

## LAMİNEKTOMİ SONRASI GELİŞEN EPİDURAL FİBROZİSİN ÖNLENMESİ ÜZERİNE cis-4-HİDROKSİ-L-PROLİN'İN ETKİLERİ

### THE EFFECT OF cis-4-HYDROXY-L-PROLINE ON POSTLAMINECTOMY EPIDURAL FIBROSIS

Hakan SABUNCUOĞLU\*, Murat BAVBEK\*\*, Aylin GÜRPINAR\*\*\*,  
Mehmet Ali ONUR\*\*\*\*, Kenan KÖSE\*\*\*\*\*, Bizden SABUNCUOĞLU\*\*\*\*\*

#### ÖZET:

Önceki klinik çalışmalar, bel ağrısı ve radiküler tip ağrının rekürrensini; laminektomi sonrası gelişen epidural fibröz dokunun oluşumuyla belirgin derecede beraberlik gösterdiğini ortaya koymuştur.

Hayvan modellerinde epidural fibrozisi önlemek amacıyla daha önceden bir çok materyal kullanılmıştır. Bilindiği üzere prolinin birçok yapısal analogu; protein yapıda prolin ile yer değiştirmekte ve bunun sonucunda hücre kültürlerinde ve hayvan sistemlerinde hücre dışı kollajenin birikimi azalmaktadır. Bu çalışma sıçan modelinde laminektomi sonrası gelişen epidural fibrozis üzerine cis-4-hidroksi-L-prolin'in (cis-4-OH-L-prolin) etkisini ölçmek amacıyla hazırlanmıştır.

Ağırlıkları 150-200 gram arası değişen 27 sıçana L<sub>4</sub> laminektomi yapılmıştır. 6 sıçan çeşitli nedenlerle istatistiksel değerlendirmeden çıkartılmıştır (3 tanesi makroskopik değerlendirme, 2 tanesinde hidrojelin operasyon sahası dışına kayması ve 1 tanesinin de ölmesi nedeniyle). Cerrahi sonrası komplikasyon gelişmemiş ve herhangi bir nörolojik defisit

gözlenmemiştir. Açığa çıkarılan dura üzerine aşağıda sıralanan maddeler konmuştur: 1. Hiçbir Kontrol grubu 2. Hidroksietilmetakrilat (HEMA) hidrojel 3. cis-4-hidroksi-L-prolin+ HEMA hidrojel. Cerrahiden 3 hafta sonra sıçanlar sakrifiye edilerek L<sub>4</sub> düzeyinde spinal kolonlar çıkarılarak dekalsifiye edilmiş ve transvers kesitler alınarak hematoksilin-eozin ve Masson'un trikrom boyalarıyla histolojik değerlendirme için hazırlanmıştır. Transvers kesitler ışık mikroskopunda epidural fibrozis gelişimi yönünden değerlendirilmiş ve ayrıca epidural fibrozis alanları Zeiss Axioskop görüntü analiz morfometri programıyla bilgisayarda ölçülmüştür.

Kontrol ve HEMA hidrojel gruplarıyla kıyaslandığında, deney grubumuzda sinir kökü tutulumu ve sublaminar fibrozis yönünden belirgin derecede antifibrotik etkinin olduğu bulunmuştur. Bu sonuç laminektomi sonrası epidural fibrozisin azaltılmasına yönelik cis-4-hidroksi-L-prolin hidrojelin kullanılabilirliğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Epidural fibrozis, laminektomi, cis-4-hidroksi-L-prolin

**Kanıt Düzeyi:** Düzey I

(\*) Yrd. Doç. Dr., Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara

(\*\*) Doç. Dr., Beyin ve Sinir Cerrahisi Uzmanı, Klinik Şefi, Sağlık Bakanlığı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2.Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği, Ankara.

(\*\*\*) Yrd. Doç. Dr., Bilim Doktoru, Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Ankara.

(\*\*\*\*) Doç. Dr., Bilim Doktoru, Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Ankara.

(\*\*\*\*\*) Yrd. Doç. Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Ankara.

(\*\*\*\*\* Prof. Dr., Histoloji ve Embriyoloji Uzmanı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

**SUMMARY:**

Previous clinical studies have demonstrated a significant association between the presence of postlaminectomy fibrous tissue formation and the recurrence of low back and radicular pain.

Many materials have previously demonstrated to inhibit epidural fibrosis after laminectomy in animal models. As known, several structural analogues of proline have been shown to be incorporated into proteins in place of proline. As a consequence, the proliferation of cells in culture and the extracellular deposition of collagen in animal systems are reduced. The current study was designed to measure the effect of cis-4-hydroxy-L-proline (cis-4-OH-L-proline) on postlaminectomy epidural fibrosis development in a rat model.

L<sub>4</sub> laminectomy was performed on 150-200 gr weightened 27 rats. 6 rats were excluded from statistical analysis for different reasons (3 for macroscopic evaluation, 2 for sliding of hydrogel from the operation level, 1 for exitus). There were no complications after surgery and no neurological deficits were seen. Exposed

dura at L<sub>4</sub> level was covered with following: 1. Control group 2. Hydroxyethylmetacrylate (HEMA) hydrogel 3. cis-4-hydroxy-L-proline+HEMA hydrogel. 3 weeks after surgery, the rats were sacrificed and at L<sub>4</sub> level, the spinal columns were harvested, decalcified and tranverse sections were prepared with hematoxylin-eosin and Masson's trichrome stains for histologic analysis. The tranverse sections were evaluated for epidural fibrosis development by light microscopy and the epidural fibrotic areas were measured with Zeiss Axioskop visual analysis morphometry program in computer.

As compared with control and HEMA hydrogel groups, the significant antifibrotic effect was found in our experimental group in point of nerve root entrapment and sublaminal fibrosis and the results were confirmed the usefulness of cis-4-hydroxy-L-proline hydrogel in predicting the degree of postlaminectomy epidural fibrosis.

**Key words:** Epidural fibrosis, laminectomy, cis-4-hydroxy-L-proline

**Level of Evidence:** Level I

## GİRİŞ:

Başarısız bel cerrahisi sendromunun (BBCS) en önemli nedenlerinden biri olan epidural fibrozisin önlenmesi üzerine bugüne kadar birçok çalışma yapılmıştır ve günümüzde de bu çalışmalar değişik etken maddelerin veya yöntemlerin kullanımıyla halen devam etmektedir. BBCS; bel ve/veya bacak ağrısı nedeniyle bel cerrahisi geçiren bir kişide aynı yakınmaların sürmesi veya tekrarlaması, bir başka deyişle lomber spinal cerrahinin ağrısı ve buna bağlı olarak düşük hayat kalitesini engellemede başarısız kalmasıdır<sup>(3)</sup>. Özellikle ağrının 3 aydan fazla sürmesi, hastaların bu gruba dahil edilmesini gerektirir. Son yıllarda daha sık ve geniş endikasyonlarla bel cerrahisinin yapıyor olması da, BBCS oranını artırmaktadır.

Bu çalışmada; fibrozisi önleyici etkisi olduğu düşünülen *cis*-4-hidroksi-L-prolin (*cis*-4-OH-L-prolin), hidroksietilmetakrilat (HEMA) hidrojel kombine edilerek, yavaş salınımlı bir model elde edilmiş ve *cis*-4-OH-L-prolin'in epidural fibrozisi önlediğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL-METOD:

Bu çalışma; Ankara Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Sıçanların bakımı ve ameliyatları Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarında yapılmıştır. Polimerizasyon işlemleri Hacettepe Üniversitesi Biyoloji ve Kimya Bölümü ortak çalışmasıyla, mikroskopik (histolojik) değerlendirmeler Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı tarafından, istatistiksel değerlendirmeler ise Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Ana Bilim Dalı tarafından yapılmıştır.

### - Polimer Hazırlanması:

Bu çalışmamızda polimer hazırlanırken; 1 ml HEMA (fluka) üzerine 20 mg/ml içeren *cis*-4-OH-L-prolin (Sigma) 1 ml eklendi ve beklemeden

üstlerine 0.2 ml potasyum per sülfat (KPS, 0.05g/1 ml) kondu. Hafifçe çalkalanırken 0.2 ml tetrametiletilediamin (TEMED, 0.1mgr/ml, Sigma) eklendi. Çözelti cam bir deney tüpüne aktarıldı. Hidrojelizasyon için +4 derecede 6 saat tutuldu.

Hidrojelizasyon sonucunda opaklaşan malzeme deney tüpünden çıkarıldı, hassas terazide tartıldı ve 9 eşit bölüme ayrıldı. Bunlar UV sterilizasyonundan sonra (45W/20 dakika) cerrahi sahaya implantasyonda kullanıldı. Yalnızca HEMA hidrojel kullanılan 2. grupta da aynı işlemler yapıldı. Ancak bileşime *cis*-4-OH-L-prolin konulmadı.

### - Deneysel Hayvanları:

Bu çalışmada, Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarından sağlanan, ağırlıkları 150-200 gr arasında değişen Wistar Albino tipi 27 adet sıçan kullanıldı. Sıçanların tümü dişi ve 4 aylıktı. Cerrahi girişim öncesi ve sonrası, sıçan yemi ve suyu ile beslendiler. Biyolojik ritme uygun olarak 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık ortamda barındırıldılar. Sıçanlara cerrahi öncesi ve sonrası antibiyotik profilaksisi yapılmadı.

