



T.C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL İNTERVERTEBRAL DİSK
DEJENERASYONUNDA EMİLEBİLİR HÜCRESİZ
POLİGLİKOLİK ASİT TABANLI HYALURONİK
ASİT VE OTOJENİK SERUM İLE
İNTERVERTEBRAL DİSKİN REJENERASYONU**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Oğuz ÖZEL

KAYSERİ – 2011



T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL İNTERVERTEBRAL DİSK
DEJENERASYONUNDA EMİLEBİLİR HÜCRESİZ
POLİGLİKOLİK ASİT TABANLI HYALURONİK
ASİT VE OTOJENİK SERUM İLE
İNTERVERTEBRAL DİSKİN REJENERASYONU**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Oğuz ÖZEL

Tez Danışmanı

Prof. Dr. R. Kemal KOÇ

KAYSERİ – 2011

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, çağdaş, bilimsel ve teknik olanaklarla donatılmış bir klinikte çalışma koşullarını sağlayan, maddi ve manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim, başta Anabilim Dalı Başkanım Prof. Dr. Ahmet MENKÜ olmak üzere, değerli hocalarım Prof. Dr. Ahmet SELÇUKLU, Prof. Dr. İ. Suat ÖKTEM, Prof. Dr. Ali KURTSOY, Yard. Doç. Dr. Bülent TUCER'e, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli tez hocam sayın Prof. Dr. R. Kemal KOÇ'a, Patoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. Özlem CANÖZ'e, Radyoloji Anabilim Dalından Yard. Doç. Dr. Halil DÖNMEZ'e Veterinerlik fakültesinden Yard. Doç. Dr. Nusret APAYDIN'a, tez çalışmamda yardımlarını benden hiç esirgemeyen DEKAM çalışanlarına, birlikte geçirdiğimiz eğitim süresi boyunca gösterdikleri sevgi ve saygı için tüm asistan arkadaşlarıma, tüm ameliyathane, servis hemşirelerine ve personellerine sonsuz teşekkür ederim

Benden hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen aileme, bu zorlu süreçte bütün sıkıntılara ve sevinçlerime ortak olan eşime, çocuklarım Erdem ve Mehmet Özel'e bana ve mesleğime karşı gösterdikleri sabırdan ve olağanüstü fedakârlıklarından dolayı teşekkür ederim.

Dr. Oğuz ÖZEL

Kayseri- 2011

ÖZET

DENEYSEL İNTERVERTEBRAL DİSK DEJENERASYONUNDA EMİLEBİLİR HÜCRESİZ POLİGLİKOLİK ASİT TABANLI HYALURONİK ASİT VE OTOJENİK SERUM İLE İNTERVERTEBRAL DİSKİN REJENERASYONU

Amaç: Köpek modelinde oluşturulan intervertebral disk dejenerasyonunda emilebilir hücresiz poliglikolik asit tabanlı hyaluronik asit ve otojenik serumla intervertebral diskin rejenerasyonunu araştırmak.

Yöntem: Bu deneysel çalışmada 10 adet köpek kullanıldı. L3-4, L4-5 mesafelerine mikrodisektomi yapıldı. L3-4 disk mesafesine hyaluronik asit emdirilmiş, emilebilir poliglikolik asit içeren mesh, otojenik serum ile muamele edildikten sonra yerleştirildi. Birinci haftasında ve 6. ayında T2 sinyal ağırlıklı MRG ve direkt grafileri çekildi. Köpekler pentothal ve yüksek doz potasyum ile sakrifiye edilerek L2-L5 omurgaları alındı. Dekalsifiye edildikten sonra histokimyasal, histopatolojik inceleme için hematoksilin+eozin ve safranin-o ile boyandı. İntervertebral disk aralığında proteoglikan artışı ve rejenerasyon olup olmadığı araştırıldı.

Bulgular: Birinci haftada çekilen T2 sinyal ağırlıklı MRG’de normal disk mesafesine göre tedavi ve dejenere kontrol gruplarının intensitesinin azaldığı görüldü. Direkt grafilerinde, normal disk mesafelerine göre tedavi ve dejenere kontrol gruplarının yüksekliklerinin azaldığı görüldü. Dejenerasyon radyolojik olarak gösterildi. Tedavi grubunda 6. ayda çekilen T2 sinyal ağırlıklı MRG’de 1. haftadakine göre İVD’in intensitesinin arttığı görüldü ve istatistiksel olarak anlamlıydı. Dejenere kontrol grubundaki artış ise istatistiksel olarak anlamlı değildi. Altıncı ayın sonunda çekilen direkt grafiler 1. haftadakine göre tedavi grubunda yüksekliğin arttığı görüldü. İstatistiksel olarak anlamlıydı. Dejenere kontrol grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Tedavi grubu dejenere kontrol grubuna göre intensitesinde ve yüksekliğinde artış tespit edildi ve istatistiksel olarak anlamlıydı. Histopatolojik ve histokimyasal incelemede tedavi grubunda rejenerasyon ve proteoglikanın dejenere kontrol grubuna göre artışı gösterildi ve istatistiksel olarak anlamlıydı.

Sonuç: İntervertebral disk dejenerasyonu hücresiz emilebilir poliglikolik asit hyaluronik asit ve otojenik serum içeren implant ile rejenerasyonu mümkün olabilir.

Anahtar Kelimeler: hyaluronik asit, intervertebral disk, dejenerasyon, rejenerasyon, köpek modeli, poliglikolik asit.

ABSTRACT

REGENERATION OF INTERVERTEBRAL DISC BY THE INTRADISCAL APPLICATION OF RESORBABLE CELL-FREE POLYGLYCOLIC ACID-BASED HYALURONIC ACID AND OTOGENIC SERUM IN EXPERIMENTAL INTERVERTEBRAL DISC DEGENERATION

Objective: To investigate the Regeneration of intervertebral disc by the intradiscal application of resorbable cell-free polyglycolic acid-based hyaluronic acid and otogenic serum in a dog model of intervertebral disc degeneration.

Method: In this experimental study, 10 dogs were used. Microdiscectomy was applied in L3-4 and L4-5 intervertebral spaces. Mesh containing absorbable polyglycolic acid which was soaked in hyaluronic acid was inserted in L3-4 space after being processed with otogenic serum. T2 signal intensity MRG and direct graphy values lumbar vertebrae were measured in the first week and in the 6th month. The dogs' L2-5 vertebrae were extracted by sacrificing with pentothal and high dosage potassium. After decalcification, intervertebral discs were colored with hematoxylin + eosin and safranin-o for histochemical and histopathological inspection. It was investigated whether there was a proteoglycan increase and regeneration in the intervertebral disc or not.

Results: The T2 signal intensity MRG in the first week showed that both treatment group's and degenerated control group's signal intensities decreased compared to normal IVD disc group's. In addition in their direct graphies, the height of the intervertebral disc was seen to have decreased compared normal IVD group's. Degeneration was radiologically shown. It was found that in the treatment group's T2 signal intensity MRG of the 6th month, the intensity of the IVD had increased compared to that of the first week and increase was significant. However, the increase in the degenerated control group was not statistically significant. Similarly, the direct graphies of the 6th month showed that the height of the IVDs had increased when compared to that of the first week and it was significant while the increase in the degenerated control group was not. An increase in the intensity and the height of the IVDs of the treatment group compared the degenerated control group was identified and it was statistically

significant. In the histopathological and histochemical inspection, it was proven that regeneration and proteoglycan increased in the treatment group compared to the degenerated control group and it was statistically significant.

Conclusion: Intervertebral disc regeneration of degenerated IVDs can be possible through implant containing absorbable free-cell polyglycolic acid-based hyaluronic acid and otogenic serum

Keywords: Hyaluronic acid, intervertebral disk, degeneration, regeneration, dog model, polyglycolic acid

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
İNGİLİZCE ÖZET	ii
ŞEKİL LİSTESİ	vii
KISALTMALAR.....	viii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. DİSK DEJENERASYONU	3
2.1.1. Epidemiyoloji.....	3
2.1.2. İntervertebral Disk Anatomisi	3
2.1.3. İntervertebral Disk Dejenerasyonunun Fizyopatolojisi.....	6
2.1.4. Disk Dejenerasyonunun Genetiği	7
2.1.5. Disk Dejenerasyonunun Doğal Seyri.....	8
2.1.6. Lomber Dejeneratif Disk Hastalığında Semptom ve Bulgular.....	8
2.1.7. Lomber Dejeneratif Disk Hastalığında Tıbbi Tedavi.....	15
2.1.8. Lomber Dejeneratif Disk Hastalığında Cerrahi Tedavi	18
2.2. İNTERVERTEBRAL DİSK REJENERASYONU.....	20
3. YÖNTEM VE GEREÇLER	22
3.1. İMPLANTIN HAZIRLANMASI.....	22
3.2. CERRAHİ YÖNTEM.....	22
3.3. KULLANILAN MALZEME	25
3.4. RADYOLOJİK ÇALIŞMA VE ANALİZLER.....	25
3.5. HİSTOPATOLOJİK VE HİSTOKİMYASAL ÇALIŞMA.....	26
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	26
4. BULGULAR	28
4.1. RADYOLJİK BULGULAR	28
4.2. PATOLOJİK BULGULAR	31
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	43
7. KAYNAKLAR	43

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1:	İki seviye parsiyel hemilaminektomi	23
Şekil 2:	Operasyon bittikten sonra fascia ve ciltaltını kapatırken	24
Şekil 3:	Sütüre edilmiş cilt	24
Şekil 4:	Köpeğe, uyutularak MR çekilirken	25
Şekil 5:	Dekalsifiye edilmiş omurga görüntüsü	26
Şekil 5:	Köpeklere 1. hafta ve 6. aydaki sagittal T2 ağırlıklı MRG'leri	29
Şekil 6:	Birinci hafta ve altıncı aydaki MRG'lerin karşılaştırılması	30
Şekil 7:	Köpeklere 1. hafta ve 6. ayda çekilen direkt grafler	30
Şekil 8:	Birinci hafta ve altıncı aydaki disk yüksekliklerinin karşılaştırılması	31
Şekil 9:	40'lık büyütmede H+E ile boyama görüntüsü	32
Şekil 10:	40'lık büyütmede safranin – o ile boyama görüntüsü	33
Şekil 11:	100'lük büyütmede safranin – o ile boyama görüntüsü	34
Şekil 12:	100'lük büyütmede H+E ile boyama görüntüsü	35

KISALTMALAR

AF	: Anulus fibrosus
DDH	: Dejeneratif disk hastalığı
İVDD	: İntervertebral disk dejenerasyonu
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
LDH	: Lomber disk hernisi
NP	: Nukleus pulposus
PLA2	: Fosfolipaz A2
PGE2	: Prostoglandin E2
IL-1	: İnterlökin-1
IL-6	: İnterlökin-6
TNF- α	: Tümör nekrozis faktör- alfa
COX-2	: Siklooksijenaz-2
NSAİİ	: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç
ALL	: Anterior longitudinal ligaman
PLL	: Posterior longitudinal ligaman
BT	: Bilgisayarlı tomografi
EMG	: Elektromyografi
FGF	: Fibroplast benzeri büyüme hormonu
IGF	: İnsülin benzeri büyüme hormonu
HA	: Hyaluronik asit
BMP	: Bone morfojenetik protein
PGA	: Poliglikolik asit
PLA	: Polilaktik asit
PLGA	: Polilaktik asit glikolik asit
HU	: Hounsfield ünit

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnsan ömrünün giderek artması ve yaşam kalitesi kavramının gündeme gelmesi günümüzde omurga problemlerine daha fazla dikkat çekilmesine neden olmuştur. Dejeneratif disk hastalığı (DDH); disk dokusunun morfolojik ve biyokimyasal yapısındaki değişikliklerin klinik olarak ağrı oluşturmaları ile karakterize olan bir hastalıktır. DDH'nın ilerleyen yaş ile doğal yaşlanma sürecinin bir sonucu olarak ortaya çıkma olasılığı yüksek olmasına karşın genç erişkin yaş grubunda da ortaya çıkabilir. Bunun sebebi olarak intervertebral disk biyomekaniğine uygun olmayan ergonomik koşullar, fiziksel etkenler (sigara, vibrasyon) ve genetik şartlardan intervertebral diskin kötü yönde etkilenmesi gösterilmiştir (1).

Batılı endüstrileşmiş ülkelerde bel ağrısı önemli bir halk sağlığı problemidir. Erişkin popülasyonun yaklaşık %90'ı hayatlarının belli bir döneminde bel ağrısından yakınmaktadırlar. Toplumun önemli bir kesimini etkileyen bu problemin insidansı yapılan birçok çalışmada %12-35 arasında bulunmuştur (2). Bel ağrısı aynı zamanda ekonomik kayıplara neden olmaktadır. İngiltere'de teşhis ve tedavi için yıllık harcanan para 12 milyon paund'u bulmaktadır ki bu da Hollanda'nın yıllık gelirinin yaklaşık %1.7'sini oluşturmaktadır (3). Amerika Birleşik Devletleri'nde bel ağrısı nedeniyle poliklinik vizitleri sıklık bakımından üst solunum yolu problemlerinin ardından ikinci sırada bulunmaktadır (4). Çoğu hasta istirahat, ağrı kesiciler, kas gevşeticiler gibi konservatif yöntemlerle tedavi edilmekte ve sadece bu yöntemlerle %90 oranında başarı elde edilmektedir. Bu tedavilerin başarılı olmadığı durumlarda kronik ağrı, hatta bazı durumlarda kronik sakatlık meydana gelmektedir (5). Bu hastalarda ağrılı atak sonrası takip eden 12. ayda yapılan görüntüleme tekniklerinde intervertebral diskte NP'un siyahlaşması, anterior veya posterior bulging ile kendini gösteren intervertebral disk

dejenerasyonu (İVDD) izlenmektedir. Bel ağrısı İVDD ile yakın ilişkilidir. Disk dejenerasyonu birçok olguda asemptomatik olmasına rağmen (6); siyatalji, disk herniasyonu veya prolapsus ile ilişkilidir. İntervertebral diskler özellikle NP kısmındaki yüksek su içeriği nedeni ile yerçekimine karşı olan (eksenel-aksiyal) yüklenmelerde esneyerek yükün omurga kemik yapısına azalarak geçişini sağlar (7). Gerek anormal yüklenmeler gerekse de İVD'lerin zayıf kanlanma özelliğinden dolayı diğer omurga yapılarına göre daha erken dejenere olması disk dokusunda dejenerasyon ve buna bağlı klinik semptomların genç yaşlarda izlenmesine yol açar (8). DDH'nın etiyoloji ve patofizyolojisi hala tartışmalıdır. Başlatıcı faktörün ne olduğu tam olarak bilinmemekle beraber NP'un biyolojik ve biyomekanik faktörlerce etkilenmesi sonucu ana proteoglikanı olan agreganda azalma, anüler bütünlüğün kaybı, disk hücresinin beslenmesinin bozulması, anaerobik metabolizma, laktat artışı ve pH düşmesi, hücre ölümünün hızlanması, dejeneratif enzimlerin aktivite artışı, nükleusta kollajen Tip I'in artışı, Tip II'nin azalması, su miktarında azalma gibi histopatolojik ve biyokimyasal değişiklikler sonucu ortaya çıktığına inanılmaktadır (9). Tüm bunlar NP hücrelerindeki normal anabolik ve katabolik fonksiyonların dengesinin bozulması, sentezin azalması veya yıkımın artması anlamına gelir. Proteoglikan içeriğinin giderek azalması dehidratasyona yol açarak hidrostatik ve biyomekanik özelliklerinde bozulmasına neden olur (10). Günümüzde disk dejenerasyonu ile ilgili tedavi yöntemleri ağrı kontrolü sağlamak ve yaşam kalitesini arttırmak üzerine odaklanmıştır. Bu amaçla yatak istirahati, analjezik ve antiinflamatuvar tedaviler, fizik tedavi yöntemleri, akupunktur gibi değişik konservatif tedavi yöntemleri, algolojik girişimler ve dekompresyon, stabilizasyon, füzyon disk protezleri, nükleoplasti gibi cerrahi tedavi yöntemleri uygulanmaktadır (11). Fizyolojik sürecin pahalı ve morbidite riski olan yöntemlerle çözülmesi, özellikle doğal yapıyı korumaya yönelik girişimlerin öne çıktığı son yıllarda bilimsel yeni arayışlara gidilmesini gerektirmiştir. Bu konuda son yıllarda dejenerasyonu durdurmaya yönelik hücre nakillerini de içeren biyolojik tedavi yöntemleri giderek daha fazla araştırılmaya başlanmıştır (12).

Bu çalışmada, köpekler üzerinde, hyaluronik asit (HA) ve otojenik serum ile muamele edilmiş hücresiz poliglikolik asit (PGA) tabanlı implant kullanarak intervertebral disk rejenerasyonda etkinliği araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DİSK DEJENERASYONU

2.1.1. Epidemiyoloji

Bel ağrısı toplumda çok sık görülen, kas iskelet sisteminde fonksiyon bozukluğu yaratan ve sosyoekonomik kayıplara neden olan önemli sağlık sorunlarından biridir. Epidemiyolojik çalışmalar sonucunda dünya popülasyonunun %65-80'inin yaşamlarının herhangi bir zamanında bel ağrısından yakındığı ortaya çıkmıştır. Etiyolojide pek çok etken olmakla birlikte İVDD, kronik bel ağrıların önnde gelen nedeni olarak görölmektedir (13). Asemptomatik kişilerdeki disk kabarıklığı prevalansı %10-81 anüler yırtık prevalansı %6-56 arasında değişmektedir. Bel ağrısı için 100'ün üstünde risk faktörleri tanımlanmasına rağmen spesifik etiyolojiyi belirlemek kolay değildir. En önemli risk faktörleri fiziksel aktivite, yoğun spor, ağır kaldırma, travma gövdenin sık rotasyonu, vibrasyona maruz kalmak, yaş, uzun boy, şişmanlık, sigara içme, psikolojik ve genetik faktörlerdir (14).

2.1.2. İntervertebral Disk Anatomisi

İntervertebral disk embriyolojik notokordun fibrokartilajinöz kalıntısıdır. İntervertebral diskler temelde komşu vertebralar arasında stabilize edici eklemler olmakla beraber, her yöne dönme ve eğilme hareketini sağlayan yapılardır. Disk aralığı omurganın yaklaşık %20 sini oluşturur. Diskler vücut ağırlığı ve kas kasılmaları ile oluşan aksiyel kompresyon kuvvetlerinin absorbe edilmesini ve bu kuvvetlerin hemen her yöne yeniden dağılmasını sağlayan ve iki komşu omurgayı birbirine bağlayan yastıkçıklardır (15).

