021-0216>

Yayınları (Diğer):

- Bakar, B., Yuksel, U., Ozdemir, A., Bulut, I. U., & Ogden, M. (2021). Clinical and Laboratory Markers in Determination of Treatment Modalities and Short-Term Prognosis in Patients with Traumatic Acute Subdural Hematoma: Original Study. *Indian Journal of Neurotrauma*, 2021 <https://doi.org/10.1055/s-0041-1739475>.

- Yüksel, U., Ogden, M., Bulut, İ. U., Bakar, B., & Kisa, U. (2020). Can routine biochemical tests be a short-term prognostic biomarker in patients operated for chronic subdural hematoma?. Romanian Neurosurgery, 391-399.
<https://doi.org/10.33962/roneuro-2020-061>
- OGDEN, M., YÜKSEL, U., AKKAYA, S., BULUT, İ. U., BAKAR, B., & ÖZVEREN, M. F. Possible predictive markers to make a decision for surgical intervention in discography. Turkish Journal of Clinics and Laboratory, 10(2), 197-208.
<https://doi.org/10.18663/tjcl.459085>

Araştırma Alanları: Spinal cerrahi