### - Anestezi:

Ketamin (35mg/kg) ve Xylazine (5mg/kg) kas içine uygulanarak sıçanların anestezisi sağlandı.

### - Cerrahi İşlem:

Denekler 3 gruba ayrıldı:

- 1.Grup: Laminektomi yapılan 9 adet sıçan
- 2.Grup: Laminektomi yapılan ve mesafeye HEMA hidrojel konulmuş 9 adet sıçan
- 3.Grup: Laminektomi yapılan ve mesafeye HEMA hidrojel içinde *cis*-4-OH-L-prolin konulan 9 adet sıçan

Her grup sıçan; 1 gün içinde aseptik şartlarda opere edildi. Sıçanlar prone pozisyonda ve lomber bölgeleri karın bölgesinden rulo haline getirilmiş spançla desteklenmiş olarak ameliyat masasına sabitlendi. Lomber bölgedeki kıllar

temizlendi, saha Batticon (Adeka) solüsyonu ile boyanarak aseptik olarak hazırlandı ve sterilize edilmiş cerrahi örtülerle örtüldü.

Spinöz proçesler üzerinden 5 cm.lik orta hat insizyonu yapıldı, sakrumdan sayılarak L4 vertebra bulundu ve paravertebral kas diseksiyonu ardından tek mesafe laminektomi + flavektomi yapıldı (Şekil 1). Kontrol grubunda fascia ve kas tabakası 3/0 yuvarlak iğneli vicryl ile tek tek kapatıldı. Laminektomi yapılmış mesafe, fascia üzerinde 3/0 ipekle işaretlendi. Cilt 3/0 keskin iğneli ipekle kapatıldı ve sonrasında Batticon (Adeka) solüsyonu ile pansuman yapıldı. 2. grupta HEMA hidrojel, 3.grupta da *cis*-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel sıçanlarda yapılan L4 total laminektomi+flavektomi sonrası epidural bölgeye konularak diğer cerrahi süreç aynen tekrarlandı. Her grup sıçan ameliyat sonrası ayrı kafes içine alınarak takip edildi.

Gruplar 21 gün izlendi. Tüm sıçanlar ameliyat sonrası 21.günde sakrifiye edildi. Daha sonra sıçanlar prone pozisyonda ameliyat masasına sabitlendi ve eski ameliyat skarı üzerinden girilerek fasiaya ulaşıldı. İşaretli laminektomi yapılmış sahanın 1 cm alt ve üstünden spinal kolon kesildi ve vertebral kolon, paravertebral kaslar ve fasiayı içerecek şekilde bir bütün halinde çıkarıldı. Çıkarılan materyal serum fizyolojikle yıkandı ve %10'luk 0.1 M fosfat tamponlu formaldehit solüsyonuna alındı. Çalışmada her gruptan 9, toplam 27 adet sıçan kullanıldı. Her gruptan 1 adet sıçan makroskopik değerlendirmeye alındığından, HEMA hidrojel ile *cis*-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel grubunda bulunan 1'er adet sıçanda epidural sahaya konulan materyal kaydığından ve kontrol grubunda da 1 adet sıçan öldüğünden; istatistiksel değerlendirmeye her gruptan 7, toplam 21 adet sıçan alındı.

#### **- Histopatolojik Değerlendirmeye Hazırlık:**

Alınan örnekler %10'luk 0.1 M fosfat tamponlu formaldehit solüsyonunda 1 hafta tespit edildi. Bunu takiben De Castro solüsyonuyla dekalsifikasyon yapıldı. Dekalsifikasyon işlemini takiben dereceli alkollerden (%75, %96, %100lük) geçirilerek dehidrate edildi. Ksilolde yapılan şeffaflandırma işleminden sonra parafin emdirildi ve parafine gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan Leica RM2125RT mikrotomla (Leica, Solms, Germany) 5-6 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Alınan kesitler hematoksilin-eozin (HE) ve Masson'un trikrom boyasıyla boyandı.

#### **- Histopatolojik Değerlendirme Protokolu:**

Kesitler ışık mikroskobu ve Zeiss Axioskop Görüntü Analizi Sistemi, KS 400 morfometri programıyla histopatolojik kriterlere göre değerlendirildi. Zeiss Axioskop (Carl Zeiss, D-7082, Oberkochen, Germany) fotomikroskobuyla fotoğraflandı.

Değerlendirmede kullanılacak histopatolojik kriterler; epidural fibrozis alanı<sup>(25)</sup>, fibrozisin adezyon derecesi<sup>(22)</sup>, iltihabi hücre infiltrasyonu, yabancı cisim reaksiyonu ve yeni kemik oluşumu olarak belirlendi.

#### **- Epidural fibrozis alanı:**

Her sıçan için belirli aralıklarla 9 kesit seçildi. Bu kesitlerde fibrozis alanı görüntü analiz sistemiyle ölçülerek ortalaması alındı ve mm<sup>2</sup> deki değer olarak belirlendi. HEMA hidrojel grubu ile *cis*-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel grubunda hidrojin çevresinde gelişen fibrozis alan ölçümleri istatistiksel olarak değerlendirildi<sup>(56)</sup>. Kontrol grubuna ait fibrozis alan ölçümleri de hesaplandı. Ancak hidrojin kontrol grubunda kullanılmaması nedeniyle; bu grup, hidrojel kullanılan diğer 2 grupta epidural fibrozis alanı yönünden istatistiksel olarak karşılaştırılmadı.

**- Fibrozisin adezyon derecesi:**

Seri kesitler incelenerek aşağıda yer alan sınıflandırmaya göre değerlendirildi<sup>(56)</sup>.

Evre 0: Dura materi etkileyen fibrozis yok.

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

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

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

**SONUÇLAR:**

**MAKROSKOPİK DEĞERLENDİRME:**

Her üç gruptaki sıçanlardan biri; sakrifiye edildikten sonra önceki ameliyat sahası açıldı ve ciltaltı, fascia, kas dokusu ve dura mater makroskopik olarak değerlendirildi. Grupların hiç birinde enfeksiyon görüntüsü ile karşılaşılmaı.

**- Kontrol grubu:**

Bu gruptan seçilen bir sıçanda; eski insizyon skarı üzerinden yapılan cilt insizyonu sonrası, fascia açıldı. Fasiyanın kas dokusuna ileri derecede yapışık olduğu ve yoğun fibrozis alanının olduğu görüldü (Şekil-1). Laminektomi alanına kadar güçlükle diseksiyon yapıldı. Fascia, çevre kas dokusu ve dura mater arasında çok yoğun yapışıklıklar gözlemlendi. Laminektomi sahasına ulaşılmaya çalışılırken dura mater açıldı ve rootletler ile karşılaşıldı (Şekil-2).

**- HEMA hidrojel grubu:**

Bu gruptan seçilen bir sıçanda, eski insizyon hattı boyunca cilt ve ciltaltı geçildikten sonra fascia açıldı. Fasiyanın kas dokusuna yapışık

olduğu ve fibrozis alanının olduğu gözlemlendi. Ancak laminektomi alanına kadar diseksiyon kontrol grubuna göre kısmen daha rahat yapıldı. Hidrojelle çevre kas dokusu ve dura mater arasında yapışıklıklarla karşılaşıldı (Şekil-3). Buna rağmen dura materde hasarlanma yaratmadan HEMA hidrojel çıkarıldı ve dura mater üzerinde fibröz yapışıklıklar gözlemlendi (Şekil-4).

**- cis-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel grubu :**

Deney grubu olan bu grupta da bir sıçanda; eski insizyon hattı boyunca cilt ve ciltaltı geçildikten sonra fascia açıldı. Fasiyanın kas dokusuna yapışık olmadığı ve fibrozis alanının oluşmadığı görüldü. Ayrıca laminektomi alanına kadar diseksiyon; kontrol ve HEMA hidrojel grubuna göre çok daha rahat yapıldı. Hidrojelin çevre kas dokusuyla hiç yapışıklığının olmadığı ve rahatlıkla ayrılabilir olduğu gözlemlendi (Şekil-5). Hidrojelle dura mater arasında da hiç yapışıklık ile karşılaşılmaı. Dura materde hasarlanma yaratmadan cis-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel çıkarıldı (Şekil-6).

**MİKROSKOPİK DEĞERLENDİRME**

**- Kontrol grubu:**

Kontrol grubuna ait bütün örneklerde (7 adet) laminektomi alanının yoğun fibrozis ile doldurulduğu gözlemlendi. Fibrozis alanı ölçüm sonuçları Tablo-1'de verildi. Fibröz doku sublaminar alana, sinir köklerine ve paravertebral kas dokusuna doğru da uzanıyordu (Şekil-7). Örneklerden 2 tanesinde laminektomi alanında fibrozisin yanı sıra yağ dokusu da gözlemlendi (Şekil-8).

Örneklerin tamamında fibröz doku dura matere yapışık ve medulla spinalisin yer yer

fibrozis alanına çekildiği gözlemlendi. Dura mater komşuluğunda bol kapiller vardı (Şekil-9). Fibrozisin adezyon derecesi dağılımı Tablo-2'de verildi. Örneklerin hiçbirinde iltihabi hücre infiltrasyonu gözlenmedi. Örneklerin 3 tanesinde az miktarda kemik rejenerasyonu vardı. Yeni oluşan kemik trabekülleri ve aktif osteoblastlar izlendi. Ancak hiçbir örnekte bu kemik rejenerasyonu laminektomi alanını dolduracak düzeyde değildi (Şekil-8).