İntervertebral disk üç ana bölümden oluşur;

Son plak: Alt ve üst omurga korpusu ile komşu disk arasındaki ince hyalin kıkırdaktır. Disk normal şartlarda avasküler bir yapıdır. Bu nedenle son plağın önemli mekanik görevlerinin yanında diskin diffüzyon ile beslenmesinde büyük bir rol oynadığı bilinmektedir (16). Yapılan deneyler son plağın, vertebral kolonun en zayıf yeri olduğunu göstermiştir (17).

Anulus fibrosus (AF): Çoğunluğu Tip 1 olmak üzere Tip 1, Tip 2 ve Tip 3 kollajenden oluşan konsantrik dizilimli, değişik yönlerde organize olmuş lameller bir yapıdır ve NP'ü çevreler. Mezenkimden köken alan fibrokondrosit benzeri hücreleri içerir. İç kısımdaki lifler kıkırdak plağa, dış kısımdaki lifler (Sharpey lifleri) ise vertebral korpusuna yapışır. Fonksiyonel olarak AF, her iki komşu vertebranın dış kenarlarını güçlü bir şekilde birbirine bağlar. Bu bağlantıyı yapan kollajen fibriller oblik olarak seyrederler ve birbirini izleyen her lamelde bu açı değişir. Yapının sağlamlığı bu çapraz örgü sistemine bağlıdır. Anulus anterior ve lateralde güçlüyken posteriorda daha zayıftır. Erişkin diskinin kuru ağırlığının yaklaşık %60'ını kollajen, %20'sini proteoglikanlar oluşturur. AF, NP'a oranla daha az su içerir. Su oranı yaklaşık %60-80'dir (17).

Nükleus pulposus (NP): Diskin merkezinde, şok emici özellikte, fibrojelinöz yapıda basınç altında şeklini kolayca değiştirebilir ve üzerine binen güçleri radial tarzda AF ve kartilajenöz son plağa iletir. Şeklini değiştirebilmesinin nedeni NP'un yarı sıvıda olmasına bağlıdır ve bu özellik aslında NP'un komprese edilememe özelliğine karşılık gelir. Normal NP, disk yüzeyinin yaklaşık yarısını oluşturur ve vertikal yüklerin çoğunluğunu taşırken, AF tanjansiyel yüklerin ve komprese olmuş NP'un neden olduğu yüklerin çoğunu taşır (15). NP; su, proteoglikan ve tip 2 kollajenlerden oluşan bir matriks ve bu matriks içinde notokortlardan gelişmiş kondrositlerden ibarettir. NP'un, büyüme ve yeniden şekillenmenin oluşturduğu dış kısmına transizyonel bölge adı verilir. Bu bölge fiziksel kuvvetlere olduğu kadar kimyasal ve hormonal uyarılarda duyarlıdır. Kollajen ve proteoglikanlar, intervertebral diskin mekanik yüklenme ve germe kuvvetlerine karşı direncini sağlayan ana moleküllerdir. Dejeneratif değişiklikler gelişmeden önce NP'un yaklaşık %80'i sudur. Ayrıca NP'un kuru ağırlığının %65'i proteoglikanlar, %20'si kollajenler tarafından oluşmuştur (17). Proteoglikanlar, negatif yüklerden dolayı hidrofilik özelliklerde moleküllerdir ve böylece su tutarak diskin

şişmesini sağlarlar. Disk dejenerasyonu proteoglikan kaybı ile başlar ve bu süreç dejenere diskin su içeriğindeki azalmayı da açıklar (18).

Disk beslenmesi: Son plak, ortalama 0.6 mm kalınlığında, vertebra cismi ile disk arasında yer alan yapılardır. Hayatın ilk iki yılında disk içerisinde damar yapıları bulunsa da, bunlar 2 yaşından sonra regrese olurlar. Hayatın bu ilk yıllarında disk, kartilajenöz son plak santralindeki kan damarlarından küçük perforatörler yardımıyla beslenir. Bu damarlar ilk 3 dekatta progressif obliterasyona uğrar (15). Bundan sonra besinler, avasküler olan NP'a, vertebra cismindeki kan damarlarından diffüzyon yoluyla ulaşır. Bu diffüzyon disk ile vertebral cismine ayıran son plak üzerinden olur. Maddelerin dolaşımdaki disk dokusuna veya diskten dolaşıma geçişini, kıkırdak son plağın permeabilitesi belirler (19). Disk dejenerasyonunun gelişmesinde en kritik olayın oksijen, besinler ve artıkların diffüzyondaki bozulmanın olduğu kabul edilmektedir. Diffüzyon süreci son plaklara olan kan akım miktarı ile yakından ilgilidir. Diyabet ve diğer beslenmeyi bozan vasküler hastalıklarda son plaklara olan kan akımının azalması, diffüzyonu olumsuz yönde etkiler. İlerleyen yaşla birlikte, son plaklarda kalsifikasyon oluşur. Bu kalsifikasyon sonucunda, lamina kribrosadaki porlar küçülür ve azalır. Sonuçta, gerekli olan diffüzyon alanı daralmış olur. Diffüzyonu etkileyen diğer bir faktörde diskin dehidrasyonudur (20). Diskin su içeriği azaldıkça, diffüzyon sürecide bozulacaktır. AF'un su içeriği doğum anındaki %78 oranından 4. dekatta %70'e düşer (21). NP'un su içeriği ise doğum esnasında %88-90 iken 70'li yıllarda %66-70'e düşer (15, 21). Vaskülaritedeki bu değişiklikler ile NP ve AF'un iç tabakasındaki su kaybı, rölatif olarak fibrosit ve kondrositlerin artmasına neden olur. Diffüzyon bozukluğunun net sonucu disk içindeki oksijen düzeyinin düşmesidir. Bu şekilde anaerobik metabolizma ve laktat miktarı artar. Laktat, diffüzyon yoluyla keskin bir şekilde uzaklaştırılamadığı için disk içindeki pH düzeyi düşer. Düşük pH düzeyi hücresel metabolizma ve biyosentez fonksiyonlarını olumsuz yönde etkiler ve matriks yıkımı ile sonuçlanan hücresel nekroza neden olur (21). Matriks yıkımı ile diffüzyon daha da azalır ve böylece kısır döngü başlar (18, 22).

İntervertebral Disk İnervasyonu: Yenidoğan intervertebral diskinde, özellikle AF'un dış tabakalarında ve perivasküler alanlarda serbest sinir sonlanmaları bulunmaktadır. Normal yaşlanma ile birlikte intervertebral disk yapısında olduğu gibi bu sinir sonlanmalarıda regrese olur. Sağlıklı bir erişkin diskinde, AF'un dış tabakaları dışında

sinir inervasyonu bulunmaz. Boğduk (23), 1983'te yayınladığı literatür taramasında omurgayı inerve eden sinovtebral sinirlerin (Luska'nın rekürren siniri) (posterior primer ramus) transvers ve dessenden dallarının posterior longitudinal ligament ve ona komşu dış AF tabakalarını inerve ettiğini ortaya koymuştur Bu sinir aynı zamanda dura, faset eklem kapsülü ve erektör spinal kasları inerve eder. AF'un lateral ve ön bölümleri ventral rami ve sempatik sinir sistemi tarafından inerve edilmektedir.

2.1.3. İntervertebral Disk Dejenerasyonunun Fizyopatolojisi

İntervertebral disk yaşlanmayla birlikte gerek mikromoleküler gerekse makromoleküler düzeyde birtakım değişikliklere uğrar. NP'un progressif su ve proteoglikan içeriğinin azalmasıyla, jelatinöz yapısının kaybolması, AF liflerinin diziliminin bozulmasıyla fibrozisi ve NP ile AF arasındaki sınırın kaybolması gibi disk mimarisinde değişiklikler açığa çıkar.

Dejenerasyonun erken aşamalarında disk yapısındaki kollajen miktarında artış olur. Ancak dejenerasyon ilerledikçe kollajen miktarı azalırken, yerleşim yeri ve kalitesinde de değişiklikler olmaya başlar. Son plaklarda ve NP'da normalde daha fazla oranda bulunan Tip 2 kollajen azalırken, Tip 1 oranı ise artmaya başlar. Aynı şekilde AF'da normalde daha az olan Tip 2 kollajen artışı olur. Ancak değişen bu yapı sağlıklı bir çatı oluşturmaz (24).

AF matriksi, kollajen liflerin organizasyonun bozulması sonucu miksomatöz dejenerasyona uğrar. NP ise yüksekliğini kaybeder, su içeriği azalarak daha kuru bir hal alır. İçerdiği hücre sayısı belirgin şekilde azalırken, kollajen liflerin çapı ve konsantrasyonu değişir. Son plaklarda açığa çıkan ilk makromoleküler dejeneratif değişiklik ise subkondral sklerozdur. Hyalin kırıkta giderek kalsifiye olur. Bunun sonucunda zamanla diskin beslenmesi daha da bozulur (25). Nitekim dejenerasyondaki en kritik olayın oksijen, besin atıklarının disk mesafesindeki diffüzyon bozukluğu olduğu belirtilmiştir. Diskin su içeriğinin azalması da diffüzyonu olumsuz yönde etkiler. Diffüzyon bozukluğunun net sonucu disk içerisindeki oksijen azalmasıdır. Bu da anaerobik metabolizmaya ve dolayısı ile laktat birikimine neden olur. Laktik asit artışı ile pH düşer ve pH değişikliğine son derece duyarlı olan disk içi homeostaz bozulur. Bunun sonucunda da hücresel düzeyde (mikromeloküler) bozukluklar açığa çıkar. Disk matriksinin yenilenmesi ve sentezinden sorumlu hücre yorgunluğu azalır (26). Hücre yoğunluğu ve fonksiyonların azalması ile de disk içerisine suyu çeken, disk içi basıncı

ve gerginliği sağlayan proteoglikanların sentezi azalır, yıkımı artar. Proteoglikan yıkımı sonucu açığa çıkan metabolitlerin birikmesi ve su miktarının azalması ile diffüzyon daha da bozulur. Sonuçta bir kısır döngü oluşur (25).

Disk dejenerasyonu sonucu açığa çıkan en erken makromoleküler değişiklik; anüler yırtık ve son plaklarda oluşan fissürlerdir. AF'un mekanik gerginliğinin azalması da bu yırtıkların artmasına neden olur. Dejeneratif süreç ile intradiskal basınç azalması sonucu normal diskin anüler lamellerde oluşturduğu dairesel gerilme azalır. Normalde bu dairesel gerilme en fazla NP'dadır ve AF'un dış kısmına ve son plaklara doğru gittikçe azalır (23). İntervertebral diskin fıtıklaşma eğilimi işte bu dairesel gerilme güçleri tarafından kısıtlanır. Ne zaman NP yapısında bozulma olur ise intradiskal basınç düşer. AF'un mekanik gerginliğinde azalmaya ve sonuçta AF liflerinde yırtıkların artmasına neden olur. Bu süreç sonunda da disk hernisi gelişir (21).

Disk dejenerasyonu sonucu görülen bu biyomekanik değişiklikler NP'un sıvı-jel özelliğinin ve AF'un mekanik özelliklerinin kaybı ile sonuçlanır. Fiziksel stres ve travma (akut şiddetli veya kronik tekrarlayıcı) bu dejeneratif sürece katkıda bulunur ve hızlandırır (15). Disk dejenerasyonuna neden olan en önemli dış etken mekanik yüklenmedir. Sağlıklı bir diskte vertebral kolona binen yük, son plağın merkezinden aşağıya iletilir. Oysa dejenere disklerde bu yük son plağın merkezinden ziyade laterallere yayılır. Bunun NP'un dehidratasyonu nedeniyle oluştuğu bilinmektedir (25).

Sonuç olarak disk dejenerasyonu, dışsal, içsel ve genetik faktörlerin rol oynadığı bir süreçtir. Tüm bu faktörlerin katkısına rağmen disk dejenerasyonundaki asıl olayın diffüzyon bozukluğu olduğu görüşü kabul görmektedir (25).

2.1.4. Disk Dejenerasyonunun Genetiği

Disk dejenerasyonu etiyolojisinde, daha önce bahsedilen faktörlerin yanında, son yıllarda yapılan çalışmalarda dejenerasyon genetiği üzerinde durulmaktadır. Değişik çevresel faktörlere maruz kalmış, monozigot ikizler üzerinde yapılan çalışmada, disk dejenerasyonunun primer olarak genetik etkiler ile açıklanabileceği belirtilmiştir (27). Başka bir çalışmada da disk dejenerasyonunun genetik risk faktörleri ile ilişkili olduğu ve bu popülasyonda disk dejenerasyonu gelişme riskinin normal popülasyona oranla 6 kat fazla olduğu bildirilmiştir (28).

2.1.5. Disk Dejenerasyonunun Doğal Seyri

Disk dejenerasyonunun doğal seyri oldukça değişkenlik gösterir. İntervertebral disk dejenerasyonu hayatın erken yaşlarında başlar ve bu olay yaşlanma sürecinin olağan bir parçasını oluşturur. Travma, konjenital anomaliler ve deformiteler bu olaya özellikle katkıda bulunur. Yaşlanma ile birlikte disk yapısında niteliksel ve niceliksel değişiklikler olur. Çocukluk çağında NP semijelatinözdür ve amorf intersellüler materyal (su ve proteoglikanlar) ile kollajenöz lif kümelerinden oluşur. İki yaşına kadar NP translusenttir ve anatomik olarak AF'dan farklıdır. İkinci dekadattan sonra anulusun iç tabakası ve NP daha fibrotik hale gelir ve her ikisinde de proteoglikan kaybı olmasıyla birlikte disk yüksekliği azalır. Üçüncü dekadatta NP'da fragmentasyon ve fibrozis vardır. Dördüncü dekadla birlikte AF'da (anüler lamellerde) progressif miksomatöz dejenerasyon, şişme ve fissür formasyonu oluşur. Daha sonraki dekadatlarda ise NP gittikçe daha disorganize ve dehidrate olur. AF'un yapısı ise radial veya dairesel yırtıklar ile iyice bozulur (15, 21).

2.1.6. Lomber Dejeneratif Disk Hastalığında Semptom ve Bulgular

Lomber DDH, zamanla anatomik ve morfolojik değişikliklerin klinik yakınmalara sebep olduğu hastalık grubudur. En sık dejenere disk herniasyonu ve segmental instabilite olarak karşımıza çıkar. Hastalar en çok bel ve bacak ağrısından yakınır. Hastaların büyük çoğunluğu bacak ağrısından daha önce uzun süredir bel ağrısı ataklarından bahsederler. Bu bel ağrısı atakları ortalama 3 hafta içinde kendiliğinden düzelir. Genç ve orta yaş grubundaki bel ağrısı atakları ileride kronik bir hal alır ki bacak ağrısının da eklenmesi bunun lomber disk hernisine bağlı olduğunu düşündürür.

Hastalardaki bel ve bacak ağrılarının özellikleri dikkatli bir şekilde sorgulanmalıdır. Ağrının niteliği, rutin yaşamı kısıtlama derecesi öğrenilmelidir. Hastaların şikayetleri şu şekilde sorgulanmalıdır.

- Şikayetleriniz nedir? Ağrı, uyuşma ve güçsüzlük; bel, bacak veya her ikisinde mi? Ağrının süresi ve tipi sorulmalıdır.
- Ağrılarınız istirahatle geçiyor mu? Oturup dinlenmekle ağrılarınız geçiyor mu? Sabah kalkınca ağrınız oluyor mu?
- Daha önce benzer ağrılarınız oldu mu? Tedavi aldınız mı?

Bel ağrısı olan hastada;

Ağrının süresi: Ağrı ani başlangıçlı, gittikçe artan, ara ara alevlenmeler gösteren şekilde olabilir. Hastalar genellikle ani bir hareket sonrası, ağır bir yük kaldırma vb. olaylardan sonra ağrının arttığını tarif eder.

Ağrının yayılması: Genellikle bir süre bel ağrısı olur. Hastaların büyük bir kısmı şiddetli bel ağrısını takiben bacağına yayılan ağrıyı tarif ederler. Nadir de olsa bel ağrısı olmaksızın kalça veya bacak ağrısı da olabilir.

Ağrı öncesi travma öyküsü: Hastalarda ağrı bir yük kaldırma, ağır bir egzersiz, düşme sonrası gibi spesifik travma öyküsü olabilir. Ancak bazı olgularda belirli bir mekanik etken olmadan da bel ağrısı başlayabilir.

Vücut hareketleri ile ağrının ilişkisi: Vücut hareketleri ile disk içindeki basınç ve komşu nöral yapılar faset eklemleri ilişkisi değişmektedir. Öne eğilmek ve oturmakla disk içindeki basınç artar ve bu durum protrüzyonlarında görülür. Ayakta hiperekstansiyon durumunda ağrının artması, lomber dar kanalda görülen ağrı tipidir. Lomber dejeneratif spondilolistezis ile ise günlük aktivite ile ağrı atar, dinlenmekle geçer. Bu hastalarda bacak ağrısının nedeni sinir kökünün öne doğru traksiyonu, laminanın posteriora basısı, fibröz kıkırdak basısı sonucu gelişir.

Valsalva manevrası ile ağrı ilişkisi: Öksürmek, hapşırma, ıkınma gibi disk içi basınç artımı ile ağrıların artması disk hernisini düşündürür. Nedeni spinal ve intratorasik basınçla direkt olarak ilişkilidir (29).

Semptomlar

A) *Bel ağrısı:* Lomber DDH ilk belirtisi zamanla süreklilik kazanır. Bazı hastalar ağrıların sırt bölgesine yayıldığını ifade ederler. Yavaş yavaş gelişen yaygın, batıcı, hareketle artıp istirahatle azalan bir ağrı olabilir veya ters bir hareketi izleyen, ani başlangıçlı, en küçük bir hareketle dahi şiddetlenen kilitlenme ya da bel tutulması diye tanımlanan şekilde olabilir. Bel ağrısı AF'un arka kısmının ve posterior longitudinal ligamanın gerilmesi sonucu başlar, ilerlemesiyle birlikte ortaya çıkan paravertebral adalelerdeki spazm, ağrı şiddetinin artmasına katkıda bulunabilir (30).