#### - HEMA hidrojel grubu:

Bu gruba ait örneklerde (7 adet) HEMA hidrojelini konulduğu alan değerlendirildi. Örneklerin kesitlerinde hidrojel mekanik bir bariyer oluşturuyordu ve çevresinde bir miktar fibrozis gözlemlendi. Laminektomi alanında

hidrojelin çevresinde gözlenen fibröz doku; hem dura matere komşu alana hem de paravertebral kaslar arasına doğru uzanıyordu (Şekil-10). Hidrojelin çevresindeki fibröz doku *cis-4-OH-L-prolin+HEMA* hidrojel grubundan belirgin olarak daha genişti (Şekil-11) (Tablo-1).

Örneklerden 2 tanesinde dura mater ile fibröz doku arasında ince fibröz bant, 3 tanesinde de laminektomi defektinin 2/3 ünden az alanda devamlı adezyon varken 2'sinde fibröz doku sinir köklerine kadar ulaşıyordu (Şekil-12) (Tablo-2). Örneklerin hiçbirinde iltihabi hücre infiltrasyonu ya da yabancı cisim reaksiyonu gözlenmedi. Yeni kemik oluşumu da hiçbirinde yoktu.

**Tablo - 1.** Görüntü Analiz Programıyla Ölçülen Fibrozis Alanının Gruplara Göre Dağılımı (mm<sup>2</sup>)

	1.Sıçan	2.Sıçan	3.Sıçan	4.Sıçan	5.Sıçan	6.Sıçan	7.Sıçan
KONTROL GRUBU	2.864	3.385	2.958	3.047	3.249	3.012	3.167
HEMA HİDROJEL GRUBU	2.782	3.066	3.260	3.088	2.846	3.138	3.290
<i>cis-4-OH-L-prolin</i> + HEMA HİDROJEL GRUBU	0.281	0.442	0.392	0.460	0.388	0.294	0.384

**Tablo - 2.** Fibrozisin Adezyon Derecesinin Gruplara Göre Dağılımı

	EVRE 0	EVRE 1	EVRE 2	EVRE 3	TOPLAM
KONTROL GRUBU				7	7
HEMA HİDROJEL GRUBU		2	3	2	7
<i>cis-4-OH-L-PROLIN</i> + HEMA HİDROJEL GRUBU	3	4			7

**- cis-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel grubu:**

Bu grubun örneklerinin (7 adet) kesitlerinde hidrojel mekanik bir bariyer oluşturuyordu. Hidrojelin çevresinde çok ince fibröz doku gelişmişti (Şekil-13). Gelişen fibröz doku, kontrol ve HEMA hidrojel grubundan belirgin olarak daha azdı (Tablo-1). Örneklerden 3 tanesinde dura mater, fibröz dokudan tamamen bağımsızdı (Şekil-14). Örneklerin 4'ünde ise dura materle hidrojinin çevresindeki çok ince fibröz doku arasında fibröz bantlar vardı. Bunların 2'sinde dura mater komşuluğunda uzanan epidural ven izlendi (Şekil-15). Örneklerde geniş adezyon alanı ya da sinir köklerine uzanan fibrozis gözlenmedi (Tablo-2). Örneklerin hiçbirinde iltihabi hücre infiltrasyonu, yabancı cisim reaksiyonu ya da yeni kemik oluşumu görülmedi.

**İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME:**

Çalışmada her gruptan 9, toplam 27 adet sıçan kullanıldı. Her gruptan 1 adet sıçan makroskopik değerlendirmeye alındığından, HEMA hidrojel ile cis-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel grubunda bulunan birer adet sıçanda epidural sahaya konulan materyal kaydığından ve kontrol grubunda da 1 adet sıçan öldüğünden, istatistiksel değerlendirmeye her gruptan 7, toplam 21 adet sıçan alındı.

Kontrol grubunda epidural alana hidrojel konulmadığı ve yer kaplayan bir alan oluşturmadığından, bu gruba ait yüzey alan ölçümleri Tablo 1'de verilmiş olmasına rağmen; kontrol grubu, hidrojinin epidural alanda yer kapladığı diğer gruplarla (HEMA hidrojel ve cis-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel) epidural fibrozis alanı yönünden istatistiksel olarak karşılaştırılmadı.

HEMA hidrojel ve cis-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel grupları fibrozis alanları (Tablo-1) yönünden student's t testi ile karşılaştırıldı.  $p < 0.001$ 'den olduğundan; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Grafik-

1'de görüldüğü gibi yalnızca HEMA hidrojel kullanılan grupta görüntü analiz programı ile ölçülen fibrozis alanı, cis-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel grubuna göre anlamlı derecede fazla idi.

Fibrozis adezyon derecesi yönünden üç grup birbirleriyle Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı (Tablo-2). Kontrol grubu ile HEMA hidrojel grubu karşılaştırıldığında  $p < 0.05$ , kontrol grubu ile cis-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel grubu karşılaştırıldığında  $p < 0.001$ , HEMA hidrojel grubu ile cis-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel karşılaştırıldığında ise  $p < 0.01$  olarak bulundu. Bunun sonucunda bütün gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık olduğu saptandı. Ancak en anlamlı farklılığın kontrol grubu ile cis-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel grubu arasında olduğu gözlemlendi.

**TARTIŞMA:**

Lomber disk hastalığı, beyin ve sinir cerrahisinde çok sık karşılaşılan ve dikkatli vaka seçildiğinde çok başarılı sonuçların alındığı bir hastalık grubudur. Cerrahi sonuçların çok başarılı olduğu bu grupta; % 15 oranında, BBCS olarak adlandırılan ve ameliyat sonrasında dinmeyen bel ağrısı ve radiküler bulgularla karakterize bir tablo ortaya çıkmaktadır<sup>(6)</sup>. Spinal cerrahide, operasyon sonrası oluşan epidural fibrozis, hastaların semptomlarının tekrar ortaya çıkmasında en önemli nedenlerden biridir.

Epidural fibroziste, dura mater çevresindeki yağ dokusunun yerini fibrotik doku almaktadır. Ameliyat dışında epidural bölgeye enjeksiyon, kateter uygulaması, epidural eksplorasyon gibi girişimler ile bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlar da fibrozis ve yapışıklıklara neden olabilmektedir<sup>(57)</sup>. Ayrıca eldiven pudrası, spanç ve pedillerden kopan pamuk fibriller de enflamasyon artışına yol açarak epidural fibrozis oluşumunu artırmaktadır<sup>(21)</sup>.

Laminektomi sonrası gelişen kifoz ve fibrinolitik aktivitenin az olması, fibrozis oluşumunu etkileyen diğer faktörlerdir <sup>(13,21)</sup>. Sınırlı cerrahi girişim, kanama kontrolünün iyi yapılması, küçük insizyon ve diseksiyonun az olmasının, epidural fibrozis oluşumunu engellediği belirtilmektedir <sup>(13,21)</sup>. Ayrıca obezite, aşırı sigara tüketimi <sup>(16)</sup>, serumda yüksek trigliserid ve gamma glutamin transpeptidaz (GGT) düzeyinin, azalmış fibrinolitik aktivite ile birlikte olabileceği ve bunun da epidural fibrozis oluşumuna yol açabileceği belirtilmiştir <sup>(24,31)</sup>.

Epidural fibrozisin % 4-25 oranında klinik yakınmalara yol açtığı bildirilmiştir <sup>(8)</sup>. Oluşan skar dokusunun ağrının etyolojisindeki yerinin ne olduğu tam bilinmemektedir. Ancak dokular arası yapışıklıklara neden olduğu, yoğun fibrotik dokunun çevre anatomik yapılara bası yaptığı ve skar dokusunun altında nöronal atrofi <sup>(32)</sup> ve aksonal dejenerasyon oluşturduğu <sup>(69)</sup> rapor edilmiştir. Epidural fibrozisin ameliyat sonrası radiküler yakınmalara veya bel ağrısına yol açtığı gösterilebilmiş değildir <sup>(61)</sup>. Ancak dura ve sinir köklerinin, hem anterior hem de posterior olarak çevre yapılara yapışmasının dinmeyen ağrılara yol açtığı kabul edilmektedir <sup>(55,60)</sup>.

Günümüze kadar bir çok araştırmacı; laminektomi sonrası oluşan skarın önlenmesi amacıyla bir çok madde kullanmışlardır. Bu güne kadar kullanılan maddeler ve yöntemler; yağ grefti <sup>(1,35,44,67,70)</sup>, depo steroid <sup>(44)</sup>, silastik membran ve politetrafloroetilen bariyer <sup>(14)</sup>, polivinil alkol hidrojen membran <sup>(28)</sup>, polilaktik asit membran <sup>(41)</sup>, silastik <sup>(8,19)</sup>, vikril meş <sup>(45)</sup>, visköz solüsyon olarak sodyum hiyaluronat <sup>(61)</sup>, metil metakrilat <sup>(39)</sup>, fibrinolitik ajan olarak jel rekombinant doku plazminojen aktivatörü <sup>(26)</sup>, jelatin <sup>(37)</sup>, aprotinin <sup>(29)</sup>, dekstran 70 <sup>(11)</sup>, gore-teks <sup>(62)</sup>, ürokinaz <sup>(59)</sup>, hemostatik ajan olarak Gelfoam, mikrofibriler kollajen <sup>(30)</sup>, metilprednizolon,

prednizolon <sup>(30)</sup>, ketoprofenin <sup>(25)</sup>, deksametazon <sup>(19,27)</sup>, fibrin yapıştırıcı <sup>(66)</sup>, CO<sub>2</sub> laser <sup>(12)</sup>, mitomisin-C (315) dir. Ancak bunlardan çok azı klinik kullanım alanı bulmuştur. Son yıllarda epidural fibrozisi önlemek için en sık kullanılan madde ADCON-L dir. ADCON-L'nin epidural fibrozisi belirgin azalttığı <sup>(2,47,53)</sup> ve bu etkinin klinik ile doğrulandığı gösterilmiştir <sup>(48)</sup>.

1950'lerde epidural fibrozis oluşumunu engellemek için yapılan ilk çalışmaların ardından; bu konuda bir çok deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır, ancak bu materyaller arasında en çok kullanılan otojen yağ greftidir. Otojen yağ greftinin epidural fibrozisi engellediği bildirilmekle beraber <sup>(35,45)</sup>, aksine başarısız olduğunu da <sup>(65,42)</sup> bildiren yayınlar vardır. Ayrıca yağ greftinin sinir kökü kompresyonu <sup>(9)</sup> ve "Kauda Ekuina Sendromu"na neden olduğu da bildirilmiştir <sup>(10)</sup>. Yağ greftinin, yararlı olmadığını bildiren çalışmalarda, laminektomi ve/veya diskektomi sonrası epidural mesafeye bırakılan yağın üzerini önce hematoma kapladığı ve daha sonra hematoma rezorpsiyonu sonucunda yerini granülasyon dokusuna bıraktığı bildirilmiştir <sup>(42,61)</sup>. Songer ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda, canlı yağ greftinin; sinir kökünün kritik bölgesi olan anterior ve anterolateral bölgede fibrozis oluşumunu engellemediği gösterilmiştir <sup>(60,61)</sup>.

Epidural fibrozisi önleme amacıyla kullanılacak materyalin, laminektomi bölgesinde medulla spinalis ve sinir köklerine bası oluşturmaması, vertebral kaslar ile medulla spinalis arasında bir bariyer oluşturması, enfeksiyon riski taşımaması ve vücuda biyolojik uyum göstermesi gerekir <sup>(37,40,66)</sup>. Bir çalışmada; biyolojik olmayan materyallerin (Gelfoam, mikropor teyp, silastik membran gibi) etkili olmadığı, biyolojik materyallerin (serbest yağ greftleri, pediküllü yağ greftleri, ligamentum flavum gibi) ise fibrozisi önlemede etkin olduğu belirtilmiştir <sup>(41)</sup>.



ADCON-L ile yapılan bir çok çalışma mevcuttur. Bunlardan bir tanesinde; Palatinsky ve arkadaşları tavşanlarda laminektomi uygulamışlar ve operasyon sahasına ADCON-L koymuşlardır. 2, 6 ve 13 hafta sonra tavşanları sakrifiye ederek fibröz dokuyu değerlendirmişlerdir. Deri ve fascia tabakalarının iyileşmesinin iyi olduğunu, laminektomi alanında minimal bir fibröz doku oluştuğunu ve dura materin rahatça ulaşılabilir bir durumda olduğunu, bu nedenle ADCON-L'nin sadece BBCS'nun oluşumunu engellemesi yanında daha sonra gerekebilecek operasyonu da kolaylaştıracağını bildirmişlerdir <sup>(95)</sup>. Frederickson, Ahmad ve arkadaşları da ADCON-L'nin absorpsiyon süresinin 4 hafta olduğunu bildirmişlerdir <sup>(2)</sup>.

Robertson ve arkadaşları; köpeklerdeki çalışmalarında ADCON-L'nin epidural fibrozisi kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalttığını yayınlamışlardır <sup>(53)</sup>.

Schwicker ve arkadaşları, ADCON-L kullanımı ile direk sağlık harcamalarında ve üretim kayıplarında belirgin azalmalar olduğunu, cerrahi sonuçların kalitesinin arttığını göstermişlerdir <sup>(58)</sup>. Geisler, ADCON-L kullanılan çok merkezli bir çalışmada (Avrupa'da 298, A.B.D'de 223 hasta) hastaların radyolojik ve klinik sonuçlarının belirgin derecede iyi olduğunu bildirmiştir <sup>(21)</sup>.

Epidural fibrozis oluşumundaki temel madde kollajendir. Barbera ve arkadaşlarının köpeklerde yaptıkları çalışmada, laminektomi defektini dolduran temel komponentin kollajen olduğu ve bunun da dorsal spinal kaslardan kaynaklandığı belirtilmiştir <sup>(4)</sup>. Kollajen sentezi, insizyon sonrası fibroblastlar tarafından oluşturulmakta ve bu aktivite operasyondan sonraki 3-4.günlerde başlamaktadır. Nussbaum ve arkadaşları da; çalışmalarında

epidural bölgede oluşan fibröz dokunun yoğunluğu ile bu dokudaki kollajen miktarı arasında paralellik olduğunu belirtmişlerdir <sup>(34)</sup>.

Deneyisel histolojik incelemelerde, lomber laminektomi ve/veya diskektomi sonrasında ilk 2 gün içinde geniş bir hematoma ortaya çıktığı, 2.haftada fibrozisin başladığı ve 4.haftada belirginleştiği gösterilmiştir <sup>(14,61)</sup>. Robertson ve arkadaşlarının tavşanlarda laminektomi yaptıkları çalışmalarında, 2.haftada oluşan fibröz dokunun 4.hafta sonunda daha fazlaştığı gözlenmiştir <sup>(54)</sup>. Fibröz doku rezolusyonun ise ilk 3 ayda büyük ölçüde tamamlandığı gösterilmiştir <sup>(60,61)</sup>.

Bu çalışmamızda, daha önce sıçanlarda iyatrojenik oluşturulmuş pulmoner fibrozisi önlemede kullanılan ve bir protein analogu olan *cis*-4-OH-L-prolin'i, yine sıçanlarda yapılan laminektomi sonrası gelişen epidural fibrozisi önleme amacıyla kullandık.

Kollajenler, fibrillerin oluşumunu sağlayan bağ dokusu proteinleri arasında önemli yere sahiptir <sup>(7,18)</sup>. Kollajen, diğer proteinlerle karşılaştırıldığında prolinden oldukça zengindir. Kollajen birikimi, çeşitli fibrotik hastalıklardaki temel patolojik faktördür. Kollajenin yoğun birikimi, pulmoner fibrozis, siroz, sistemik skleroz, morfea, ailesel kutanöz kollajenoma, hipertrofik skar, keloid oluşumu gibi bir çok hastalıkta karşımıza çıkmaktadır <sup>(64,65)</sup>.

Fibrogenesis konusunda yeterli bilgiye sahip olunmaması; fibrozisi önleme amacıyla yapılan tedavi edici tüm girişimlerin yetersiz kalmasına neden olmaktadır <sup>(20,38,49)</sup>. Kollajen sentezinin çeşitli basamaklarını inhibe etmek amacıyla C-proteinaz, lizil oksidaz ve proliil 4-hidroksilaz inhibitörleri invitro olarak kullanılmış <sup>(52)</sup> ve başarılı bulunmuştur ancak aynı enzim inhibitörlerinin in vivo çalışmaları henüz geniş ölçüde yapılmamıştır.

Prolin analogları da, fibrozis önleyici ajan olarak *in vivo* kullanılmaktadır (56,68). Prolin analogları arasında *cis*-4-OH-L-prolin, L-azetidin-2-karboksilik asit, 3,4-dehidroprolin, *cis*-4 bromo-L-prolin, *cis*-4-floro-L-prolin örnek olarak sayılabilir. Bunlar prokollajen zincirleri içinde prolin yerine girerek; stabil üçlü heliks yapının ortaya çıkışını bozmakta<sup>(46)</sup> ve sonuçta defektif kollajen molekülünü oluşturmaktadırlar<sup>(19)</sup>.

İlk başlarda prolin analoglarının kollajen için spesifik olduğu düşünülse de, daha sonra bunların nonkollajen proteinlerle de etkileşimde olduğu bildirilmiştir<sup>(68)</sup>. Bu bulgular, prolin analoglarının protein metabolizmasına da etki ederek toksik etkiler yaratabileceğini göstermiştir. Bu sistemik etkilerin önlenmesi amacıyla prolin analoglarının, yavaş salınımlı modeller ile yerel kullanımının uygun olacağı düşünülmüştür.

Prolin analoglarının tedavi amacıyla kullanımını engelleyen bir diğer faktör de, düşük molekül ağırlıkları nedeniyle kullanıldıkları bölgeden hızla difüzyona uğramalarıdır<sup>(23)</sup>. Bu da, *cis*-4-OH-L-prolin'in yerel olarak yüksek konsantrasyonlarda kullanımı için yavaş salınımlı modellerin tercih edilmesini destekleyen bir diğer faktördür. Yavaş salınımlı modellerle, lokal kullanılan ilaçların yüksek konsantrasyonlarda operasyon alanında bulunmaları sağlanabilmektedir.