Çok uzun süre oturmak, ayakta kalmak veya yatmakla ağrı artar. Sık pozisyon değişikliğini gerektirir.

B) *Bacak ağrısı*: Lomber DDH olan hastada bel ağrısını takiben daha çok bacağı ve kalçaya yayılan ağrı mevcuttur. Siyatalji ve femoralji tarzında ağrı olup, uyluğun arka kısmından başlayıp dizin arka kısmına, ayak tabanına veya uyluğun ön yüzüne yayılabilir. Bu radiküler ağrıların en sık nedeni lomber disk hernileridir. Özellikle lomber bölgede aksiyel yüklenme daha fazla olduğu için siyatalji daha sık görülmektedir. Öksürmek, hapşırma veya ıkınmak gibi intratekal basıncı arttıran olaylar, bazı pozisyon ve hareketler ağrıyı şiddetlendirir. Ağrı yatmakla, diz ve kalçayı fleksiyona getirmekle azalır (31).

Çok nadiren de olsa şiddetli siyatalji aniden kaybolur ve beraberinde ağır motor defisit ve hipoestezi ortaya çıkar. Bu olay büyük bası altındaki sinir kökünün nörofizyolojik fonksiyonunun durması sonucu meydana gelir (32).

C) *Duyusal yakınmalar*: Hastaların çoğunda alt ekstremitelerde etkilenen lomber sinir köküne bağlı olarak uyluğun ön yüzünde, bacağın yan tarafında, ayak tabanında uyuşukluk, keçeleme, karıncalanma şeklinde duyu kusurları tariflenir (29).

D) *Kuvvet kaybı*: Bazı hastalar yürüdükleri zaman ayağının takıldığını, ayak bileğinin içe döndüğünü, merdivenden çıkmakta zorlandıklarını tarif ederler.

E) *Alt üriner sistem semptomları*: Azalmış mesane duyusu en erken bulgu olup daha sonra üriner sıkışma, miksiyon sonrası artmış rezidüyü içeren irritatif bulgular görülür. Hastalar genellikle bu yakınmalarını ifade etmezler. İdrar kaçırma şikayeti olan hastada kauda ekuina basısı dikkatle sorgulanmalıdır. Kauda ekuina basısı olan hastanın idrar kaçırmaması taşma şeklindedir. Mesane kasları gevşek olduğu için mesane normalden fazla idrar ile dolar ve ani olarak istemsiz bir şekilde boşalır. Çok doğum yapmış bayan hastalarda görülen stres inkontinansı, ıkınmak veya öksürmek ile ortaya çıkar (29). Bu şekilde idrar kaçırma yakınması ile başvuran hastalar çok iyi sorgulanmalıdır.

F) *Nörojenik kladikasyon*: Yürümekle tek veya iki taraflı kalçada, uyluk veya bacakta ağrı, uyuşma hissinin artması, bazen kuvvet kaybı, oturmakla veya dinlenmekle semptomların hafiflemesidir. Hastalar ara ara kramp tarzı ağrıların olduğunu söyler. Hastalar lomber fleksiyonda rahatlar, ekstansiyonda ise yakınmaları artar. Bu artış, ekstansiyonda lomber kanalın daralmasına bağlıdır (33).

Tipik olarak belden başlayıp bacaklara yayılsa da etkilenme her zaman aynı olmayıp gün içinde bile yer değiştirebilir. Bu yakınma daha çok lomber dejeneratif spinal stenozda görülür. Daha çok bayan hastalarda görülüp 5. dekattan sonra sıktır (34).

Nörojenik kladikasyonun, egzersiz ile birlikte artmış metabolizma gereksinimi ile sinir kökünün etrafındaki yapıların basıncına bağlı olarak kanlanmanın bozulması sonucunda lumbosakral sinir köklerinin iskemisinden kaynaklandığı düşünülür. Hastalar geniş tabanlı yürür veya ayakta dururlar. Öne doğru eğilmekle ağrılarının hafiflediğini söylerler. Nörojenik kladikasyonun, vasküler kladikasyon veya periferik nöropatiden ayırımı önemlidir (32).

Vasküler kladikasyonda periferik nabızlar alınamaz, yattığı zaman ağrı artabilir. Bisiklet testi ile ayırım yapılabilir. Bisiklet kullanımında lomber lordoz azaldığı için kanal çapı artar ve lomber stenozda kladikasyon semptomları oluşmaz. Ancak vasküler kladikasyonu olan hastada semptomlar hemen oluşur. Periferik nöropatide ise ağrı radiküler olmayıp eldiven-çorap tarzındadır.

G) *Kauda Ekuina Sendromu*: Daha çok büyük orta hat disklerine bağlı gelişen acil cerrahi girişim gerektiren bir klinik durumdur. Süvari yaması tarzında anestezi tipik bulgusudur. Üriner veya fekal inkontinans, üriner retansiyon, çoğunlukla lezyon seviyesi altındaki sinir köklerinin tutulmasına bağlı olarak gelişen motor kuvvetsizlik, aşıl ve patella refleks kaybı gelişebilir (35).

Yapılan bir çalışmada disk herniasyonuna bağlı gelişen kauda ekuina sendromu olan hastalarda; ilk 48 saat içinde cerrahi tedavi uygulanan hastalarda mesane fonksiyonunun, ağrı ve motor defisitlerinin belirgin olarak düzeldiği bildirilmiştir (32).

Fizik Muayene Bulguları

Lomber DDH'nda fizik muayene inspeksiyon ile başlar. İnspeksiyonda lomber bölgede lokal şişlik, renk değişiklikleri, lokal kıllanma artışı gibi deri lezyonlarının varlığı altta yatan kemik patolojileri veya bir takım nörolojik hastalıkların belirtisi olabileceğinden ayırıcı tanıda akılda tutulmalıdır. Hastanın yürüme şekli önem arz eder. Düşük ayak yürüyüşü, antalgik yürüme disk hernilerinde, ördekvari yürüme spondilolistezis olgularında görülmektedir.

Palpasyonla spinöz çıkıntılara uygulanan basınç ile ağrı şiddetlenebilir. Spondilolistezisi olan hastalarda palpasyonda listezisin olduğu bölgede basamaklaşma saptanabilir ve

ayrıca paravertebral kas spazmları palpasyonda hissedilebilir. Paravertebral kas spazmları varlığında lomber lordozun kaybolduğu, bel bölgesinde fleksiyon ve ekstansiyonda bir kısıtlılık olduğu, hastanın omurgasını fleksiyona getirmeye çalışırken belin bir yana doğru eğildiği görülür. Hasta genellikle ağrıyan tarafın ters yönüne doğru eğilir, etkilenen bacağına fleksiyona getirir ve mümkün olduğu kadar ağrı olan bacağına az yük vermeye çalışarak antalgik yürüyüş yapar. Lomber disk herniasyonlarında, lokalizasyon sinir kökünün omuzunda ise hasta irrite sinir kökünün karşı tarafına, sinir kökünün aksillasında yerleşen disk herniasyonlarında ise hasta lezyon tarafına doğru eğilir (32).

Nörolojik muayene bulguları

a) Sinir germe testleri: Sinir kökü, normal anatomik planda, vertebral foramen içerisinde belirli bir gerilme serbestliğine sahiptir. Sinir kökünün disk tarafından kompresyonu, dejeneratif spinal stenoz durumlarında sinir kökünün sıkışması ile belli manevralar vardır ve bunlar sinir germe testleri olarak adlandırılır. Bunlar:

1) *Laseque testi (Düz bacak kaldırma testi):* Bu test ile L5 ve S1 sinir köklerindeki duyarlılık saptanır. Hasta sırtüstü muayene masasına yatırılır ve etkilenen bacakta diz ekstansiyonda iken, uyluk fleksiyona getirilir 35-70 derece arasında belden bacağa doğru yayılan ağrı veya ağrının olduğu yerde parestezi olursa, test (+) kabul edilir. Muayene sırasında hasta ağrısını azaltmak için kalçasını ekstansiyona getirebilir. Bu manevra ile bacadaki semptomlar şiddetlenir (36). Bu test sırasında belde ağrı olması sinir kökü basısını göstermez.

2) *Kontrlaseque testi:* Ağrı olmayan bacağa düz bacak kaldırma testi uygulanması ile ağrılı olan bacakta ağrının artmasıdır. Aksillar ve büyük ekstride disk hernileri ile uyumludur. Laseque testinden daha değerlidir.

3) *Braggard testi:* Laseque testi pozitif olanlarda, bacak hafifçe aşağı indirilerek ağrının olmadığı en üst germe düzeyi bulunur. Ayak bileği dorsafleksiyona getirilerek ağrının artması testin pozitifliğini gösterir (32).

4) *Femoral sinir germe testi:* Hasta yüzüstü yatarken diz fleksiyondayken kalça ekstansiyona getirilir. Bu sırada kasıktan diz ön yüzüne doğru yayılan ağrı olursa test pozitif olarak değerlendirilir. Femoral sinir germe testi femoral siniri meydana getiren köklerin basısında (L2-L4) pozitifdir (32).

5) *Naffziger testi*: İki taraflı juguler vene 10 sn süre ile elle bası yapıldığında intraspinal basınç artar. Hastanın başında sıcaklık hissi olması ve bacağındaki ağrının artması testi pozitif kılar (29).

6) *Cram testi*: Sırtüstü yatar pozisyonda ağırlı olan bacakta diz hafifçe fleksiyonda kaldırılır. Sonra diz ekstansiyona getirildiğinde bacak ağrısı ortaya çıkarsa test pozitif kabul edilir (29).

7) *Bowstring bulgusu*: Laseque testi uygulanırken ağrı ortaya çıktığı anda dizden bacak hafifçe fleksiyona getirilerek ağrı azalır, ancak kalça patolojilerinde ağrı devam eder (29).

8) *Milgram testi*: Hasta sırtüstü yatarken her iki bacağına 3 cm kaldırması ve bu pozisyonda tutması istenir. Bu sırada bacakta ağrı olması sinir irritasyonunu gösterir.

9) *Kemp testi*: Bele hiperekstansiyon yaptırılır ve bu sırada laterale doğru fleksiyon yaptırılırsa bacakta ağrı duyulabilir (29).

b) Kas gücü muayenesi: Topuklar üstünde yürüme (L5 ve L4 sinir kökü), parmak uçlarında yürüme (S1 sinir kökü) ve yere çömelip kalkma hareketi (L4 sinir kökü) ile kas gücü hakkında bilgi verir. Uyluk fleksiyonu L1 ve L2, diz ekstansiyonu L3, ayak bileği dorsalfleksiyonu L4, başparmak dorsalfleksiyonu L5 az da olsa L4 sinir kökü, ayak ve başparmak fleksiyonu S1 sinir kökü bulgusu verir.

c) Duyu muayenesi: Duyu kusurlarını değerlendirmek subjektiftir. L1 sinir kökü inguinal ligament altını, L2 uyluk ön üst yüzünü, L3 uyluk anterolateralini, L4 bacağın medial yüzünü, L5 bacağın lateral yüzünü, S1 ayağın lateralini ve topuk duyusunu sağlar. Etkilenen sinir kökü veya köklerine uyan hipoestezi saptanabilir.

d) Refleks muayenesi: Patella refleksi L4 sinir kökü, aşıl refleksi S1 sinir kökü hakkında bilgi verir. L5 sinir köküne has bir refleks yoktur.

e) Atrofi değerlendirmesi: 2. motor nöron lezyonlarında, özellikle disk herniasyonlarında etkilenen sinir köklerinin inerve ettiği kaslarda atrofi meydana gelir. Kas atrofisini saptamak için her ikisi ekstremitede baldır ve uyluk çevresi ölçülür. Ölçümlerde patella ve iç malleol referans olarak alınabilir (29).

Radyolojik Bulgular

Lumbosakral direkt grafi: Ön-arka ve yan grafilere lomber DDH'nın erken döneminde lomber lordozda düzleşme ve skolyoz saptanabilir. Lomber DDH'nı düşündürecek bir takım bulgular olabilir. Bunlar disk mesafe yüksekliğinde azalma, spondilolistezis, end plateelerde düzensizlik, osteofitik oluşumlar, nöral foramenlerde daralma şeklinde olabilir. Ayakta çekilen yan fleksiyon ve ekstansiyonda dinamik grafiler, spondilolistezis ve segmental instabilite tanısında çok önem arz eder. Pars defekti en iyi oblik grafilere görülür. Lumbosakral grafi ile dejeneratif disk hernisini tespit etmek mümkün değildir.

Bilgisayarlı tomografi (BT): Lomber DDH'da 2. sıklıkta kullanılan tanı yöntemidir. BT'nin disk herniasyonu tanısında sensitivitesi %80-95, spesifikliğı ise %68-88'dir (32). BT'de herniye disk nöral forameni tamamen kapatabilir, epidural yağ dokusunun oluşturduğu demerkasyon hattı kaybolabilir, konkav olan disk yüzeyinin konveks hale gelmesi, vakum fenomeni (disk dokusu içinde gaz bulunması) saptanması tanıda yardımcıdır. Kemik yapıyı görmek için önemli bir tanı aracıdır.

Myelografi: İnvaziv bir yöntem olması nedeniyle ve BT, MRG kullanılması ile günümüzde nadiren uygulanmaktadır. Lomber ponksiyon ile suda eriyen kontrastlı madde intratekal olarak verilir. Disk herniasyonunda ekstradural dolma defekti, daha büyük disk hernilerinde veya ciddi spinal stenozu olan olgularda totale yakın bir blok görülebilir. Postoperatif dönemde ilk 3 ayda MRG yanlış görüntü verebileceğinden myelografi çekilebilir.

BT myelografi: Görüntülenemeyen disk hernileri, faset hipertrofileri, spinal kanal çapı hakkında daha net bilgi verir (32).

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG): Günümüzde MRG, disk hernisini tespit etmede, spinal kanal çapının ölçümünde spinal stenoz olgularında BT ve myelografinin yerini alarak altın standart olmuştur. Kanal içindeki ve dışındaki nöral yapılar, paravertebral dokular için öncelikli bir tanı yöntemidir. Disk herniasyonları için tanı doğruluğı %85 civarındadır (32).

Foraminal stenozu, komşu vertebralardaki sinyal değişikliklerini, sinir köküne bası yapan ve dural keseye bası yapan herniye olmuş lomber diski, anulus yapısını ve ligamentlerin yapısını en iyi gösteren tanı yöntemidir. MRG ile İVDD'nun belirtisi olan

ve disk içerisindeki su kaybına bağlı olarak gelişen siyah disklerin tanınması da önemlidir. T2 ağırlıklı MRG’de dejeneratif disk mesafesinin siyah disk olarak görülmesi tanı koydurucudur (32).

Diskografi: Birden fazla seviyede dejeneratif diski olan olgularda hangi disk mesafesinin ağrı kaynağı oluşturduğunu tespit etmede dinamik bir tanı yöntemidir. Diskografi, disk mesafesinde intradiskal basıncı arttırarak provokatif ağrı oluşturmaya, anulus ve nükleus yapısı hakkında bilgi vermesi ile yardımcı tanı yöntemidir. Bu testin sensitivitesi %85-92’dir (32).

Elektromyografi (EMG): Görüntüleme ve klinik bulgular tam çakışmadığı zaman, nörofizyolojik testler gibi ek testlere ihtiyaç duyulabilir. Bel ve bacak ağrılı hastada radikülopatiyi ortaya koymada, etkilenen kök seviyesini belirlemede yardımcı bir testtir. Periferik sinir tutulumlarına neden olan patolojilerin ayırıcı tanısında önemli yeri vardır (35).

2.1.7 Lomber Dejeneratif Disk Hastalığında Tıbbi Tedavi

Ağrının süresi, disk dejenerasyonunun ciddiyeti hakkında bilgi veren en önemli kriterlerden biridir. Bel ağrısının süresi dikkate alınarak bir sınıflama yapılacak olursa; 3 hafta içerisinde geçen bel ağrıları için “akut bel ağrısı”, 4-12 hafta içerisinde geçenlere “subakut bel ağrısı”, ağrının başlangıcından itibaren 12 haftalık bir süre geçmesine rağmen devam edenlere ise “kronik bel ağrısı” adı verilir. Akut bel ağrısı, basit önlemlerle çoğu kez birkaç hafta içerisinde tedavi olur (37). Bu şekilde kolayca tedavi olabilen ve muayenesinde herhangi bir hastalığa ait bulgulara rastlanmayan bel ağrıları tüm bel ağrılarının %85’ini oluşturur. Bu ağrılar için yaygın olarak kullanılan deyim “non spesifik bel ağrısı”dır (38). Ağrının süresi 4 haftayı aşıyorsa hastanın bel ağrısına yönelik olarak tekrar değerlendirilmesi ve altta yatan başka bir patolojiyi atlamamak için ileri tetkiklerinin yapılması gereklidir. Altta yatan organik bir sebep olmaksızın bel ağrısının süresi 3 ayı geçmişse hekimin asıl amacı ağrıyı tamamen ortadan kaldırmaktan çok kontrol altına almak ve ağrı nedeniyle ortaya çıkacak diğer problemlerden hastayı korumak olmalıdır. Bu dönem içinde hastanın ikincil kazancı olup olmadığı, psikiyatrik alt yapısı da araştırılmalıdır (39).

Günümüzün teknoloji ve bilgi birikimine rağmen, ağrının kronikleşme sürecine geçme riskini gösterecek bir tanı veya araştırma yöntemi henüz mevcut değildir (40).

İlaç Tedavisi

Analjezik Tedavi: Çok sayıda ve değişik gruplardan analjezik ajanlar kullanılmaktadır. Etki mekanizmasına ve etki süresine bağlı olarak subakut veya kronik bel ağrısını kısa veya orta dönemde hafifletebilir.

Asetaminofen ve steroid dışı analjezik-antienflamatuarlar: Subakut ve kronik ağrısında bu grup ilaçların kısa süreli kullanımı yaygın bir uygulamadır. Ancak akut bel ağrısı dışındaki ağrıyı, ne derecede kontrol altına aldığına dair yeterli çalışma yoktur (41). Steroid dışı analjezik-antienflamatuar ajanların renal ve gastrointestinal yan etkileri uzun zamandan beri bilinmektedir. Buna ek olarak yapılan bir meta-analizde selektif COX-2 ajanlarının ve ibuprofen, diklofenak gibi selektif olmayan steroid dışı analjezik-antienflamatuarların miyokart enfarktüsü ve vasküler kaynaklı ölümlere yol açabileceği gösterilmiştir. Naproksen’de ise bu tip bir yan etki saptanmamıştır. Bu nedenle steroid dışı analjezik-antienflamatuarlar mümkün olan en düşük doz ve en kısa sürelerde kullanılmalıdır (42). Asetaminofen grubu analjeziklerin gastrointestinal kanama veya miyokart enfarktüsü gibi bilinen önemli komplikasyonları yoktur. Ancak yapılan çalışmalar, osteoartritlerde asetaminofen grubu analjeziklerin ağrı kesici etkilerinin, steroid dışı analjezik-antienflamatuarlara göre daha az olduğunu göstermiştir (43).