Greco ve arkadaşları, sıçanlarda yaptıkları çalışmada iyatrojenik olarak bleomisinle pulmoner fibrozis oluşturmuşlar ve daha sonra *cis* ve *trans*-4-OH-L-prolin'i hidrojelizasyon işlemi sonrası intratrakeal olarak kullanmışlardır. Burada *trans*-4-OH-L-prolin biyoaktif moleküldür ve kontrol grubunda kullanılmıştır. Çalışma sonunda *cis*-4-OH-L-prolin+polietilenglikol-lizin (PEG lizin) hidrojel bileşiğinin akciğer fibrozisinde oldukça potent

ve uzun etkili bir antifibrotik ajan olduğu gösterilmiştir<sup>(23)</sup>.

Daha önce yapılan çalışmalarda, *cis*-4-OH-L-prolin'in hücre kültürü ortamında tavuk embriyo fibroblastlarını inhibe ettiği de gösterilmiştir<sup>(33)</sup>. Aktif progresif sklerodermalı hastaların derilerinden elde edilen fibroblast kültürlerine, bir prolin analogu olan azetidin karboksilik asit konulduğunda; prokollajenin üçlü heliks yapısının bozulduğu gösterilmiştir<sup>(63)</sup>.

Poiani ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada; *cis*-4-OH-L-prolin'in *in vitro* ve *in vivo* ortamda antifibrotik etkinliğini araştırmışlardır. Bu amaçla *cis*-4-OH-L-prolin+PEG-lizin bileşiği oluşturulmuştur. Bu grupta da kontrol grubunda inaktif *trans*-4-OH-L-prolin kullanılmıştır. *In vivo* ortamda, sıçanların toraksının dorsal kısmına subkutanöz steril *cis*-4-OH-L-prolin+PEG-lizin emdirilmiş spançlar yerleştirilmiş ve 14.gün sonunda spançlarda kollajen birikiminin %33 oranında azaldığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada *in vitro* olarak sıçan düz kas hücreleri ve akciğer fibroblast hücre kültürlerinde yine *cis*-4-OH-L-prolin+PEG-lizin bileşiği kullanılmış ve bu bileşimin serbest *cis*-4-OH-L-prolinden 100 kat daha fazla güçte fibrozis önleyici etkisinin olduğu bildirilmiştir<sup>(51)</sup>. Yine Poiani ve arkadaşlarının bir başka çalışması; *cis*-4-OH-L-prolin'in daha önceki çalışmalarda pulmoner hipertansiyon oluşmadan önce kullanımının, pulmoner hipertansiyon oluşumunu engellediği sonucuna ek olarak; pulmoner hipertansiyon oluşuktan sonra kullanımının da bu süreci belirgin derecede engellediğini göstermiştir<sup>(50)</sup>.

Kerr ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada; sıçanlarda hipoksi oluşturmuşlar, 3 hafta sonra sıçanlarda sağ ventrikül basıncını ve pulmoner arterde kollajen birikimini ölçmüşlerdir.

Hipoksik grupta *cis*-4-OH-L-prolin'in belirgin derecede arteriol damar duvarında kalınlaşmayı azalttığını; sağ ventrikül basıncını ise kısmen düşürdüğünü belirtmişlerdir <sup>(36)</sup>.

Bu çalışmada kullanılan ve bir prolin analogu olan *cis*-4-OH-L-prolin, daha önceki çalışmalarda pulmoner fibroziste sistemik ve intratrakeal yolla kullanılmış, fibrotik doku gelişiminde ve pulmoner hipertansiyonda anlamlı gerileme elde edilmiştir <sup>(23,36)</sup>. Ayrıca aynı etken maddenin hücre kültürü çalışmalarında da antifibrotik etkisi kanıtlanmıştır <sup>(50)</sup>. Biz de çalışmamızda *cis*-4-OH-L-prolin'in epidural fibrozisi önlemedeki etkinliğini sıçanda oluşturduğumuz laminektomi modelinde araştırdık.

Çalışmamızda sıçanlar kontrol, HEMA hidrojel ve *cis*-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Fibroz dokunun ana yapısı ikinci haftanın sonunda olduğundan ve bundan sonraki süreç damarsal yapılara bası yapan kollajenin birikimi ile yaranın direncinde artışın görüldüğü uzun süren bir dönemi kapsadığından; çalışmanın süresi 21 gün olarak planlandı. Daha önce yapılan çalışmalarda histolojik incelemelerde de, lomber laminektomi ve/veya diskektomi sonrasında ilk 2 gün içinde geniş bir hematoma ortaya çıktığı, 2.haftada fibrozisin başladığı ve 4.haftada belirginleştiği gösterilmiştir <sup>(14,54,61)</sup>.

Çalışmamızda kontrol grubunda; epidural fibrozisin sublaminal alana ve sinir köklerine doğru uzandığı gözleniyordu. Örneklerin tamamında fibröz doku dura matere yapıştı ve medulla spinalisin yer yer fibrozis alanına çekildiği gözlemlendi. Bu grupta yer alan 7 sıçanın hepsinin epidural fibrozis adezyon derecesinin histolojik değerlendirmesi Evre 3 olarak saptandı. Kontrol grubunda 1 sıçanda yapılan makroskopik diseksiyonda da fasiyanın kas dokusuna ileri derecede yapışık olduğu ve

yoğun fibrozis alanının olduğu görüldü. Laminektomi alanına kadar güçle diseksiyon yapıldı. Fasia, çevre kas dokusu ve dura mater arasında çok yoğun yapışıklıklar gözlemlendi. Laminektomi sahasına ulaşmaya çalışılırken dura mater açıldı ve rootletler ile karşılaşıldı. Kontrol grubunda yaşadığımız bu sorun, herhangi bir endikasyonla spinal cerrahi yapılmış hasta grubunda; yeniden aynı bölgeye cerrahi yapılması gerektiğinde tüm nöroşirurjiyenlerin karşılaştığı bir sorundu. Epidural fibrozisteki semptomların nüksünün ana nedeni, oluşan fibröz dokunun medulla spinalis ve sinir kökü dura materine ulaşarak bası oluşturmasıdır. Bu amaçla yapılan çalışmalarda temel prensip; bariyer oluşturmak yoluyla fibröz dokunun dura matere ulaşmasını engellemektir <sup>(4,29,39,43)</sup>.

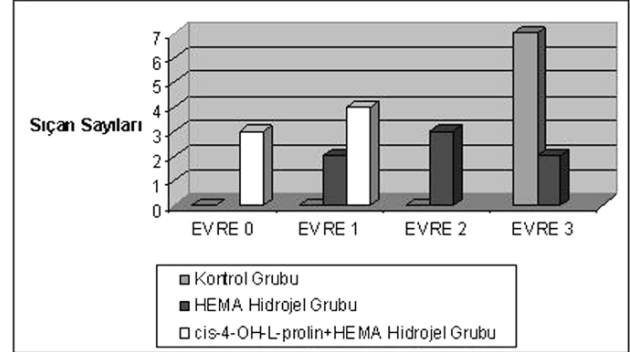
Paravertebral kaslardan dura matere uzanan fibröz dokunun engellenebilmesi amacıyla bariyer etkisi olabilecek maddelerin kullanımı geçmiş yıllarda da gündeme gelmiştir. Bu amaçla yapılan çalışmaların birinde; Barbera ve arkadaşları köpeklerde, akrilik plastik ve kemik greftinin fibröz dokunun spinal kanal içerisine ilerlemesini ve dura ile kaslar arasındaki yapışıklığı engellediğini görmüşler ve laminektomi membranının oluşmasının engellenebilmesi için solid bir bariyerin gerekli olduğu sonucuna varmışlardır <sup>(4)</sup>.

Çalışmamızın ikinci ve deney grubu olan üçüncü grubunda taşıyıcı hidrojel olarak kullanılan HEMA; kolay şekil verilebilen, ucuz, fibrotik reaksiyon yaratmayan, kolay sterilize edilebilen ve biyolojik uyumluluğa sahip özelliktedir. İkinci grupta yer alan 7 sıçanın epidural fibrozis adezyon derecesinin histolojik değerlendirmesinde; 2 tanesinin Evre 1, 3 tanesinin Evre 2 ve 2 tanesinin de Evre 3 olduğu saptandı. Makroskopik incelemede ise; epidural

fibrozisin olduğu ancak laminektomi alanına kadar diseksiyonun kontrol grubuna göre kısmen daha rahat yapıldığı gözlemlendi. Hidrojelle çevre kas dokusu ve dura mater arasında yapışıklıklarla karşılaşıldı. Buna rağmen dura materde hasarlanma yaratmadan HEMA hidrojel çıkarıldı ve dura materin sağlam olduğu gözlemlendi. Bu grupta kontrol grubuna göre histolojik evrelemede istatistiksel anlamlı farkın bulunmasının ve makroskopik inceleme amacıyla yapılan diseksiyonda kısmen daha az fibrozis ile karşılaşılmasının, HEMA hidrojel bariyer oluşturan özelliğinden kaynaklandığı düşünüldü.