Opioidler: Genellikle opioid grubu analjeziklerin kronik bel ağrısının kontrolünde etkili olduğu düşünülebilir. Bu konuda yapılmış olan çalışmalarda opioidlerle, plasebo veya opioid dışı analjezikler arasında ağrının kontrolü veya fonksiyonel iyileşme açısından fark olmadığı görülmüştür. Kronik veya subakut bel ağrısında opioid kullanımının suistimali üzerine (drug abuse) yapılmış olan çalışmaların çoğunda bazı metodolojik hatalar olduğundan dolayı bu konu tam olarak açıklığa kavuşamamıştır (44).

Antidepresanlar: Kronik ağrı hastalarında depresyon sıklıkla bulunan bir yan hastalıktır. Bu nedenle özellikle trisiklik antidepresanlar kronik ağrı tedavisinde hem depresyonu tedavi etmek, hem de ağrının şiddetini azaltmak için kullanılır. Ancak meta analizlerde ağrının azalması üzerindeki etkisinin plaseboya göre hafif derecede yüksek olduğu, fonksiyonel iyileşmeye bir katkı sağlamadığı görülmüştür (45).

Kas gevşeticiler: Flupirtine ve tolperisoneun, subakut ve kronik bel ağrılarına etkinliği üzerinde yapılan bir çalışmada, her iki kas gevşetici ajanın da bel ağrısının giderilmesinde plasebodan daha etkili olduğu gösterilmiştir. Ancak bu çalışma dışında

kas gevşetici ajanların kronik veya subakut bel ağrısındaki etkinliğine dair yeterli kanıt yoktur (46). Öte yandan santral etkili kas gevşeticilerde ağrı kesici etki plasebodan farksız bulunurken, ilaca bağlı yan etkiler (özellikle sedasyon) plaseboya göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (47).

Benzodiazepinler: Subakut ve kronik bel ağrısının medikal tedavisinde kas gevşetici olarak kullanım alanı bulan benzodiazepinler önemli yan etkileri ve alışkanlık yapma potansiyeli nedeniyle dikkatli olunması gereken bir gruptur. Subakut ve kronik bel ağrısında diazepamın plasebodan farklı bir etkisi olmamasına karşın tetrazepamın kısa süreli kullanımında (5-7 gün) plaseboya göre ağrı giderme ve fonksiyonel iyileşme üzerine etkili olduğu gösterilmiştir (47).

Gabapentin: Doz bağımlı olarak etkili gabapentinin, 3600 mg dozda bel ağrısını hem dinlenme halinde hem de hareket halinde iken azalttığı gösterilmiştir. Lomber stenozu ve nörolojik kladikasyonu olan olgularda ise 2400 mg dozda egzersiz ve steroid dışı antienflamatuar kullanımı ile beraber hastaların ortalama ağrı skorlarında iyileşme olduğu gözlenmiştir. Gabapentine ait en önemli yan etkiler: Uyuklama (%6), hastanın kendini güçsüz ve enerjisiz hissetmesi (%6), baş dönmesi (%3) ve iştah artmasına bağlı kilo alınımıdır (48).

Egzersizler ve Fizik Tedavi

Egzersiz tedavisi: Bir fizik tedavi kliniğinde uygulanan veya evde yapılmak üzere düzenlenmiş fizik egzersizlerin yararlarını araştıran çok sayıda çalışma vardır. Ancak bu çalışmaların çoğu düşük kalitededir ve sonuçlar güvenilir olmaktan uzaktır. Yapılan bir meta analizde, 43 klinik çalışma incelenerek egzersiz tedavisinin bel ağrısının ağrısı üzerindeki etkisi araştırılmış ve fizik egzersiz yapanlarda, egzersiz yapmayanlara göre ağrı şiddetinin ortalama %10 civarında azaldığı görülmüştür (49).

Bel okulu: Bel ağrıları konusunda deneyimli fizik tedavi uzmanı veya fizyoterapistler tarafından bel ağrısı çeken hasta gruplarına verilen egzersiz, kişisel önlemler, ağrı giderme becerileri gibi tekniklerin öğretildiği kurslardır. Bel ağrısının azaltmadaki etkinliği veya fonksiyonel iyilik hali üzerindeki etkisi ya “çok az” ya da “hiç yok” seviyesinde olduğu gösterilmiştir (50).

Spinal manipülasyonlar: Spinal manipülasyonlar, fizik tedavi uzmanları veya şiropraktörler tarafından uygulanabilen, eklemlerin hareket sınırlarına kadar veya bazı

durumlarda parafizyolojik (fizyolojik sınırın üstünde anatomik sınırın altında) sınırlara kadar gerilmesi manevraları için kullanılan bir terimdir. Spinal manipölasyonların kronik bel ağrısı üzerinde etkisi olmadığı ve analjezik tedavi, egzersiz programı veya kişisel bakım önlemlerine göre bir üstünlük sağlamadığı gösterilmiştir (51).

Spinal manipölasyonların zararlı olabileceği veya nörolojik durumu kötüleştirebileceği sıklıkla dile getirilen bir inanıştır. Bu konuda yapılan araştırmalar, ilerleyici ve ciddi nörolojik kaybı olmayan hastalarda, eğitimli bir şiropraktör veya fizik tedavi uzmanı tarafından yapılan manipölasyon zarar verici olma riskinin 1/1,000,000 olduğunu göstermektedir (52).

Akupunktur: Ağrı ve fonksiyonel iyileşme üzerine değişik sonuçlar verilmekle beraber akut bel ağrılarında ağrıyı orta derecede azalttığı fakat fonksiyonel iyileşmeye katkısı olmadığı gösterilmiştir. Bir başka çalışmada ise akupunktur ve sham grubunda gruplar arasında fark olmadığı gözlenmiştir. Sonuç olarak akupunktur, bu tedavinin etkinliğinden şüphesi olmayan hasta grubu için faydalı olabilecek bir yöntemdir (53).

Fizik Tedavi Cihazları ile Yapılan Uygulamalar

Bugüne kadar yapılmış olan randomize kontrollü çalışmalarda fizik tedavi cihazlarının bel ağrısı üzerindeki etkinliği gösterilememiştir. Ancak hastaların yüksek teknolojiye beklentileri ve cihazların plasebo etkisi yardımıyla ağrının kontrolüne yardımcı olabilirler (54). İnterferansiyal tedavi, low-level laser tedavisi, ultrason tedavisi, kısa dalga diatermi, traksiyon tedavisi, TENS, PENS gibi tedavilerin kısa süreli ağrı kontrolünde, plasebo kadar etkili oldukları bilinmektedir.

Bel ağrısının tedavisinde ideal bir yöntem tanımlanmamıştır. Bel ağrısı, görülme sıklığı nedeniyle pek çok disiplin tarafından tedavi edilmeye çalışılmakta, değişik tedavi algoritmaları ileri sürülmekteyse de kanıta dayalı bir yöntem henüz bulunmamıştır (54).

2.1.8. Lomber Dejeneratif Disk Hastalığında Cerrahi Tedavi

Bel ağrısı ve beraberinde bacak ağrısı yapabilecek en sık görülen hastalıkları DDH, disk herniasyonu, dar kanal ve spondilolistezis olarak 4 grupta toplarsak; DDH bel ağrısının en sık nedenlerinden birisidir (55). Cerrahi tedavi seçimindeki en önemli zorluklardan birisi ağrı kaynağının dejenere disk olduğunu gösterebilmektir. MRG bize diskin dejenerasyonunu ve dejenerasyon ciddiyetini çok iyi gösterir. Ancak dejenere diskin ağrıya neden olup olmadığını gösteremez. Bunun için elimizdeki en geçerli yöntem

diskografi ile yapılan provokasyon testidir. Ne yazık ki bu testin spesifisitesi ve sensitivitesinin oldukça düşük olduğu bilinmektedir (56). Sıklıkla önerilen tedavi dejenere disk seviyesine füzyon uygulanmasıdır. Bu enstrümantasyonlu veya enstrümantasyonsuz posterior veya anterior füzyon şeklinde uygulanabilmektedir. Ancak son yıllarda genel eğilim interbody füzyon ve posterior enstrümantasyon uygulanmasıdır. Bu şekilde hem füzyon şansı artırılmakta hem de dejenere disk boşaltılıp yerine yapısal bir destek (strut greft veya kafesler) konarak ağrı kaynağı olan disk tamamen temizlenmektedir (57). Füzyon tedavisinin en önemli dezavantajı o segmentte hareketin yok edilmesidir. Eğer birkaç seviyede dejenere disk nedeniyle füzyon uygulanacak olursa bu önemli miktarda lomber hareket kısıtlılığı yaratabilir. Bu hareket kısıtlılığı, yaşam kalitesini etkileyebilir; ayrıca komşu sağlam segmentlerde aşırı hareket ve yük paylaşımına neden olarak dejenerasyona yol açabilir (58). Fizyona alternatif artifisiel disk protezlerinin kullanımı tartışmalıdır. Genç yaştaki hastalarda konservatif tedaviye cevap vermeyen, disk dejenerasyonu veya herniasyonuna bağlı bel ağrısında kullanılabilir. Ön koşullar ise disk yüksekliğinin %50'den fazla azalmaması, faset eklemlerde dejenerasyon olmamasıdır. Anterior girişimle yapıldığı için daha önce batin operasyonu geçiren hastalar da rölatif kontraendikasyon mevcuttur (59). Son yıllarda dinamik enstrümantasyon seçili olgularda başarıyla kullanılmaktadır.

Dar kanalın en sık bulguları bel ağrısı ve nörojenik kladikasyondur. Hastaların özellikle bacak ağrısına bağlı uzun mesafe yürüyememeleri en sık rastlanan şikayettir. Bel ağrısı bel ve kalçaya yayılan ağrı şeklinde ortaya çıkar ve bu ağrı spinal kanal içinde sinir sıkışmasına bağlı olabileceği gibi, disk dejenerasyonu, faset eklem dejenerasyonu, dejeneratif skolyoz ve instabiliteye bağlı olabilir. Dar kanal da özellikle yürüme mesafesinin fazla kısıtlanmadığı hafif ve orta şiddetteki olgularda konservatif yöntemler denenebilir. Ancak şiddetli vakalarda ve beraberinde nadir olarak nörolojik defisit, kauda lezyonu olan hastalarda cerrahi tedavi gereklidir (60). Cerrahide asıl amaç basıya uğrayan sinirlerin dekompresyonudur. Bu açık cerrahi veya mikrocerrahi yöntemler ile uygulanabilir. Hemilaminektomi bilateral flavektomi altın standart yöntemdir. Lomber spinal dar kanal da dekompresyon ile birlikte spinal füzyon uygulanması konusunda literatürde önemli bir fikir ayrılığı olduğu görülür. Diğer bir tartışma ise füzyon uygulamasının enstrümantasyonlu veya enstrümantasyonsuz uygulanmasıdır. Bu konuda genel fikir özellikle bel ağrısının bacak ağrısı kadar ön planda olduğu

hastalarda, spinal instabilitesi olan hastalarda, ciddi dejeneratif skolyozu olan hastalarda ve konjenital dar kanalı olup agresif dekompresyon gerekliliği olan hastalarda füzyonun eklenmesi şeklindedir (60).

2.2. İNTERVERTEBRAL DİSK REJENERASYONU

Günümüzde dejenerasyonu henüz hücresel düzeydeyken, açığa çıkmadan engelleyebilme amacına yönelik çalışmalar özellikle enflamatuar mediatörler, sitokinler (IL-1 ∞ , TNF- ∞ , IL-6, IL-1 β , fosfolipaz A₂ prostoglandin E₂ (PGE₂) vb.), matriks metalloproteinazlar (ekstrasellüler matriks ve bazal membran proteinlerini yıkan enzimler) ve büyüme faktörleri (fibroblast benzeri büyüme faktörü (FGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) vb.) üzerinde yoğunlaşmıştır (61). Günümüzde disk dejenerasyonu mekanizmasında aktif rol alan ve bu mediatörler üzerinde yapılan klinik ve deneysel çalışmalar gittikçe artmakta ve özellikle disk dejenerasyonu kontrol etmek amacıyla anti TNF- ∞ gibi, sitokin antagonisti moleküler üzerindeki çalışmalar hız kazanmaktadır (17).

İntervertebral diskteki kollajenlerin yapısı ve birbirleriyle olan ilişkileri diskin mekanik fonksiyonunda hayati rol oynar. Matriks metalloproteinazlar kollajen moleküllerinin katabolizmasındaki ana enzimlerdir. Disk dejenerasyonundaki yıkıcı etkilerinin ispatlanmasından itibaren bu enzim inhibitörleri üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Büyüme faktörleri ise disk hücre metabolizmasının anabolik düzenleyicileridir. Bazı büyüme faktörleri disk hücrelerini apoptozise karşı korumaktadır (17).

Dejenere olan diskin rejenerasyonunu sağlamaya yönelik ilaçlar ve kök hücre çalışmaları umut vaat etmektedir. Disk rejenerasyonunu sağlamak için büyüme faktörlerinin verilmesi, otojen veya allojen kök hücrelerin uygulanması, gen tedavisi, biyomateryallerin kullanılması veya bunların kombinasyonları üzerinde çalışmalar artarak devam etmektedir (62).

Tüm bu çalışmaların hedefi intervertebral disk matriksi içerisinde yer alan komponentlerin üretimini stimüle etmek, proteoglikan kaybını durdurmak ve böylece diskin yapısını korumaktır. Bu sayede intervertebral disk yapısında yer alan hem hücresel yapının hem de ekstrasellüler matriksin yeniden oluşturulması amaçlanmıştır (63) Bu çalışmalar özellikle mezenkimal kök hücre implantasyonun disk

dejenerasyonunu durdurduğu gösterilmiştir (64). Mezenkimal kök hücreleri kemik iliğinden, yağ dokusundan veya intervertebral disk dokusundan elde edilebilir (62). Hücre nakli için, hem büyüme faktörlerini hem de en uygun mezenkimal hücreleri içeren moleküler bir karışım gereklidir (62). Rejeneratif tedavi stratejilerindeki majör güçlük disk dokusunun yetersiz nütrisyonel desteğinin olması ve fonksiyonel olarak yetersiz donör hücreleridir (64). Ancak dejenere olmuş disk içerisinde de nroprogenitor hücrelerin tespit edilmesi kök hücre tedavisinde yeni umut olmuş ve bu hücrelerin osteojenik, lipojenik veya kondrojenik yönde farklılaşabileceği gösterilmiştir (64). Rejenerasyonu sağlamaya yönelik ilaç tedavisinde ise, işte bu dejenere disk yapısında yer alan nroprogenitr hücrelerin stimüle edilmesi ve böylece normal disk yapısının sağlanması amaçlanmıştır (25). Biyolojik tedavi dejenere diskin içine büyüme faktörleri (BMP-2, BMP-7) enjekte edilerek rejenerasyonun sağlanması esasına dayanır. Hayvan çalışmalarında bu proteinler aracılığıyla rejenerasyonun başladığı ve kontrol gruplarıyla karşılaştırılınca dejenerasyonun daha yavaş bir seyir izlediği gösterilmiştir (63). Koyun modelinde PGA-hyaluronan tabanlı implant ile mikrofraktür sonrası kıkırdak oluşumu olduğu gösterilmiştir Büyük olasılıkla bu hücre içermeyen implant kusur yerinde yerel hücreleri zenginleştirip tamir dokusu oluşumunu gledirebilir (65).

3. YÖNTEM VE GEREÇLER

3.1. İMPLANTIN HAZIRLANMASI

Rezorbe olabilir poliglikolik asitten meydana gelmiş olan mesh (Vicryl Mech, Ethicon) 1.2 cm çapında hazırlandı. HA (10 mg/ml Ostenil, Bio-gen) emdirildi ve oda sıcaklığında kurutularak yaklaşık 1.2 cm çapında hazırlandı. Daha önce tavşan modelinde çalışılan intervertebral greft köpek modeline oranlamasıyla kullanılacak meshin genişliği hesaplandı (66).

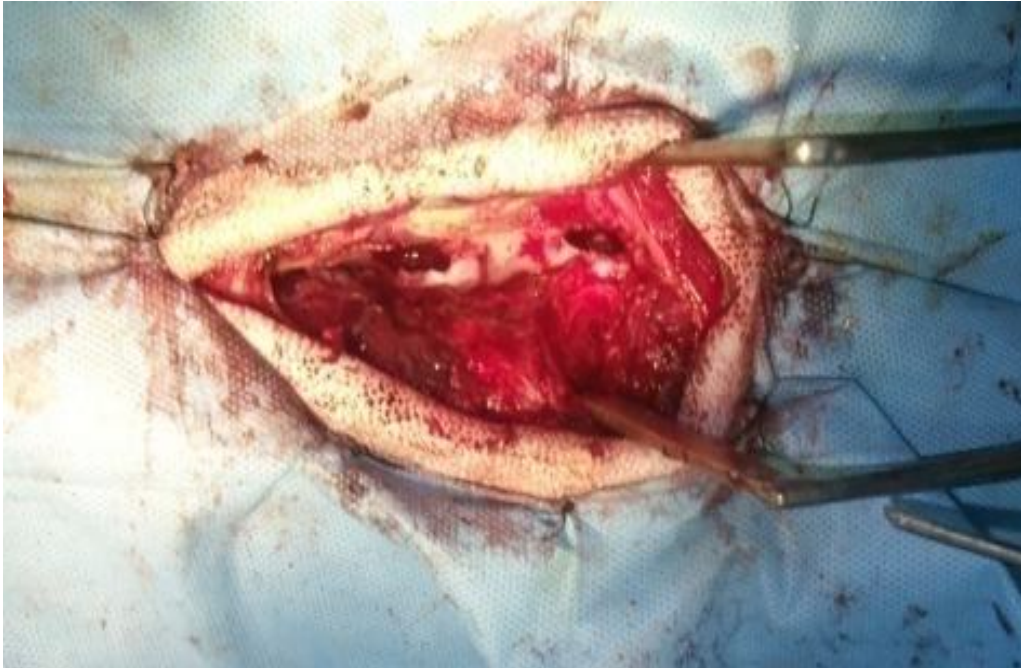
3.2. CERRAHİ YÖNTEM

Bu çalışmada kullanılan deney hayvanları için Erciyes Üniversitesi Tıbbi Etik ve Bilimsel Araştırmalar Merkez'inden onay alınmıştır (11/08/2010 tarih,:10/71 karar no).

Çalışmamızda 3-6 yaş, 25-35 kg ağırlığında, miks tip erkek 10 adet köpek kullanıldı. Köpeklere cerrahiden 15 gün öncesinden kan, idrar ve gaita örneği alınıp genel sağlık kontrolünden geçirildi. Bütün hayvanların rutin koruyucu aşıları ve paraziter tedavileri uygulandı. Preoperatif Cefazolin sodium (cefamezin 1g, Eczacıbaşı) 40 mg/kg im uygulandı. Atropin sülfat 0.004 mg/kg sc (Atropine, Galen) olarak premedikasyondan 15 dakika sonra xylazin HCl (rompum %2, Bayer) 1 mg/kg im uygulandı ve 15 dakika sonra %2.5'lük thiopentone sodium (pentothal, Abbott) 1.5 mg/kg ile iv olarak induksiyon sağlandı. İndüksiyondan hemen sonra endotrakeal entübasyon uygulanarak %100 oksijen ve %2 izofloran katılarak genel anesteziye tutuldu. Köpeklerden kan alındı. Alınan kan santrifüj edilip otojenik serum elde edildi. Otojenik serumla daha

önceden hazırlanan HA emdirilmiş PGA'lı mesh ıslatıldı. Prone pozisyonunda seviye tespiti yapıldıktan sonra opere edilecek yerin tüyleri kesilip dezenfeksiyon yapıldı (66).

Cilt ve ciltaltı geçilip paravertebral adale laminalardan tek taraflı sıyrılarak L3-4, L4-5 seviyelerine parsiyel hemilaminektomi mikrodisektomi yapıldı (Şekil 1), (67). L3-4 seviyesine HA emdirilmiş hücresiz PGA'lı mesh ve otojenik serum karışımı olan implant yerleştirildi. L4-5 seviyesine diskektomiden sonra herhangi bir implant konulmadı ve dejenere kontrol olarak kullanıldı. Doku katları usulüne uygun kapatıldı (Şekil 2, 3). Postoperatif analjezik olarak 3 gün süre ile günde bir defa NSAI olarak 75mg diklofenak sodium (Diclomec amp, Mecom) im kullanıldı ve 3 gün boyunca cefazolin sodium 40 mg/kg im uygulandı. Hayvanlar 6 ay takip edildi. Daha sonra hayvanlar phenobarbital ve yüksek doz potasyumla sakrifiye edildi. Hayvanların L2-L6 omurları çıkartıldı, çıkartılan disk parçaları histopatolojik incelemeye tabi tutuldu (66).



Şekil 1. İki seviye parsiyel hemilaminektomi



Şekil 2. Operasyon bittikten sonra fasia ve ciltaltı kapatırken



Şekil 3. Sütüre edilmiş cilt

3.3. KULLANILAN MALZEMELER

Hyaluronik Asit: HA, 13 1–3 ve 13 1–4 glikozidik bağlarla bağlanmış, glükuronik asit ve N-asetil glukozamin disakkarit ünitelerinin tekrarlamasından oluşmuş lineer bir polisakkarittir. Deri, kartilaj, umbilikal kord ve sinovial sıvı gibi pek çok dokuda yer alır. (68).

Doku İskelesi Üretiminde Kullanılan Materyal: PGA bugün en çok kullanılan polimerlerdendir. Hidrofilik yapısı nedeniyle sulu ortamda veya hücre içi koşullarda hızla çözünmekte ve mekanik bütünlüğünü iki ila dört hafta arasında kaybetmektedir. PGA, bugün daha çok dokusuz nanolifli doku iskelelerinin üretiminde tercih edilmektedir (69).

3.4. RADYOLOJİK ÇALIŞMA VE ANALİZLER

Cerrahiden 1 hafta ve 6 ay sonra hayvanlar 20 mg/kg im ketamin ile uyutularak MRG ve lateral düz grafileri yan yatar pozisyonda çekildi (Şekil 4). MRG'de (GE Twin Speed 1.5 Tesla, General Electric, Milwaukee) T2 ağırlıklı sagittal görüntüler elde edildi. T2 ağırlıklı kesitlerde disk aralığının intensitesi ölçüldü (66). Direkt grafilerde (Revolution XRD, General Electric) tüm deneklerde kaset tüp aralığı 120 cm idi. İVD yükseklikleri ölçüldü (66)

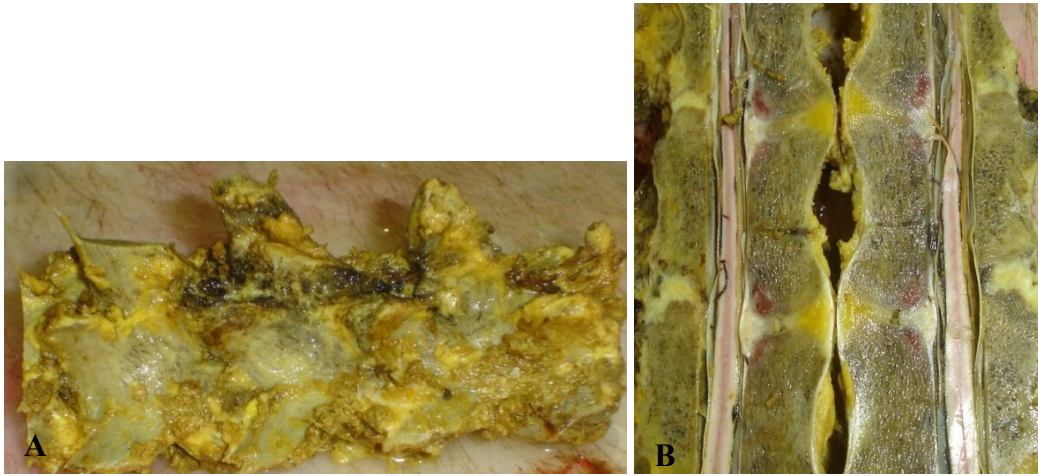


Şekil 4. Köpeğe, uyutularak MR çekilirken

3.5. HİSTOPATOLOJİK VE HİSTOKİMYASAL ÇALIŞMA

Hayvanlara phentobarbital ve yüksek doz potasyumla sakrifiye edildikten sonra, L2-L6 omurlar çıkartıldı. %10'luk formaldehit içine konularak fiksede edildi. İki gün sonra su ile iyice yıkanarak yaklaşık onbeş gün %10'luk nitrik asit içinde dekalsifiye edildi (Şekil 5). Çıkartılan disk parçaları histopatolojik inceleme için 5 mm kalınlığında 3 dilime ayrıldı ve parafin içine gömüldü. Parafin blokları, ventralden dorsale mikrotom kullanılarak 2 mikrometrelik kesitlere ayrıldı. Kesitler histopatolojik ve histokimyasal değerlendirme için hemotoksilen eozin ve safranin ile boyandı (66).

Histopatolojik incelemede; Her köpek için dejenere kontrol, tedavi ve normal intervertebral disk gruplarının hemotoksilen-eozin ve safranin-o ile boyanan kesitler hücre yoğunluğunun en yoğun olduğu yerler incelendi yaklaşık 0-15 arası hücreye 1+, 15-30 arası hücreye 2+, 30-45 arası hücreye 3+, 45 üzerindeki hücrelerde 4+ olarak değerlendirildi.



Şekil 5. Dekalsifiye edilmiş omurga görüntüsü. A: Dekalsifiye edilmiş omurga, B: Dekalsifiye edilmiş omurganın sagittal olarak ikiye kesilmiş görünümü

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Analiz için SPSS 15 ve sigmastat 3.5 programları kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Shapira-wilk normallik analizi kullanılarak test edildi. Normal dağılıma uyan, parametrik koşulu sağlayan veriler $X \pm sd$ ort (%25-%75) olarak tanımlandı. Bağımlı ikili karşılaştırmalarda paried-t ve Wilcoxon testi kullanıldı. Tekrarlı

ölçümlerde ANOVA ve Freedman testleri kullanıldı. $P \leq 0.05$ seviyesi anlamlı olarak kabul edildi. Grafikler microsoft excell programında oluşturuldu.

4. BULGULAR

4.1. RADYOLJİK BULGULAR

Deneyisel çalışmada kullanılan 10 adet köpeğin L3-4 disk mesafelerine mikrodiskektomiden sonra konulan otojenik serumla muamele edilen HA emdirilmiş PGA'lı mesh, tedavi gurubu olarak değerlendirildi. Sadece mikrodiskektomi yapılan L4-L5 mesafeleri, dejenere kontrol grubu olarak değerlendirildi. Köpeklere bir hafta ve altı ay sonra T2 ağırlıklı sagital MR ve direk grafler çekildi ve sonuçlar;

Birinci haftada çekilen MRG'lerinde; tedavi grubu ve dejenere kontrol grubu intervertebral disk intensitesinin normal intervertebral diske (L2-L3) göre azaldığı görüldü ve istatiksel olarak anlamlıydı (Sırasıyla; $P=0.025$, $P=0.017$).

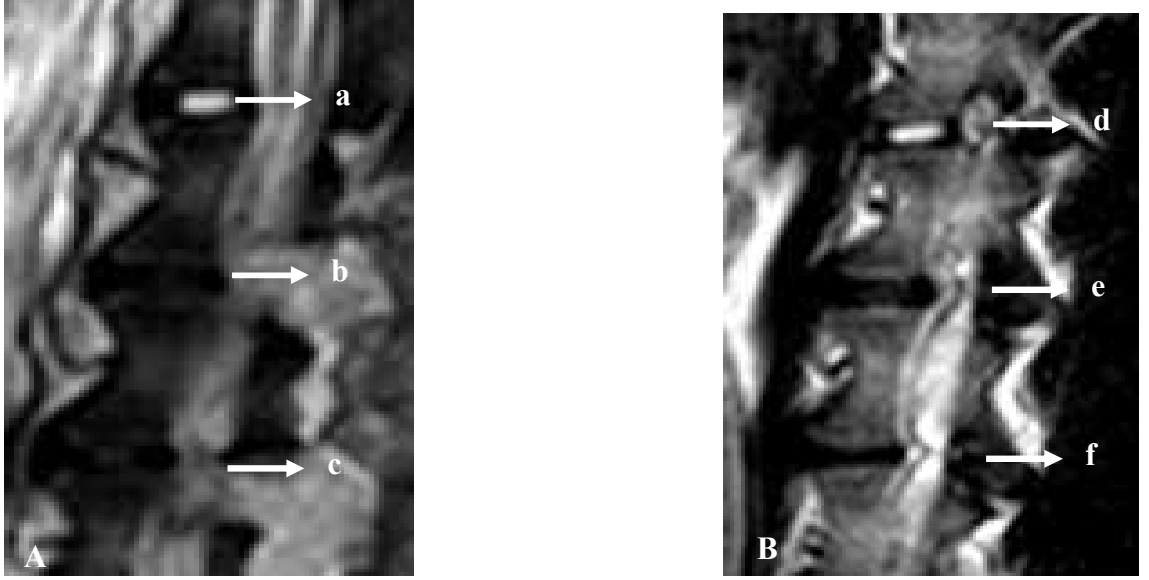
Birinci haftada çekilen direkt graflerde; tedavi grubu ve dejenere kontrol grubu intervertebral disk yüksekliğinin normal intervertebral diske göre azaldığı görüldü ve istatiksel olarak anlamlıydı (Sırasıyla; $P=0.025$, $P=0.017$).

Altıncı ayın sonunda çekilen MRG'inde; tedavi grubunda dejenere kontrol grubuna göre T2 ağırlıklı kesitlerde intensitesinin arttığı görüldü ve istatiksel olarak anlamlıydı ($P=0.050$).

Altıncı ayın sonunda çekilen MRG'in tedavi grubunda 1. haftada çekilen tedavi gurubuna göre T2 ağırlıklı kesitte intensitesinin arttığı görüldü ve istatiksel olarak anlamlıydı ($P=0.002$). Dejenere kontrol gurubunda ise fark istatiksel olarak anlamsızdı ($P=0.560$). Bu sonuçlar Şekil 6'de grafik olarak gösterildi.

Altıncı ayın sonunda çekilen direkt graflerde; tedavi grubunda dejenere kontrol grubuna göre disk yüksekliğinin arttığı görüldü ve istatiksel olarak anlamlıydı ($P=0.050$). Altıncı ayın sonunda çekilen direkt grafisinde; tedavi grubunda 1.haftada

çekilen tedavi gurubuna göre disk yüksekliğinin arttığı görüldü ve istatistiksel olarak anlamlıydı ($P=0.001$). Dejenere kontrol gurubunda ise fark istatistiksel olarak anlamsızdı ($P=0.759$). Bu sonuçlar Şekil 8’de grafik olarak gösterildi.

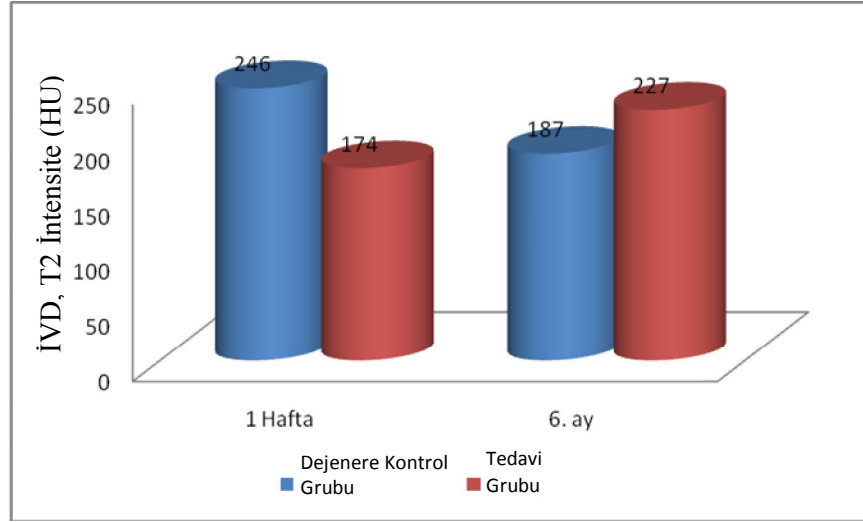


Şekil 5. Köpeklere 1. hafta ve 6. aydaki sagittal T2 ağırlıklı MRG’leri;

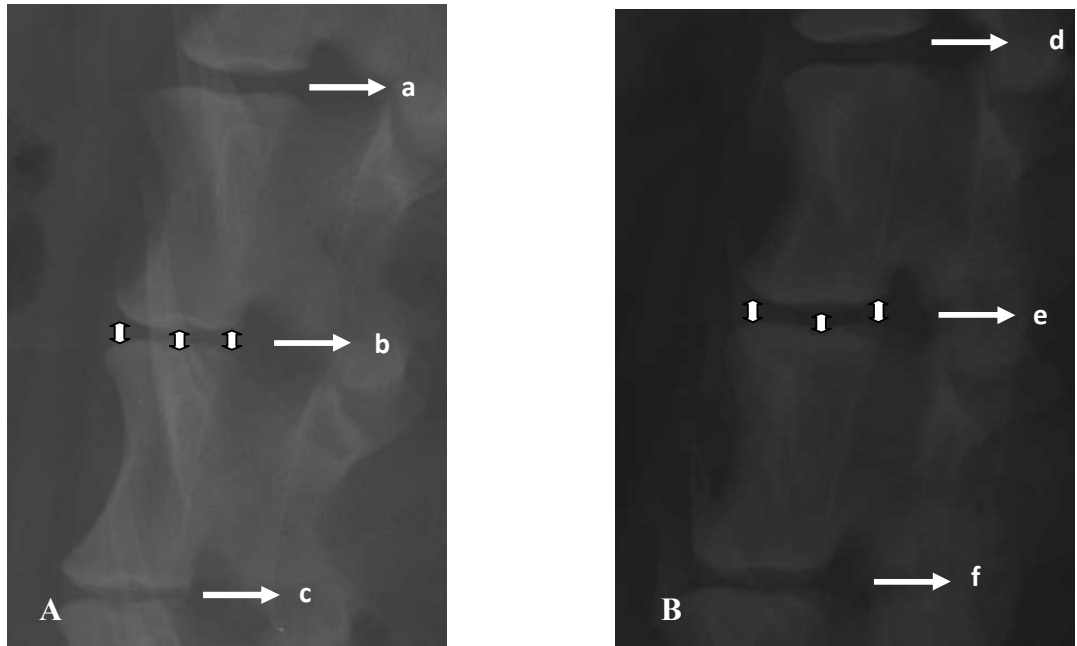
A. Birinci haftadaki sagittal T2 ağırlıklı MRG, a: Normal intervertebral disk, b: Tedavi grubu, c: Dejenere kontrol grubu.

B. Altıncı aydaki sagittal T2 ağırlıklı MRG, d: Normal intervertebral disk, e: Tedavi grubu, f: Dejenere kontrol grubu.

Birinci haftada tedavi gurubunun (b) intensitesin azaldığı, 6. ayda tedavi grubunda (e) intensitenin arttığı, dejenere kontrol gruplarında ise 6. ayda intensitenin daha da azaldığı görülmektedir.