Üçüncü grup olan *cis*-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel grubundaki sonuçları, kontrol ve HEMA hidrojel gruplarıyla hem epidural fibrozis adezyon derecesi, hem de epidural fibrozis alan ölçümü yönünden istatistiksel olarak karşılaştırdığımızda anlamlı derecede farklı bulduk. Bu grupta yer alan 7 sıçanın epidural fibrozis adezyon derecesinin histolojik değerlendirmesinde; 3 tanesinin Evre 0, 4 tanesinin Evre 1 olduğu saptandı. Makroskopik değerlendirmede ise fibrozis alanının oluşmadığı görüldü. Ayrıca laminektomi alanına kadar diseksiyon; kontrol ve HEMA hidrojel grubuna göre çok daha rahat yapıldı. Hidrojelin çevre kas dokusuyla hiç yapışıklığının olmadığı ve rahatlıkla ayrılabilir olduğu gözlemlendi. Hidrojelle dura mater arasında da hiç yapışıklık ile karşılaşılmadı. Diseksiyon sırasında dura matere hasar oluşturmadan ulaşılabildi. Tablo-2 ve 3'de de görüldüğü üzere deney grubumuzda epidural fibröz dokunun anlamlı derecede az olmasının nedeninin, *cis*-4-OH-L-prolin'in antifibrotik özelliği olduğu sonucuna vardık.

**Tablo - 3.** Fibrozisin Adezyon Derecesinin Gruplara Göre Dağılımı



## SONUÇ

Başarısız bel cerrahisinin en önemli nedenlerinden biri olan epidural fibrozisin önlenmesi üzerine günümüzde de çalışmalar değişik etken maddelerin veya yöntemlerin kullanımıyla halen devam etmektedir. Literatürde *cis*-4-OH-L-prolin'in epidural fibrozis için kullanımını gösteren bir çalışma henüz yoktur. Bu çalışmada *cis*-4-OH-L-prolin'in istatistiksel olarak anlamlı derecede epidural fibrozisi engellediğini ve gelecekte BBCS'nun önemli nedenlerden biri olan epidural fibrozisin önlenmesi amacıyla yeni bir etken madde olarak kullanılabileceğini gösterdik. Ancak klinik kullanımı için kuşkusuz ek çalışmalara gereksinim vardır.

## KAYNAKLAR

1. Abitbol JJ. Point of view. *Spine* 1995, 20 (5): 579-580.
2. Ahmad S, Wujek JR, Harel A, Maier KH, Roufa D, Silver J. A carbohydrate polymer that effectively prevents epidural fibrosis at laminectomy sites in rat. *Exp Neurol* 1991; 114 (2): 237-245.
3. Anderson SR. A rationale for the treatment algorithm of failed back surgery syndrome. *Curr Rev Pain* 2000; 4 (5): 395-406 .
4. Barbera J, Gonzales J, Esquerdo J, Broseta J, Barcai-Salorio JL. Prophylaxis of the laminectomy membrane: An experimental study in dogs. *J Neurosurg* 1978; 49: 419-424.
5. Berg RA, Schwartz ML, Cyrstal RG. Regulation of the production of secretory proteins: Intracellular degradation of newly synthesized "defective" collagen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 451-453.
6. Berker E. Başarısız bel cerrahisi sendromu. Özcan E, Ayşegül Ketenci (Ed.). *Bel Ağrısı Tanı ve Tedavi*. Nobel Kitabevi, İstanbul, 2002; pp: 51-56.
7. Bornstein P, Sage H. Structurally distinct collagen types. *Annu Rev Biochem* 1980; 49: 957-1003.
8. Burton CV, Kirkaldy-Willis WH, Yong-Hing K, Heithoff KB. Causes of failure of surgery on the lumbar spine. *Clin Orthop* 1981; 157: 191-199.
9. Cabezudo JM, Lopez A, Bacci F. Symptomatic root compression by a free fat transplant after hemilaminectomy: A Case report. *J Neurosurg* 1985; 63: 633-635.
10. Ceviz A, Kemaloğlu MS, Özkan Ü, Timuçin M, Turhan Ş. Flavektomi alanının doku yapıştırıcısı kullanılarak yağlı yüzeyel fasias ile kapatılması. *Türk Nöroşirurji Dergisi* 1996, (Ek 9): 400.
11. Ceviz A, Arslan A, Ak HE, Inaloz S. The effect of urokinase in preventing the formation of epidural fibrosis and/or leptomeningeal arachnoiditis. *Surg Neurol* 1997; 47 (2): 124-127.
12. Colak A, Bavbek M, Aydın NE, Renda N, Acıkgöz B. Effect of CO2 laser on spinal epidural fibrosis. *Acta Neurochir (Wien)* 1996; 138 (2): 162-166.
13. Cooper RG, Mitchell WS, Illingworth KJ, Forbes C, Gillespie JE, Jayson MIV. The role of epidural fibrosis and defective fibrinolysis in the persistence of postlaminectomy back pain. *Spine* 1991; 16 (9): 1044-1048.
14. DiFazio FA, Nichols JB, Pope MH, Frymoyer JW. The use of expanded polytetrafluoroethylene as an interpositional membrane after lumbar laminectomy. *Spine* 1995; 20 (9): 986-991.
15. Doğulu F, Kurt G, Emmez H, Erdem O, Memis L, Baykaner K, Ceviker N. Topical mitomycin C-induced inhibition of postlaminectomy peridural fibrosis in rabbits. *J Neurosurg Spine* 2003; 99 (1): 76-79.
16. Dullerud R, Graver V, Haakonsen M, Haaland AK; Loeb M, Magnaes B. Influence of fibrinolytic factors on scar formation after lumbar discectomy. *Spine* 1996; 23 (13): 1464-1469.
17. Eldridge CF, Bunge RP, Bunge ME. Effects of cis-4-hydroxy-L-proline, an inhibitor Schwann cell differentiation, on the secretion of collagenous and noncollagenous proteins by Schwann cells. *Exp Cell Res* 1988; 174 (2): 491-501.
18. Eyre DR. Collagen: Molecular diversity in the body's protein scaffold. *Science* 1980, 207: 1315-1322.
19. Foulkes GD, Robinson JS. Intraoperative dexamethasone irrigation in lumbar discectomy. *Clin Orthop Rel Res* 1990; 261: 224-228.
20. Gauldie J, Jordana M, Cox G. Cytokines and pulmonary fibrosis. *Thorax* 1993, 48: 931-935
21. Geisler FH. Prevention of peridural fibrosis: Current methodologies. *Neurol Res* 1999; 21 (Suppl.1): 9-22.

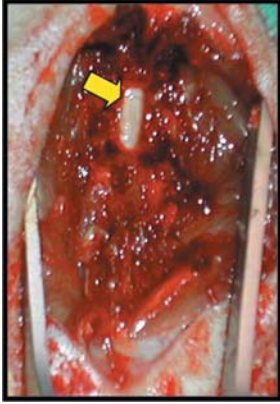
22. Gerszten PC, Moossy JJ, Flickinger JC, Gerszten K, Kalend A, Martinez AJ. Inhibition of peridural fibrosis after laminectomy using low dose external beam radiation in a dog model. *Neurosurgery* 2000; 46 (6): 1478-1485.
23. Greco MJ, Kemnitzer JE, Fox JD, Choe JK, Kohn J, Riley DJ, Poiani GJ. Polymer of proline analogue with sustained antifibrotic activity in lung fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 1391-1397.
24. Gris JC, Schved JF, Feugeas O. Impact of smoking, physical training and weight reduction on FVII, PAI-1 and hemostatic markers in sedentary man. *Thromb Haemost* 1990; 64 (4): 516-520.
25. He Y, Revel M, Loty B. A quantitative model of postlaminectomy scar formation: Effects of a nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Spine* 1995; 20 (5): 557-563.
26. Henderson R, Weir B, Davis L, Mielke B, Grace M. Attempted experimental modification of the postlaminectomy membrane by local instillation of recombinant tissue plasminogen activator gel. *Spine* 1993; 18 (10): 1268-1272.
27. Hinton JL, Warejcka DJ, Mei Y, McLendon RE, Laurencin C, Lucas PA, Robinson JS Jr. Inhibition of epidural scar formation after lumbar laminectomy in the rat. *Spine* 1995; 20: 564-570.
28. Hiraizumi Y, Transfelt EE, Fujimaki E, Nambu M. Application of polyvinil alcohol hydrogel membrane as antiadhesive interposition after spinal surgery. *Spine* 1995; 20 (21): 2272-2277.
29. İmer M, Yanık B, Çobanoğlu S, Hüseyinova G: Tavşanda laminektomi sonrası gelişen epidural fibrozise aprotininin etkisi. *Türk Nöroşirurji Dergisi* 1996; (Ek 9): 392.
30. Jacobs RR, McClain O, Neff J. Control postlaminectomy scar formation: An experimental and clinical study. *Spine* 1980; 5: 223-229.
31. Jayson MIV. Fibrosis, chronic inflammation and vascular damage in back pain syndromes. In: Weinstein JN, Wiesel SW (Eds.). *The Lumbar Spine*. Saunders, Philadelphia, 1990; pp: 649-651.
32. Jayson MIV. The role vascular damage and fibrosis in the pathogenesis of nevre root damage. *Clin Orthop Rel Res* 1992; 279: 40-48.
33. Kao WW-Y, Prockop DJ. Proline analogue removes fibroblasts from cultured mixed cell populations. *Nature (London)* 1977; 266: 63-64.
34. Kayama S, Konno S, Olmarker K, Yabuki S, Kikuchi S. Incision of the anulus fibrosis induces nevre root morphologic, vascular and functional changes: An experimental study. *Spine* 1996; 21 (22): 2539-2543.
35. Keller JT, Dunsker SB, McWorther JM, Ongkiko CM, Saunders MC, Mayfield FH. The fat autogenous grafts to the spinal dura: An experimental study. *J Neurosurg* 1978; 49 (3): 412-418.
36. Kerr JS, Ruppert CL, Tozzi CA, Neubauer JA, Frankel HM, Yu SY, Riley DJ. Reduction of chronic hypoxic pulmonary hypertension in the rat by an inhibitor of collagen production. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 300-306.
37. Kiviluoto O. Use of free fat transplants to prevent epidural scar formation: An experimental study. *Acta Orthop Scand* 1976; 164 (Suppl.): 3-75.
38. Kovacs EJ, DiPietro LA. Fibrogenetic cytokines and connective tissue production. *FASEB J* 1994; 8: 854-861.
39. Kuivila TE, Berry JL, Bell GR, Steffee AD. Heparinized materials for control of the formation of the laminectomy membrane in experimental laminectomies in dogs. *Clin Orthop Rel Res* 1988; 236: 166-173.
40. La Rocca H, McNab I. The laminectomy membrane: Studies in its evolution, characteristics, effects and prophylaxis in dogs. *J Bone Joint Surg* 1974; 56: 545-550.