Şekil 6. Birinci hafta ve altıncı aydaki MRG'lerin karşılaştırılması



Şekil 7. Köpeklere 1. hafta ve 6. ayda çekilen direkt grafiler

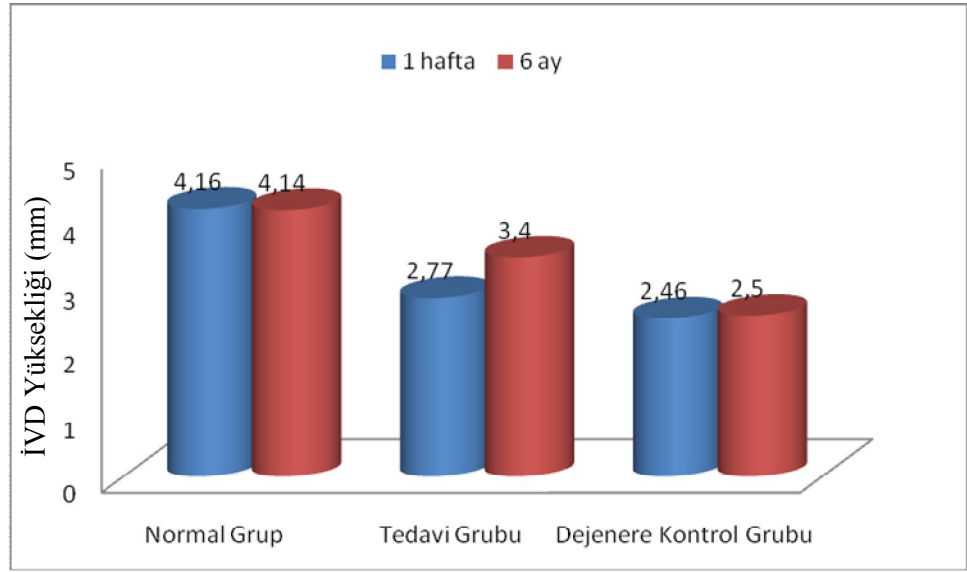
A. Birinci haftadaki direkt grafi görüntüsü

a: Normal intervertebral disk yüksekliği, b: Tedavi grubu, c: Dejenere kontrol grubu.

B. Altıncı aydaki direkt grafi görüntüsü

d: Normal intervertebral disk yüksekliği, e: Tedavi grubu, f: Dejenere kontrol grubu.

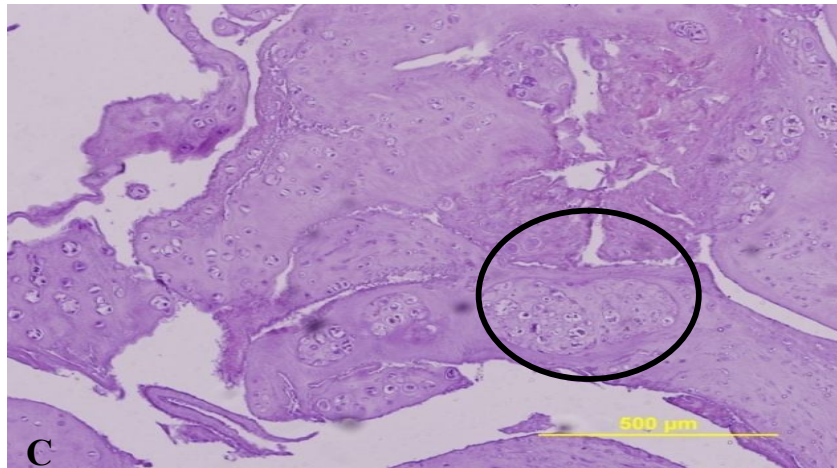
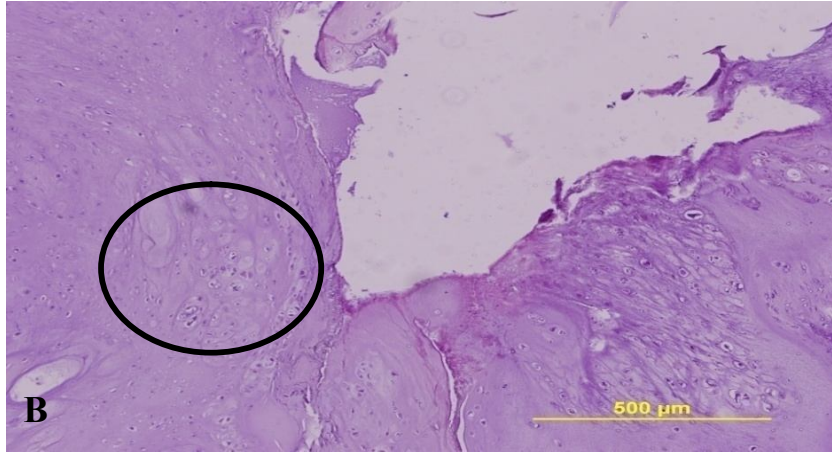
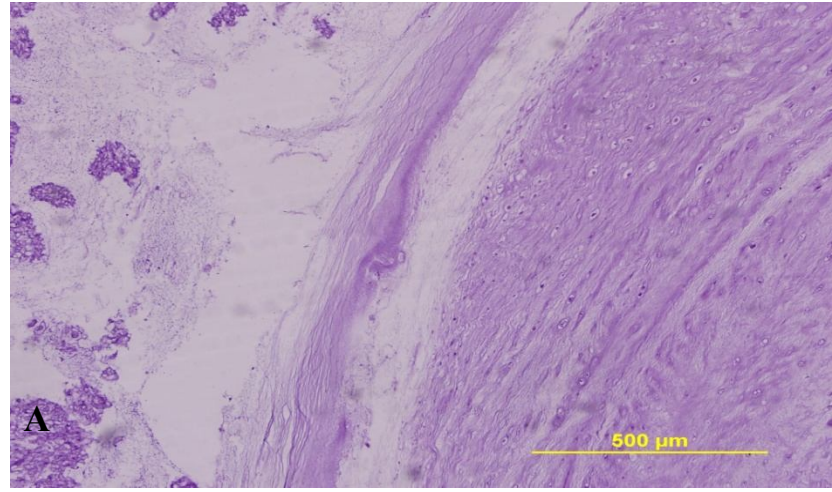
İntervertebral disk aralığında bulunan üç adet ok'un bulunduğu seviyedeki yükseklikler toplanıp üçe bölünerek, ortalama disk yüksekliği bulundu.



Şekil 8. Birinci hafta ve altıncı aydaki disk yüksekliklerinin karşılaştırılması

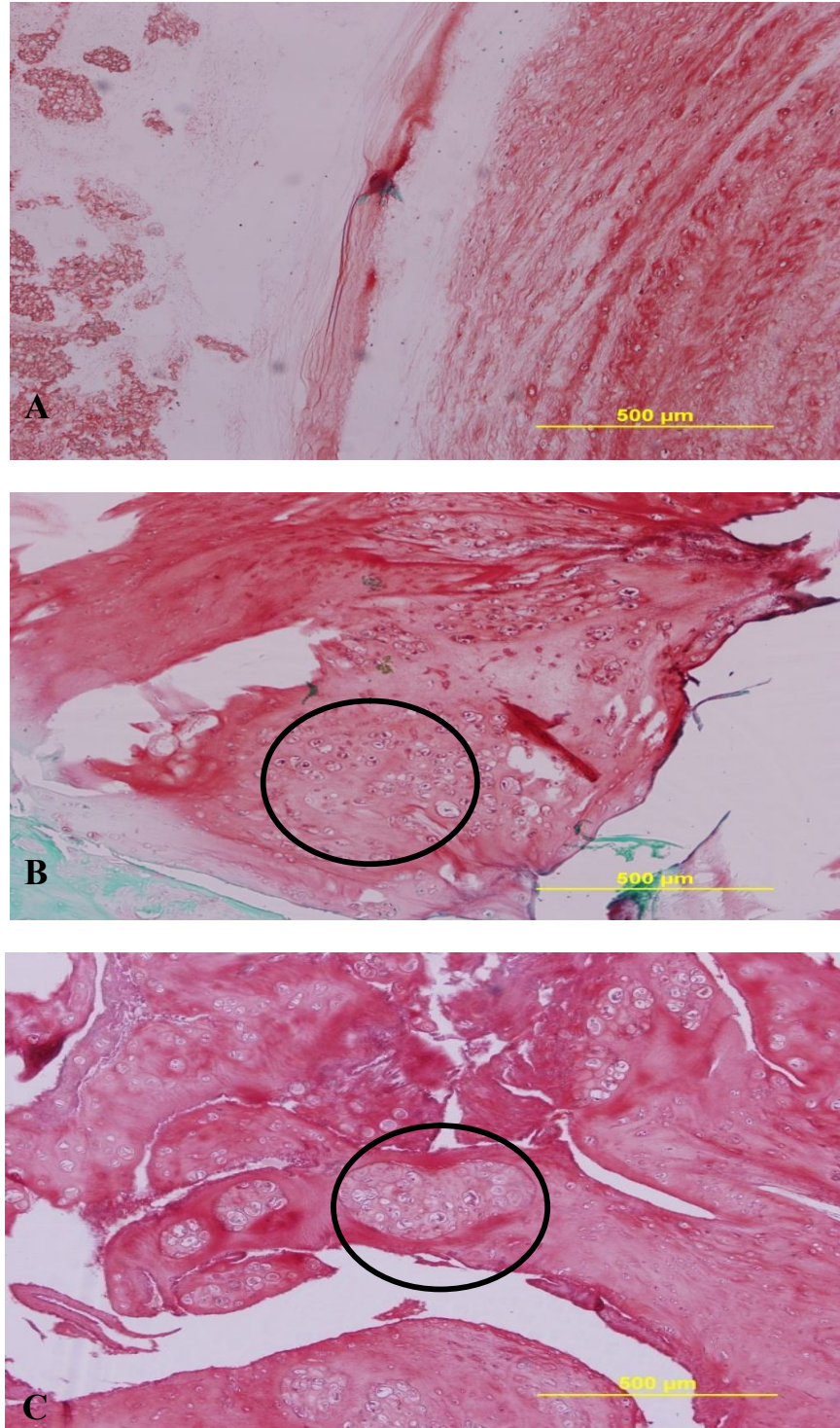
4.2. PATOLOJİK BULGULAR

Altıncı ayın sonunda İVD aralığından alınan dokuların H+E ve safranin ile boyama sonuçlarına göre; Dejenere kontrol gurubunda rejenerasyon çok az veya yokken, tedavi gurubunda rejenerasyon gösterildi (Şekil 9-12). Proteoglikanda rejenerasyonla bağımlı olarak artmıştı. Dejenere kontrol grubunda 6 köpekte 1+ iken 4 köpekte 2+ idi. Tedavi grubunda 5 köpekte 2+, 3 köpekte 3+, 2 köpekte 4+ idi. Dejenere kontrol grubu 6 köpeğin 1+ iken aynı köpeklerdeki tedavi grubunda bulunan 5 köpek 2+, 1 köpek 4+ idi. Dört köpeğin dejenere kontrol grubu 2+ iken aynı köpeklerdeki tedavi grubunda bulunan 3 köpek 3+, 1 köpek 4+ idi ve istatistiksel olarak anlamlıydı ($P=0.002$).



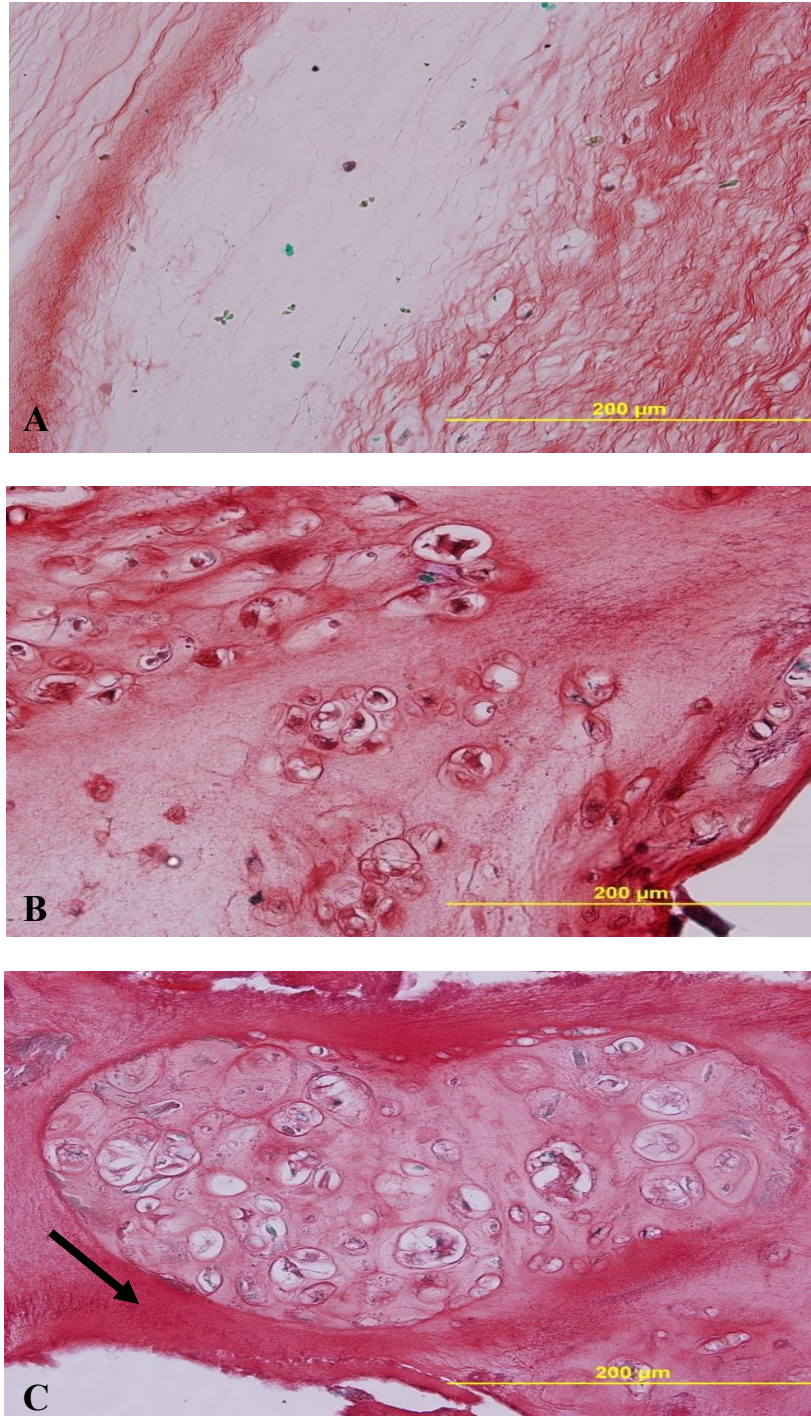
Şekil 9. 40'lık büyütmede H+E ile boyama görüntüsü.

A: Normal IVD dokusu, B: Dejenere kontrol grubu IVD görüntüsünde rejenerasyonun tek tek ve kısmi olduğu görülmektedir. C: Tedavi grubunda rejenerasyonun kümeler halinde ve daha fazla olduğu görülmektedir.



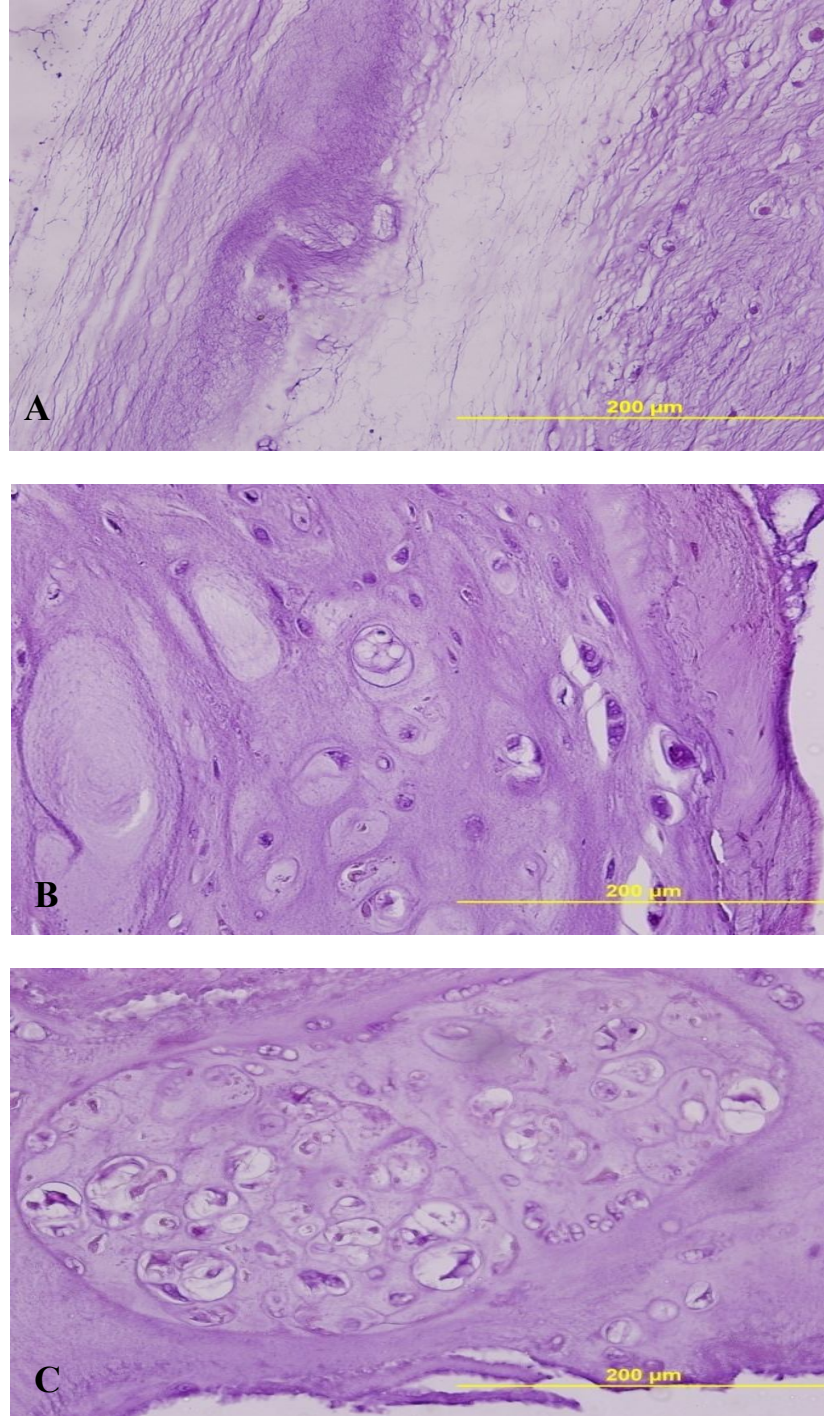
Şekil 10. 40'lık büyütmede safranin-o ile boyama görüntüsü

A: Normal IVD dokusu B: Dejenere kontrol grubu IVD görüntüsünde rejenerasyonun tek tek ve kısmı olduğu görülmektedir. C: Tedavi grubunda rejenerasyonun kümeler halinde ve daha fazla olduğu ve koyu renkte boyanan proteoglikanın rejenerasyonla birlikte arttığı görülmektedir.



Şekil 11. 100'lük büyütmede safranin-o ile boyama görüntüsü

A: Normal IVD dokusu, B: Dejenere kontrol grubu IVD görüntüsünde rejenerasyonun tek tek ve kısmi olduğu görülmektedir. C: Tedavi grubunda rejenerasyonun kümeler halinde ve daha fazla olduğu ve koyu renkte boyanan proteoglikanın rejenerasyonla birlikte arttığı görülmektedir



Şekil 12. 100'lük büyütmede H+E ile boyama görüntüsü.

A: Normal IVD dokusu, B: Dejenere kontrol grubu IVD görüntüsünde rejenerasyonun tek tek ve kısmı olduğu görülmektedir. C: Tedavi grubunda rejenerasyonun kümeler halinde ve daha fazla olduğu görülmektedir.

5. TARTIŞMA

HA, 13 1–3 ve 13 1–4 glikozidik bağlarla bağlanmış, glükuronik asit ve N-asetil glukozamin disakkarit ünitelerinin tekrarlamasından oluşmuş lineer bir polisakkarittir. Deri, kartilaj, umbilikal kord ve sinovyal sıvı gibi pek çok dokuda yer alır. 1934'de Meyer ve Palmer, domuz vitröz humöründen bir polisakkarit izole etmişler ve ona hyaluronik asit adını vermişlerdir. Bu ad yunanca ihyalosı (cam gibi) kelimesinden gelmektedir. HA sentezi plazma membranında meydana gelir. Markowitz ve Dorfman streptokokal membranı kullanarak ilk HA'ı sentezlediler. Prehm HA zincir büyümesinin ekstrasellüler olduğunu ve HA'ın GAG ailesinin diğer elemanları gibi golgi apparatusunda sentezlenmediğini göstermiştir. Sentez membranın iç yüzünde meydana gelmekte ve ekstrasellüler alana doğru büyümektedir (68). HA sentezini düzenleyen moleküler mekanizmalar henüz bilinmemesine rağmen büyüme faktörleri ve ekzojen HA'ın kendisi de dâhil olmak üzere birçok molekülün HA sentezi üzerinde önemli etkileri olduğu gösterilmiştir. HA; eklem çevresindeki hemostazisin sürdürülmesinde önemli görevleri olan glikozaminoglikan (GAG) yapıda bir polisakkarittir. HA, doku hidrasyonu, proteoglikan organizasyonu ve biyolojik olaylarda rol alır. Bu özelliği HA'ın fiziksel ve kimyasal özellikleri ile embriyonun gelişmesi, hücre farklılaşması, hücre hareketi gibi birçok konuda ve bağlantılı olup, değişik membran reseptörleri ile etkileşime girmesine bağlıdır. Kendine özgü makromoleküler yapısı olan HA, su ve diğer ekstrasellüler matriksteki makromoleküller ile etkileşebilmektedir. Su dengesi, yağlama, viskozite, matriks düzenlemesi vb. gibi olaylar HA ile bağlantılıdır. Özellikle hem kartilaj hem de sinovial sıvı içeren osteoartiküler eklemlerde HA'ın önemli bir görevi vardır. HA solüsyonlarının, kendine özgü reolojik yapısı, vitröz humor ve sinovial sıvının viskoelastik davranışlarından sorumludur. Burada eklem yüzlerini yağlayıcı madde olarak rol almaktadır. Gerçekten iltihabi süreçlerde HA'ın litik

enzimlerle parçalanması, sinovial sıvının viskozitesini azaltmaktadır. HA'nın biyolojik görevleri, özellikle reseptörleri aracılığı ile olur (70). Bunlardan başka son yıllarda HA bağ teşkil edici proteinler ortaya konulmuştur ve 2 gruba ayrılmıştır:

1) Dış hücre matriksinde mevcut olan HA bağlayıcı proteinler

2) Plazma membranlarında bulunan HA reseptörleri

Tüm bu reseptör ve bağlayıcı proteinler HA'nın fonksiyonlarının yerine getirilmesinde, farklı aşamalarda görev alırlar. HA, kartilajda kondrositler, sinoviyumda sinovisitler veya tip-B hücreleri olarak bilinen sinovial fibroblastlar tarafından sentezlenir. Normal eklemden HA molekül ağırlığı 4-5 milyon dalton kadardır. Genellikle eklemlerde 2 ml daha az sıvı bulunur, yani ortalama bir diz eklemi içindeki hyaluronan miktarı 4-8 mg'dır. Birçok proteoglikan molekülü, HA ile bağlanmakta ve büyük kümeler meydana getirmektedir. Bu makromoleküler yapı, istikrarın sağlanmasında görev almaktadır. Bu moleküllerin hidrasyonu, kıkırdağın çabuk iyileşme ve elastisitesini sağlamak kaydıyla, eklem yük taşımasını kolaylaştırmaktadır. Kıkırdaktaki HA konsantrasyonu, yaşla beraber artarken, moleküler ağırlığı azalır ve daha çok küçük proteoglikan kümeleşmeleri ortaya çıkar. Osteoartrozda ise, proteoglikan kümeleşmesinde bozulma olmakta, HA depolimerize edilmekte ve bunun sonucu olarak dokunun mekanik özelliklerinde bozulma olmaktadır. Bundan dolayı HA eklem kıkırdağının mekanik özelliklerinin belirlenmesinde önemli role sahiptir. HA'nın sinovial sıvıyla, kıkırdak arasında metabolik değişimi düzenleyen, yarı geçirgen bir bariyer oluşturucu etkisi vardır. Lubrikan ve şok absorbe edicidir (70).

Doku iskelesinde kullanılacak malzemede olması gereken başlıca özellikler şunlardır:

1-Malzeme biyouyumlu olmalıdır, yani vücut içine yerleştirildiğinde istenmeyen doku tepkilerine yol açmamalıdır.

2-Hücre yapışmasını ve işlevini artırıcı yüzey kimyasına sahip olmalıdır.

3-Hücreler yeni ECM oluşturacak kapasiteye ulaştıklarında iskeleye ihtiyaç kalmayacağından, doku iskelesinin vücut ortamında parçalanabilen bir malzemeden (biyo-bozunur madde) üretilmesi gerekmektedir.

4-Malzeme parçalanırken biyouyumluluğunu kaybetmemeli ve zehirli ürünler oluşturmamalıdır

5-Hücrelerin ve besinlerin geçişini sağlayacak şekilde yüksek gözeneklilik oranına ve uygun gözenek büyüklüğüne sahip olmalıdır (71).

Polyglikolik asit (PGA), polylaktik asit (PLA) ve bunların kopolimerleri polylaktik asit koglikolik asit (PLGA) lineer polyester sınıfına girmekte ve doku mühendisliği uygulamalarında sıklıkla kullanılmaktadırlar. Bu polimerler ester bağlarının hidrolizi sonucu çözünmektedir. PGA bugün en çok kullanılan polimerlerdendir. Hidrofilik yapısı nedeniyle sulu ortamda veya hücre içi koşullarda hızla çözünmekte ve mekanik bütünlüğünü iki ila dört hafta arasında kaybetmektedir. PGA, bugün daha çok dokusuz nanolifli doku iskelelerinin üretiminde tercih edilmektedir.

PLA doku iskelesi üretiminde çok kullanılan bir polimerdir. PGA ile kimyasal yapı olarak karşılaştırıldığında; PLA'nın tekrar eden birimlerinde ekstra bir metil grubu bulunmakta, bu ekstra metil grubu onu daha hidrofobik yapmakta, suya karşı affinitesini azaltmakta ve hidroliz oranını yavaşlatmaktadır. Hücre içi veya hücre dışına implante edilen PLA yapının çözünüp yok olması birkaç aydan birkaç yıla kadar sürebilmektedir. Doku iskelelerinin istenilen sürelerde çözünüp yok olmaları, PGA ve PLA'nın farklı oranlarda sentezlenip PLGA'ların elde edilmesi ile sağlanabilmektedir. PLA, PGA ve PLGA'ların insan sağlığı açısından güvenilirliği Amerikan Gıda ve ilaç Bakanlığı (FDA) tarafından onaylanmıştır (69).

Dejenere olan diskin rejenerasyonunu sağlamaya yönelik ilaçlar ve kök hücre çalışmaları umut vaat etmektedir. Disk rejenerasyonunu sağlamak için büyüme faktörlerinin verilmesi, otojen veya allojen kök hücrelerin uygulanması, gen tedavisi, biyomateryallerin kullanılması veya bunların kombinasyonları üzerinde çalışmalar artarak devam etmektedir (62, 72).

Tüm bu çalışmaların hedefi intervertebral disk matriksi içerisinde yer alan komponentlerin üretimini stimüle etmek, proteoglikan kaybını durdurmak ve böylece diskin yapısını korumaktır. Bu sayede intervertebral disk yapısında yer alan hem hücresel yapının hem de ekstrasellüler matriksin yeniden oluşturulması amaçlanmıştır (71). Bu çalışmalar özellikle mezenkimal kök hücre implantasyonun disk dejenerasyonunu durdurduğu gösterilmiştir (64). Mezenkimal kök hücreleri kemik iliğinden, yağ dokusundan veya intervertebral disk dokusundan elde edilebilir (62). Hücre nakli için, hem büyüme faktörlerini hem de optimal mezenkimal hücrelerini içeren moleküler bir karışım gereklidir (62). Rejeneratif tedavi stratejilerindeki asıl

güçlük disk dokusunun yetersiz nütrisyonel desteğinin olması ve fonksiyonel olarak yetersiz donör hücreleridir (64). Ancak dejenere olmuş disk içerisinde de nöroprogenitor hücrelerin tespit edilmesi kök hücre tedavisinde yeni umut olmuş ve bu hücrelerin osteojenik, lipojenik veya kondrojenik yönde farklılaşabileceği gösterilmiştir (72). Rejenerasyonu sağlamaya yönelik ilaç tedavisinde ise, dejenere disk yapısında yer alan nöroprogenitör hücrelerin stimüle edilmesi ve böylece normal disk yapısının sağlanması amaçlanmıştır (26). Biyolojik tedavi dejenere diskin içine büyüme faktörleri (BMP-2, BMP-7) enjekte edilerek rejenerasyonun sağlanması esasına dayanır. Hayvan çalışmalarında bu proteinler aracılığıyla rejenerasyonun başladığı ve kontrol gruplarıyla karşılaştırılınca dejenerasyonun daha yavaş bir seyir izlediği gösterilmiştir (63).

Bu çalışmada köpeklerin her iki intervertebral disk aralığında dejenerasyon oluşturulan deneklerde 6. ayın sonunda tedavi grubunda intervertebral disk mesafesinde MRG’ında intensite artışı, direkt graflerinde yükseklik artışı ve histopatolojik, histokimyasal incelemesinde hemotoksilen + eozin ve safranin-o ile boyanmasında tedavi grubunun dejenere kontrol grubuna göre rejenerasyonun ve proteoglikanın arttığı gösterildi.

Disk hasarını onarmak için dejenerasyonu inhibe eden ve rejenerasyonu sağlayan emilebilir hücre içermeyen HA emdirilmiş PGA ve tam kan serumuna daldırılmış implantlar tedavi seçeneği olabilir. Bu hipoteze dayanarak bu çalışmada disk yaralanmasında, NP ve AF durumu ve mezenkimal kök hücrelerinin vertebral segmentteki defekte göçlerini ve doku onarımı takip edildi. Yerel hücreler proliferasyon kapasitesi ve onarım dokusunun göçünü etkileyebilir ve diskin dejenerasyon derecesini azaltabilir.

Kondrositik hücrelerin kan serumu ile stimülasyonu yerel hücrelerin göçünü uyardığı gösterilmiştir."akıllı" substrat implantasyon (PGA mesh, HA ve serum) disk rejenerasyonunu oluşturduğu ve disk yükseklik kaybını engellediği histolojik ve radyolojik gösterilmiştir (66).

Klinik ortamlarda disk dejenerasyonu değerlendirmek için disk yüksekliği ve T2 ağırlıklı MRG sinyal yoğunluğu iki major parametrelerdir. Normal yaşlanma sürecinde, nükleus içinde proteoglikanların azalması, disk içindeki su miktarında da azalma meydana gelir. Buna bağlı olarak disk yüksekliğinde azalma meydana gelir (73, 74). İntervertebral diskin su içeriğini değerlendirmede sıklıkla T2 ağırlıklı MRG kullanılır (75, 76). Bu parametreler, tavşan modelinde emilebilir hücre içermeyen PGA tabanlı

implantlar ile su ve proteoglikan restorasyonunu ve diskin rejenerasyonu sağladığı gösterilmiştir (66). PGA implantları tavşanların disk kondrosit ekstraselüler matrikste üretilenle normal disk dokusundakilerle benzer bulundu, bunu kanıtı olarak safranin-o fast green rejenere dokuda histokimyasal olarak gösterilmesi delil olarak gösterildi (66).

Hücre içermeyen PGA tabanlı HA emdirilmiş implant kullanımı disk rejenerasyonu için transplantasyon teknikleri ile karşılaştırıldığında avantajları vardır.

1- Hücre içermeyen emilebilir implantların kullanımının avantajı sadece tek bir cerrahi müdahale gerekmektedir.

2- Hücre içermeyen implantlar, depolanabilir ve daha uzun raf ömrü vardır.

3- Hücre tabanlı greft kullanılabilir.

4- Biyomalzemeler ve mekanik istikrarı sağlayabilir.

5- Mikrodiskektomi sonrası implant yerleştirilebilir. Erken mekanik destek sağlar (66).

İnsan tam kan serumu ve sinovial sıvının kök hücre göçünü uyardığı kanıtlanmıştır (65, 77).

Kemik iliğinden elde edilen kök hücreler multipl mezenkimal doku olan kemik kırıkta yağ dokusunu geliştirir (78, 79). Bir koyun model PGA-hyaluronan tabanlı implant ile mikrofraktür sonrası kırıkta oluşumu olduğu gösterilmiştir (65). Büyük olasılıkla bu hücre içermeyen implant kusur yerinde yerel hücreleri zenginleştirip tamir dokusu oluşumunu güçlendirebilir

Abbushi, Erggelet, Endres ve arkadaşları (65, 66, 80), kontrol ve deney gruplarını hayvanları cinsleri arasında fark olmadığından ayrı hayvanlar üzerinde göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda dejenere kontrol ve tedavi grupları aynı hayvan üzerinde çalışıldı. Böylece denek gruplarında yaş ve cins farklılıklarının deney üzerindeki etkisi ortadan kaldırılarak, daha objektif bir sonuç ortaya konulmaya çalışıldı.

Abbushi ve arkadaşları ile Endres ve arkadaşları (66, 80) tavşanlara yan yatar pozisyonda anterolateral olarak diskektomiler yapmışlardır. Bizim çalışmamızda insanlarda yapılan mikrodiskektomideki gibi yüzüstü pozisyonda parsiyel hemilaminektomi ile diskektomiler yapıldı.

Abbushi ve arkadaşlarının (66) İVD dejenere edildikten ve implant konulduktan 6 ay sonra İVD yüksekliğinin % 27 arttığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda ise tedavi

grubumuzdaki bu oran %23 idi ve Abbushi ve arkadaşlarının sonuçları ile uyumluydu, dejenere kontrol grubunda ise artış yoktu.

Abbushi ve arkadaşları (66), tavşanlarda İVD dejenere edildikten ve implant konulduktan 6 ay sonra intensitenin %45 arttığını göstermişlerdir. Endres ve arkadaşları (80) tavşanlarda İVD dejenere edildikten ve implant konulduktan 12 ay sonra intensitenin %51 arttığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda köpeklerde İVD dejenere edildikten ve implant konulduktan 6 ay sonra intensitenin %21 arttığı tespit edildi. Bu MRG bulguları Endres, Abushi ve arkadaşlarının çalışmalarıyla uyumlu değildi.

Bu parametremizin uyumlu çıkmamasının sebebi; Köpeklerin vücut ağırlıklarının tavşanlara göre daha fazla olması ve buna bağlı olarak İVD miktarının fazla olması nedeniyle, rejenerasyon normal olsada intensite daha az artması normal olarak kabul edilebilir

Erggelet ve arkadaşları (65) bir koyun modelinde PGA-hyaluronan tabanlı implant ile mikrofraktür sonrası kırıkta oluşumu göstermişlerdir. Büyük olasılıkla bu hücre içermeyen implant yerel hücreleri zenginleştirip, tamir dokusu oluşumunu güçlendirebildiğini ileri sürmüşlerdir.

Abbushi ve arkadaşları ile Endres ve arkadaşları (66, 80), benzer olan çalışmalarında deney hayvanı olarak tavşan kullanmışlar ve PGA-hyaluronan tabanlı implantı, İVD'i dejenere ettikten sonra yerleştirmişler ve Abbushi ve arkadaşları 6 ay sonra, Endres ve arkadaşları 12 ay sonra rejenerasyonu göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda; deney hayvanı olarak köpek kullanıldı. İVD dejenere edildikten sonra PGA-hyaluronik asit tabanlı implant, otojenik serumla muamele edildikten sonra yerleştirildi. 6 ay sonra rejenerasyon gösterildi. Endres, Erggelet, Abbushi ve arkadaşlarının yaptıkları koyun ve tavşan çalışmalarıyla bizim çalışmamızın 6 ay sonraki rejenerasyon sonuçları uyumlu bulundu.