41. Lee CK, Alexander H. Prevention of postlaminectomy scar formation. *Spine* 1984; 9: 305-312.
42. Martin-Ferrer S. Failure of autologous fat grafts to prevent postoperative fibrosis in surgery of the lumbar spine. *Neurosurgery* 1989; 24: 718-721.
43. Mohsenipour I, Daniaux M, Aichner F, Twerdy K. Prevention of local scar formation after operative discectomy for lumbar disc herniation. *Acta Neurochir (Wien)* 1998; 140: 9-13.
44. Nort RB, Campbell JN, James CS, Walker MKC, Wang H, Piantadosi S, Rybock JD, Long DM. Failed back surgery syndrome: 5 year follow up in 102 patients undergoing repeated operation. *Neurosurgery* 1991; 28 (5): 685-691.
45. Nussbaum CE, McDonald JV, Baggs RB. Use of vicryl (polyglactin 910) mesh to limit epidural scar formation after laminectomy. *Neurosurgery* 1990; 26: 649-654.
46. Oitto J, Prockop J. Incorporation of proline analogues into collagen polypeptides: Effects of the production of extracellular procollagen and on the stability of the triple-helical structure of the molecule. *Biochem Biophys Acta* 1974; 336: 234-251.
47. Palatinkys E, Ahmad S, Majer K, Hingson M, Touhalisky D, Coker G. ADCON-L inhibits epidural fibrosis in a rabbit laminectomy model. *American Association of Neurological Surgeons and Congress of Neurological Surgeons*, Florida, February 9-12, 1994.
48. Petrie JL, Ross JS. Use of ADCON-L to inhibit postoperative fibrosis and related symptoms following lumbar disc surgery: A preliminary report. *Eur Spine J* 1996, 5 (Suppl.1): 10-17.
49. Piguiet PF. Cytokines involved in pulmonary fibrosis. *Int Rev Exp Pathol* 1993; 34: 173-181.
50. Poiani GJ, Carol AT, Choe JK, Yohn SE, Riley DJ. An antifibrotic agent reduces blood pressure in established pulmonary hypertension in the rat. *J Appl Physiol* 1990; 68 (4):1542-1547.
51. Poiani GJ, Riley DJ, Fox JD. Conjugates of cis-4-hydroxy-L-proline and poly(PEG-Lys), a water soluble poly (ether urethane): Synthesis and evaluation of antifibrotic effects in vitro and in vivo. *Bioconj Chem* 1994; 5 (6): 621-630.
52. Prockop DJ, Kivirikko KI. Collagens: Molecular biology, disease, and potentials for therapy. *Annu Rev Biochem* 1995; 64: 403-434.
53. Robertson JD, Wujek JR, Ahmad S. Reduction of peridural fibrosis after lumbar laminectomy and discectomy in dogs by a carbohydrate polymer gel (ADCON-L). *American Association of Neurological Surgeons Annual Meeting*, Massachusetts, April 24-29, 1993
54. Robertson JT, Meric AL, Dohan FC, Schweitzer JB, Wujek JR, Ahmad S. The reduction of postlaminectomy peridural fibrosis in rabbits by a carbohydrate polymer. *J Neurosurg* 1993; 79: 89-95.
55. Ross JS, Robertson JT, Frederickson A, Petrie JL, Obuchowski N, Modic MT, deTribolet N. For ADCON-L European Study Group. Association between peridural scar and recurrent radicular pain after lumbar discectomy: Magnetic resonance evaluation. *Neurosurgery* 1996; 38: 855-863.
56. Salvador RA, Fiedler-Nagy C, Coffey JW. Biochemical basis for drug therapy to prevent pulmonary fibrosis in ARDS. In: Zapol WM, Falke KJ (Eds.). *Acute Respiratory Failure*. Marcel Dekker, New York, 1985; pp: 477-506.
57. Samy Abdou M, Hardy Jr RW. Epidural fibrosis and failed back surgery syndrome: History and physical findings. *Neurol Res* 1999; 21 (Suppl.1): 5-8.
58. Schwicker D. Cost effectiveness of lumbar disc surgery and a preventive treatment for epidural fibrosis. *Eur Spine J* 1996; 5 (Suppl.1): 21-25.
59. Selçuklu A, Paşaoğlu A, Akdemir H, Kurtsoy A, Patiroğlu TE. Briefly noted: Urokinase for control

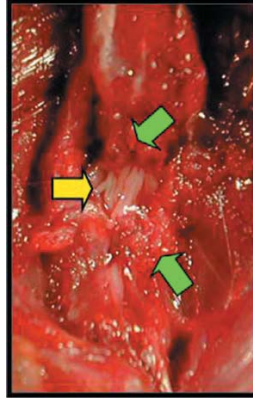
- scar formation after laminectomy. *Spine* 1993; 18 (1):165-168.
60. Songer MN, Ghosh L, Spencer DL. Effects of sodium hyaluronate on peridural fibrosis after lumbar laminotomy and discectomy. *Spine* 1990; 20:550-554.
61. Songer MN, Rauschnig W, Carson EW, Pandit SM. Analysis of peridural scar formation and its prevention after lumbar laminotomy and discectomy in dogs. *Spine* 1995; 20 (5): 571-578.
62. Şenel A, Kocabaş M, Çokluk C, İyigün Ö, Rakunt C, Çelik F. Laminektomi sonrası skar dokusunun önlenmesinde gore-teks surgical membran kullanılması. *Türk Nöroşirurji Dergisi* 1995; (Ek10): 152.
63. Uitto J, Bauer EA, Eisen AZ. Scleroderma: Increased biosynthesis of triple helical type I and type III procollagens associated with unaltered expression of collagenase by skin fibroblasts in culture. *J Clin Invest* 1979; 64: 921-930.
64. Uitto J, Ryhanen L, Tan EML. Collagen: Its structure, function and pathology. In: Fleischmajer R (Ed.). *Progress in Diseases of the Skin*. Grune&Stratton, New York, 1981; pp: 103-141.
65. Uitto J, Ryhanen L, Tan EML, Oikarinen AI, Zaragoza EJ. Pharmacological inhibition of excessive collagen deposition. *Federation Proc* 1984; 43: 2815-2820.
66. Vaquero J, Arias A, Oya S, Martinez R, Zurita M. Effect of fibrin glue on postlaminectomy scar formation. *Acta Neurochir (Wien)* 1993; 120 (3-4):159-163.
67. Weisz GM, Gal A. Long term survival of a free fat graft in the spinal canal: A 40 month postlaminectomy case report. *Clin Orthop Rel Res* 1986; 205: 204-206.
68. Wilson MJ, Hatfield DL. Incorporation of modified amino acids into proteins in vivo. *Biochem Biophys Acta* 1984; 781: 205-215.
69. Yamagami T, Matsui H, Tsuji H, Ichimura K, Sano A. Effects of laminectomy and retained extradural foreign body on cauda equina adhesion. *Spine* 1993; 18 (13): 1774-1781.
70. Yong-Hing K, Reilly J, De Korompay V, Kirkaldy-Willis WH. Prevention of nerve root adhesions after laminectomy. *Spine* 1980; 5: 59-64.



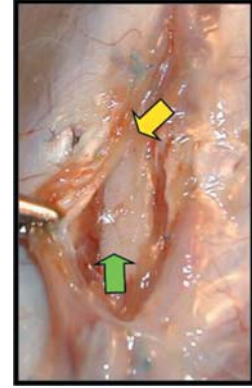
+ CMYK



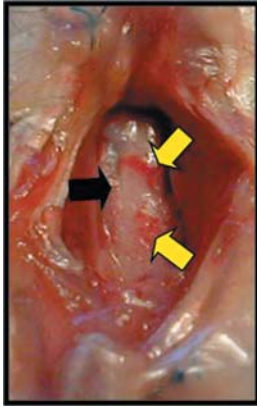
**Şekil 1.** Sıçanda L-4 total laminektomi sonrası dural kese görülmektedir.



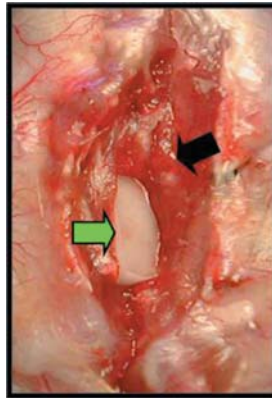
**Şekil 2.** Kontrol grubunda laminektomi alanında epidural fibrozis dokusu (yeşil oklar) ve açılmış dura mater sonucu açığa çıkmış rootletler (sarı ok).



**Şekil 3.** Sahaya HEMA hidrojel (yeşil ok) konulmuş grupta çok yoğun olmayan fibrozis alanı (sarı ok).



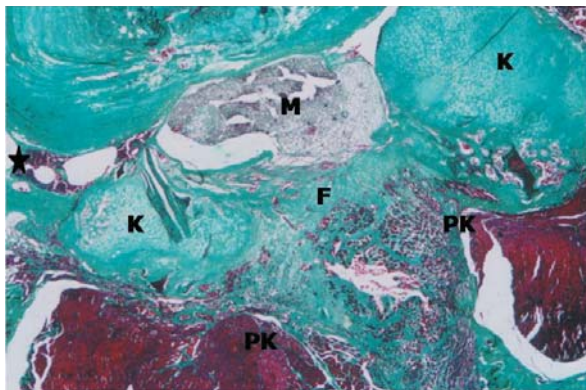
**Şekil 4.** Sahaya HEMA hidrojel konulmuş grupta hidrojelin çıkarılması sonrası intakt duramater (siyah ok) ve üzerindeki fibröz yapışıklıklar (sarı oklar).



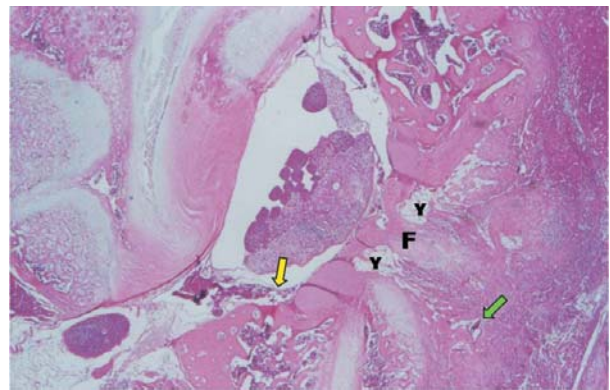
**Şekil 5.** Sahaya cis-4-hidroksi-L-prolin içeren HEMA hidrojel (yeşil ok) konulmuş grupta normal yapıya yakın özellikte kas dokusu (siyah ok).



**Şekil 6.** Sahaya cis-4-hidroksi-L-prolin içeren HEMA hidrojel konulmuş grupta normal yapıya yakın özellikte dura mater (siyah ok).

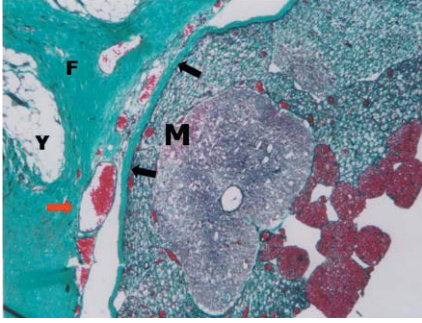


**Şekil 7.** Kontrol grubuna ait bir örnekte fibröz dokunun (F) laminektomi alanını doldurduğu, paravertebral kaslar (PK) arasına ve sinir köklerine doğru uzandığı (★) gözleniyor. M: medulla spinalis, K: kemik (Masson Trikrom X 6,25).

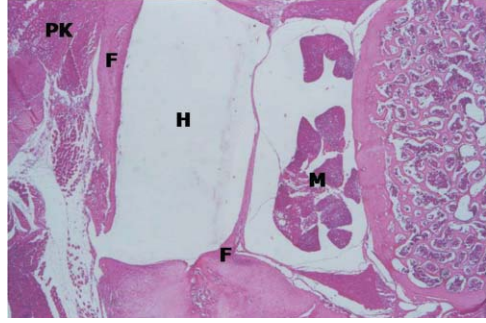


**Şekil 8.** Kontrol grubuna ait bir örnekte laminektomi alanında fibrozis (F) ve yağ dokusu (Y) gözleniyor. Laminanın kesik uçlarının altına ve sinir köküne doğru uzanan fibröz doku (sarı ok), yeni gelişen kemik trabekülleri (yeşil ok) görülüyor (Hematoksilen-eozin X 6,25).

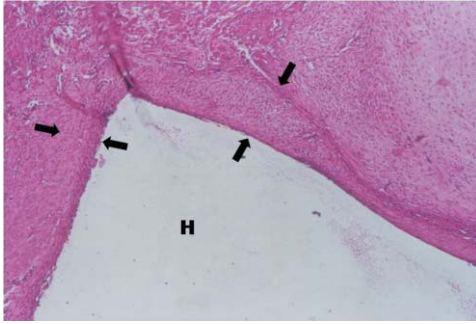
+ CMYK



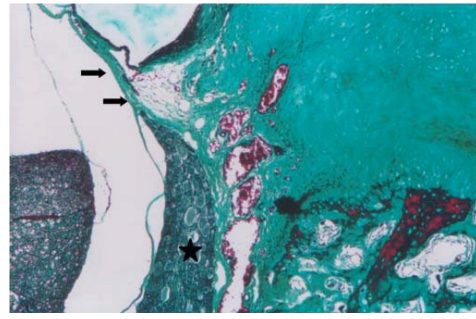
**Şekil 9.** Kontrol grubuna ait bir örnekte fibröz dokunun (F), dura mater (siyah ok) yapıştığı ve medulla spinalisi (M) kendine çektiği gözleniyor. Fibröz dokuda dura mater komşuluğunda kapiller (kırmızı ok) var. Y:yağ dokusu (Masson Trikrom X 25).



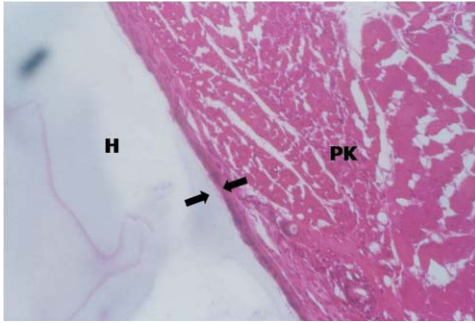
**Şekil 10.** HEMA hidrojel grubunda hidrojel (H) çevresinde fibröz doku (F) gözleniyor. Fibröz doku paravertebral kaslar (PK) arasına doğru uzanıyor. M:medulla spinalis (Hematoksilen-eozin X 6,25).



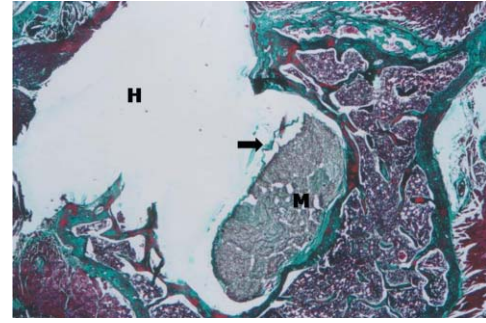
**Şekil 11.** HEMA hidrojel grubunda hidrojel (H) çevresindeki fibröz doku (oklar) görülüyor (Hematoksilen-eozin X 25).



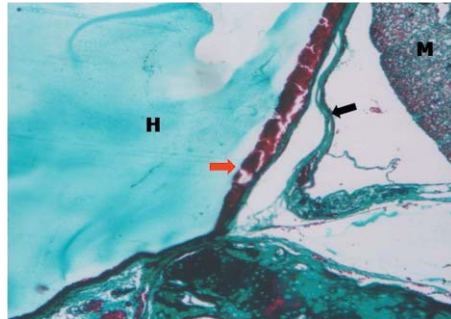
**Şekil 12.** HEMA hidrojel grubunda sinir köküne (★) uzanan fibröz doku (çift ok) görülüyor (Masson Trikrom X 25).



**Şekil 13.** cis-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel kullanılan grupta hidrojel (H) çevresinde ince fibröz doku (oklar) gözleniyor. PK:Paravertebral kaslar. (Hematoksilen-eozin X 50).



**Şekil 14.** cis-4-OH-L-prolin+HEMA hidrojel kullanılan grupta hidrojel (H) konulduğu alan (H), medulla spinalis (M), dura mater (ok) gözleniyor. Fibröz doku yok denecek kadar az (Masson Trikrom X 6,25).



**Şekil 15.** cis-4-OH-L-prolin+HEMA kullanılan grupta hidrojel (H), medulla spinalis (M), dura mater (siyah ok) komşuluğunda epidural ven (kırmızı ok) görülüyor (Masson Trikrom X 25).