Patolojik incelemede, Abbushi, Erggelet, Endres ve arkadaşları (65, 66, 80), preparatları HE ve safrain ile boyamışlar. Abushi, Endres ve arkadaşları (66, 80), İVD rejenerasyonunu ve buna bağlı proteoglikan artışını göstermişlerdir. Erggelet ve arkadaşları kırıkta rejenerasyonunu ve buna bağlı proteoglikan artışını göstermişlerdir (65). Bizim çalışmamızda preparatları HE ve safrain ile boyadıktan sonra İVD

rejenerasyonunu ve buna bağlı proteoglikan artışını tespit ettik. Bu bulgularımız literatür ile uyumlu idi

Bu geliştirilen greft disk dejenerasyonunda tedavi amaçlı kullanılabilir. Ancak bu greftin etkisini gösterecek daha birçok deneysel ve klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Deneysel olarak HA emdirilmiş ve otojenik serumuyla muamele edilmiş hücresiz PGA tabanlı mesh'in mikrodiskektomi sonrası yerleştirilmesi ve 6 ay takibinden sonra elde ettiğimiz sonuçlar şu şekilde sıralanabilir;

- 1- İntervertebral disk içine yerleştirilen implantta bulunan HA ve kan serumunun, yerel hücrelerin proliferasyonunu sağladığı, dejenerasyonu yavaşlattığı ve rejenerasyon hızlandırdığı gösterilmiştir.
- 2- Dejenere olmuş intervertebral disk içine yerleştirilen implant intervertebral disk rejenerasyonunu sağlayarak disk yüksekliğinin azalmasını engelleyebilir.
- 3- HA ve kan serumunun birlikte kullanımı hücre rejenerasyonundaki etkilerini potansiyelize eder.
- 4- Hücre içermeyen emilebilir implantlar mikrodiskektomide disk aralığına yerleştirilebilir. Hücre içermeyen implantlar, depolanabilir, daha uzun raf ömrü var ve daha ucuzdur.

Doku mühendisliği ve moleküler biyolojideki ilerlemeler DDH tedavisinde yeni imkanlar sağlayıp İVD'in direk kendine yönelik yeni tedavi stratejilerinin gelişmesine olanak sağlayacaktır. Bu konuda yapılan çalışmalarda büyüme faktörü, gen tedavisi, hücre tedavisi ve doku mühendisliği bulunmaktadır. Yapılan tüm çalışmalar bu konuda ümit vericidir. Laboratuardan kliniğe katkı sağlayacak IVDD'nin patogenezi ve tedavisine ışık tutacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Barnes B, Rodts GE, McLaughlin MR, et al. Threaded cortical bone dowels for lumbar interbody fusion: over 1-year mean follow up in 28 patients. *J Neurosurg (Spine 2)*, 2001; 94: 1-4
2. Lyons G, Eisenstein SM, Sweet MB: Biochemical changes in intervertebral disc degeneration. *Biochim Biophys Acta* 1981; 673:443-53
3. Van Tulder MW, Koes BW, Bouter LM: A cost-of-illness study of back pain in The Netherlands. *Pain* 1995, 62:233-44
4. Anderson GBJ; Epidemiologic features of chronic low-back pain. *Lancet* 1999; 354:581–85
5. Kleinstueck FS, Diederich CJ, Nau WH et al. Acute biomechanical and histological effects of intradiscal electrothermal therapy on human lumbar discs. *Spine* 2001; 26:2198–207
6. Boden SD, Davis DO, Dina TS, Patronas NJ, Wiesel SW: Abnormal magnetic resonance scans of the lumbar spine in symptomatic subjects. A prospective investigation. *J Bone Joint Surg [Am]* 1990; 72:403-8
7. Panagiotacopulos ND, Pope MH, Block R, et al. Water content in human intervertebral discs. Part II. Viscoelastic behaviour. *Spine* 1987; 912-18
8. Boos N, Weisbach S, Rohrbach H, et al. Classification of age-related changes in lumbar intervertebral discs. *Spine* 2002; 27:2631-44
9. Anderson DG, Albert TJ. The molecular basis of intervertebral disk degeneration. *Seminars in Spine Surg* 2003; 15:352-60
10. Wallach CJ, Gilbertson LG, Kang JD: Gene therapy applications for intervertebral disc degeneration. *Spine* 2003; 28:93-8
11. Kuslich SD, Danielson G, Dowdle JD, et al: Four-year follow-up results of lumbar spine arthrodesis using the Bagby and Kuslich lumbar fusion cage. *Spine*, 2000; 25: 2656-62
12. An HS, Thonar EJ-MA, Masuda K: Biological repair of intervertebral disc. *Spine* 2003; 28:86-92
13. Walker M, Anderson D. Moleküler basis of intervertebral disc degeneration. *Spine J* 2004; 4: 158-66
14. Battie MC, Videman T. Lumbal disc degeneration: Epidemiyology and genetic influence. *Spine*. 2004; 29: 2679-90

15. Sybert GW, Arpin-Sybert EJ. Evaluation and management of the failed back syndrome. In: Youmans Neurological Surgery Winn RH, ed.. Philadelphia, Saunders, 2004:4327-45
16. Holm S, Maroudas A, Urban JP, et al. Nutrition of the intervertebral disc: Solute transport and metabolism. *Connect Tissue Res.* 1981; 8:101-19
17. Çetinalp NE. Servikal Dejeneratif disk hastalığında matriks metalloproteinazların ekspresyonunun immünokimyasal olarak araştırılması. Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi Uzmanlık Tezi, 2007:1-68
18. Roughley PJ, Allini M, Antoniou J. The role of proteoglycans in aging, degeneration and repair of the intervertebral disc. *Biochem Soc Trans* 2002; 30:869-74
19. Roberts S, Menage Urban JP, Evans H, et al. Transport properties of the human cartilage endplate in relation to its composition and calcification. *Spine* 1996; 21:415-20
20. Risbud MV, Guttapalli A, Tsai TT, et al. Evidence for skeletal progenitor cell in the degenerate human intervertebral disc. *Spine* 2007; 32:2537-44
21. Thomas NNM, Rea GL, Weinstein PR. Anatomy and pathophysiology of acquired spinal lesions. In: Edward C. Benzel, (ed). *Spine Surgery Techniques, Complication Avoidance, and Management*, 2nd ed. Philadelphia: Elsevier, 2005: 88-99
22. Goiot BH, Fessler RG. Molecular biology of degenerative disc disease. *Neurosurgery* 2000; 47:1034-40
23. Bogduk N. The innervation of the lumbar spine. *Spine* 1983;8:286-93
24. Nerlich AG, Boos N, Wiest I, et al. Immunolocalization of major interstitial collagen types in human lumbar intervertebral discs of various ages. *Virchows Arch* 1998; 432: 67-76
25. Erman T, Çetinalp NE. Lomber disk dejenerasyonu, rejenerasyonu ve doğal seyri. Koç RK ed. *Lomber Dejeneratif Disk Hastalığı*. Ankara: Buluş Tasarım 2008: 37-50
26. Kang JD, Stefanovic-Racic M, McIntyre LA, et al. Toward a biochemical understanding of human intervertebral disc degeneration and herniation. Contributions of nitric oxide, interleukins, prostaglandin E2, and matrix metalloproteinases. *Spine* 1997; 22: 1065-73
27. Battie MC, Videman T, Gibbons LE, et al. Volvo Award in clinical sciences. Determinants of lumbar disc degeneration. A study relating lifetime exposures and magnetic resonance imaging findings in identical twins. *Spine* 1995; 20: 2601-12
28. La-Kokko L. Genetic risk factors for lumbar disc disease. *Ann Med* 2002; 34: 42-47
29. Gülmen V. Lomber disk hernisinde yakınma ve bulgular. Zileli M, Özer AF ed. *Omurilik ve omurga cerrahisi*. İzmir: Meta Basım, 2002: 635-46
30. Simeone FA: Lumbar disc disease. Wilkins RH, Rengachary SS eds: *Neurosurgery*, New York: McGraw Hill, 1996: 3805-16

31. Sinaki M, Mokri B: Low back pain and disorders of the lumbar spine. Braddom RL ed. Physical Medicine& Rehabilitation, Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokya: WB. Saunders Company, 1996: 813-50
32. Kalkan E, Keskin F. Lomber dejeneratif disk hastalığında semtom ve bulgular. Koç RK (ed). Lomber Dejeneratif Disk Hastalığı Ankara: Buluş Tasarım, 2008: 51-8
33. Inufusa A, An HS, Lim TH, Hasegawa T, Haughton VM; Nowicki BH. Anatomic changes of the spinal canal and intervertebral foramen associated with flexion-extension movement. Spine 1996; 21: 2412-20
34. Benoist M. The natural history of lumbar degenerative spinal stenosis. Joint Bone Spine 2002; 69:450-7
35. Öktenoğlu T, Özer AF. Lomber disk herniasyonu Yazar T, Altun N (ed). Dejeneratif Omurga Hastalıkları. Ankara: Rekmay Yayıncılık, 2007: 401-28
36. Deville WL, Windt DA, Dzaferagic A, et al: The test of Laseque: Systematic accuracy in diagnosing herniated disc. Spine 2000; 25: 1140-7
37. Croft PR, Macfarlane GJ, Papageorgiou AC, et al. Outcome of low back pain in general practice: a prospective study. BMJ 1998; 316:1356-61
38. Van Tulder MW, Assendelft WJ, Koes BW, Bouter LM. Spinal radiographic findings and nonspecific low back pain. A systematic review of observational studies. Spine 1997; 22:427-34
39. Gatchel RJ, Polation PB, Mayer TG. The dominant role of psychosocial risk factors in the development of chronic low back pain disability. Spine 1995; 20:2702-9
40. Hay EM, Mullis R, Lewis M, et al. Comparison of physical treatments versus a brief pain-management programme for back pain in primary care: A randomised clinical trial in physiotherapy practice. Lancet 2005; 365:2024-30
41. Chou R, Qaseem A, Snow V, et al. Diagnosis and treatment of low back pain. Arch Intern Med 2007; 147: 478-91
42. Van Tulder MW, Scholten RJ, Koes BW et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for low back pain: a systematic review within the framework of the Cochrane Collaboration Back Review Group. Spine 2000; 25:2501-13
43. Kearney PM, Baigent C, Godwin J, et al. Do selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors and traditional non-steroidal anti-inflammatory drugs increase the risk of atherothrombosis? Meta-analysis of randomised trials. BMJ 2006; 332:1302-8
44. Zhang W, Jones A, Doherty M. Does paracetamol (acetaminophen) reduce the pain of osteoarthritis? A meta-analysis of randomised controlled trials. Ann Rheum Dis 2004; 63:901-7

45. Van Tulder MW, Touray T, Furlan AD, et al. Muscle relaxants for nonspecific low back pain: a systematic review within the framework of the cochrane collaboration. *Spine* 2003; 28:1978-92
46. Kalso E, Edwards JE, Moore RA et al. Opioids in chronic non-cancer pain: systematic review of efficacy and safety. *Pain* 2004; 112:372-80
47. Bair MJ, Robinson RL, Katon W et al. Depression and pain comorbidity: a literature review. *Arch Intern Med* 2003; 163:2433-45
48. Yaksi A, Ozgonenel L, Ozgonenel B. The efficiency of gabapentin therapy in patients with lumbar spinal stenosis. *Spine* 2007; 32:939-42
49. Korhonen T, Karppinen J, Paimela L, et al. The treatment of disc herniation-induced sciatica with infliximab: one-year follow-up results of FIRST II, a randomized controlled trial. *Spine* 2006;31:2759-66
50. Heymans MW, van Tulder MW, Esmail R, et al. Back schools for nonspecific low back pain: A systematic review within the framework of the cochrane collaboration back review group. *Spine* 2005; 30:2153-63
51. Bair MJ, Robinson RL, Katon W, Kroenke K. Depression and pain comorbidity: a literature review. *Arch Intern Med* 2003; 163:2433-45
52. Ferreira ML, Ferreira PH, Latimer J, et al. Efficacy of spinal manipulative therapy for low back pain of less than three months' duration. *J Manipulative Physiol Ther* 2003; 26:593-601
53. Hake M, Muller HH, Schade-Brittiger C, et al. German Acupuncture Trials (GERAC) for chronic low back pain: Randomized, multicenter, blinded, parallel-group trial with 3 groups. *Arch Intern Med* 2007; 167:1892-98
54. Weiner DK, Rudy TE, Glick RM, et al. Efficacy of percutaneous electrical nerve stimulation for the treatment of chronic low back pain in older adults. *J Am Geriatr Soc* 2003; 51:599-608
55. Frymoyer JW, Pope MH, Clements JH, et al. Risk factors in low back pain: An epidemiological survey. *J Bone Joint Surg* 1983; 65:213-18
56. Riesenburger RI, David CA. Lumbar microdiscectomy and microendoscopic discectomy. *Minim Invasive Ther Allied Technol* 2006; 15:267-70
57. Eismont FJ, Currier B. Current concepts review: surgical management of lumbar intervertebral disc disease. *J Bone Joint Surg* 1989; 71A:1266-9
58. Harrop JS, Youssef JA, Maltenfort M, et al. Lumbar adjacent segment degeneration and disease after arthrodesis and total disc arthroplasty. *Spine* 2008; 33:1701-7

59. Zigler J, Delamarter R, Spivak JM. Results of the prospective, randomized, multicenter Food and Drug Administration investigational device exemption study of the ProDisc- L total disc replacement. *Spine* 2007; 32:1155-62
60. Grob D, Humke T, Dvorak J. Degenerative lumbar spinal stenosis: Decompression with and without arthrodesis. *J Bone Joint Surg* 1995; 77A:1036-41
61. Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274:21491-4
62. Hegewald AA, Ringe J, Sittlinger M, et al. Regenerative treatment strategies in spinal surgery. *Front Biosci.* 2008; 1: 1507-25
63. Masuda K, Imai Y, Okuma M, et al. Osteogenic protein-1 injection into a degenerated disc induces the restoration of disc height and structural changes in the rabbit anular puncture model. *Spine* 2006; 31:742-54
64. Ho G, Leung VYL, Cheung KMC, et al. Effect of severity of intervertebral disc injury on mesenchymal stem cell-based regeneration. *Connective Tissue Research* 2008; 49: 15-21
65. Erggelet C, Neumann K, Endres M, et al. Regeneration of ovine articular cartilage defects by cell-free polymer-based implants. *Biomaterials* 2007; 28: 5570-80
66. Abbushi A, Endres M, Cabraja M, et al. Regeneration of intervertebral disc tissue by resorbable cell-free polyglycolic acid-based implants in a rabbit model of disc degeneration. *Spine* 2008; 33:1527-32
67. Piermattei DL. An atlas approaches to the bones and joints of the dog and cat. 3rd ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company, 1993:70-5
68. Swann DA: Role of hyaluronic acid in joint lubrication. *Ann Rheum Dis* 1974; 33:318-26
69. Can CA, Duran D. Doku mühendisliği uygulamalarında tekstil materyal ve teknolojilerinin kullanımı. *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi* 2009; 3: 77-86
70. Uluçay Ç. Diz osteoartritinde artroskopik debridman ve viskosüplemantasyonun yeri; Göztepe Eğitim Araştırma Hastanesi Uzmanlık tezi, 2005: 1-58
71. Peter X. Scaffolds for tissue fabrication, *Materials Today* 2004: 35-38
72. Jandial R, Aryan HE, Park J, et al. Stem cell-mediated regeneration of the intervertebral disc: cellular and molecular challenges. *Neurosurg Focus* 2008; 24: 3-4
73. An HS, Thonar EJ, Masuda K. Biological repair of intervertebral disc. *Spine* 2003; 28:86-92.
74. Ganey T, Libera J, Moos V, et al. Disc chondrocyte transplantation in a canine model: a treatment for degenerated or damaged intervertebral disc. *Spine* 2003; 28:2609-20
75. Luoma K, Vehmas T, Riihimäki H, et al. Disc height and signal intensity of the nucleus pulposus on magnetic resonance imaging as indicators of lumbar disc degeneration. *Spine* 2001; 26:680-6

76. Pfirrmann CW, Metzdorf A, Zanetti M, et al. Magnetic resonance classification of lumbar intervertebral disc degeneration. *Spine* 2001; 26:1873-8
77. Endres M, Neumann K, Haupl T, et al. Synovial fluid recruits human mesenchymal progenitors from subchondral spongioid bone marrow. *J Orthop Res* 2007; 25:1299-307
78. Haynesworth SE, Baber MA, Caplan AI. Cell surface antigens on human marrow-derived mesenchymal cells are detected by monoclonal antibodies. *Bone* 1992; 13: 69–80.
79. Neumann K, Endres M, Ringe J, et al. BMP7 promotes adipogenic but not osteochondrogenic differentiation of adult human bone marrow-derived stem cells in high-density micro-mass culture. *J Cell Biochem* 2007; 102: 626–37
80. Endres M, Abbushi , Ulrich W et al Intervertebral disc regeneration after implantation of a cell-free bioresorbable implant in a rabbit disc degeneration model. *Biomaterials* 2010; 5836-41

**ERCİYES ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI
ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KAYSERİ-TÜRKİYE**

ETİK KURULUN ADI : Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı
ETİK KURULUN ADRESİ : Erciyes Üniversitesi

Tarih: 11/08/2010

Toplantı Sayısı: 7

Karar No: 10/71

Etik kurul toplantısı

11/08/2010

tarihinde Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik

Kurul Başkanlığı'nda

Prof.Dr.Zübeyde GÜNDÜZ

başkanlığında gerçekleştirilmiştir.

Üye Adı/Soyadı	Akademik Ünvanı	Fakültesi	
Zübeyde Gündüz	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Harun Ülger	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Özlem Canöz	Doç.Dr.	Tıp Fakültesi	
Hatice Özbilge	Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Servet Kesim	Yrd. Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Davut Bayram	Öğrt.Gör.Dr.	Veteriner Fakültesi	
Coşkun Tez	Doç. Dr.	Fen Edebiyat Fakültesi	
M. Betül Aycan	Yrd. Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi(Farmakoloji)	
Ahmet Öztürk	Öğrt.Gör.Dr.		
Serap Altuntaş Eroğlu	Avukat		
Halil Tekiner	Eczacı		

Yürütücülüğünü Üniversitemizin Tıp Fakültesi Prof. Dr: Rahmi Kemal Koç tarafından yapılan "Köpek Modelinde oluşturulan intervertebral Disk Dejenerasyonunun Emilebilen Hücresiz Poliglukolik Asit İçeren İmplant İle Rejenerasyonu."adlı araştırması incelenerek çalışmasının yapılmasının uygun olacağına ve rektörlük makamına sunulmasına oy birliğiyle karar verildi.

ASLİNE GÖRE

Tarih : 11/08/2010

Etik Kurul Başkanı İmzası

Etik Kurul Başkanı : Prof.Dr.Zübeyde GÜNDÜZ

Dokman Sekreteri
Bingöl Kocaman
(24/8)

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Oğuz ÖZEL'e ait "Deneysel İntervertebral Disk Dejenerasyonunda Emilebilir Hücresiz Poliglikolik Asit tabanlı hyaluronik asit ve otojenik serum ile intervertebral disk rejenerasyonu" adlı çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan :

Üye :

Üye :

Üye :

Üye :