

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

**METİLPREDNİSOLONUN POSTERİO LATERAL SPİNAL FÜZYON ÜZERİNE  
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

GÜRKAN GAZİOĞLU

TRABZON-2009

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

**METİLPREDNİSOLONUN POSTERİO LATERAL SPİNAL FÜZYON ÜZERİNE  
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR.GÜRKAN GAZİOĞLU  
TEZ DANIŞMANI: Doç.Dr.Ertuğrul ÇAKIR

TRABZON-2009

|  |      |
|--|------|
| <b>1.GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....                                 | 1    |
| <b>2.GENEL BİLGİLER</b> .....                                | 2    |
| <b>2.1.Kemik Anatomisi ve Histolojisi</b> .....              | 2    |
| <b>2.1.1-Osteoblastlar:</b> .....                            | 2    |
| <b>2.1.2-Osteositler:</b> .....                              | 2    |
| <b>2.1.3-Osteoklastlar :</b> .....                           | 2    |
| <b>2.1.4-Hematopoetik hücreler</b> .....                     | 3    |
| <b>2.2-Kemik Biyokimyası</b> .....                           | 3    |
| <b>2.3-Kemik Metabolizmasının Düzenleyicileri</b> .....      | 4    |
| <b>2.3.1-Hormon ve Vitaminler</b> .....                      | 4    |
| <b>2.3.2-İndüktif Proteinler ( Büyüme Faktörleri )</b> ..... | 4    |
| <b>2.4-Kemik İyileşmesi ve Füzyonun Fizyolojisi</b> .....    | 5    |
| <b>2.4.1-Osteoindüksiyon:</b> .....                          | 6    |
| <b>2.4.2-Osteokondüksiyon:</b> .....                         | 6    |
| <b>2.4.3-Osteogenezis</b> .....                              | 6    |
| <b>2.5-Kemik İyileşmesi Süreci</b> .....                     | 6    |
| <b>2.5.1-Erken enflamatuvar aşama</b> .....                  | 7    |
| <b>2.5.2-Tamir aşaması</b> .....                             | 7    |
| <b>2.5.3-Geç şekillenme aşaması</b> .....                    | 7    |
| <b>2.6-Kemik Greftler</b> .....                              | 8-10 |
| <b>2.6.1-Otojen Kemik Greft</b> .....                        | 11   |
| <b>2.6.2-Allogreft</b> .....                                 | 11   |

|   |              |
|---|--------------|
| <b>2.6.3-Demineralize Kemik Matriksi.....</b>                 | <b>12</b>    |
| <b>2.7-Posterior Füzyon.....</b>                              | <b>13</b>    |
| <b>2.8-Kortikosteroid Tedavisi ve Doku İyileşmesi.....</b>    | <b>13</b>    |
| <b>2.9-Kotikosteroid Tedavisi ve Kemik Metabolizması.....</b> | <b>14</b>    |
| <b>2.10-Rat Anatomisi .....</b>                               | <b>14-15</b> |
| <b>3-MATERYAL VE METOD.....</b>                               | <b>16-19</b> |
| <b>3.1-İstatistiksel Değerlendirme.....</b>                   | <b>20</b>    |
| <b>4-BULGULAR.....</b>  | <b>21</b>    |
| <b>4.1-Radyolojik değerlendirme.....</b>                      | <b>12-23</b> |
| <b>4.2-Histolojik Değerlendirme.....</b>                      | <b>24-27</b> |
| <b>5.TARTIŞMA.....</b>  | <b>28-30</b> |
| <b>6-SONUÇLAR.....</b>  | <b>31</b>    |
| <b>7-ÖZET.....</b>  | <b>32</b>    |
| <b>8-SUMMARY.....</b>   | <b>33</b>    |
| <b>9-KAYNAKLAR.....</b>                                       | <b>34-43</b> |

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Son 20 yıl içinde omurga ameliyatlarının sayısı belirgin olarak artmıştır. Kuzey Amerika'da yılda 200.000 civarında spinal artrodez ameliyatı yapılmaktadır (1, 2). Spinal ameliyatların başarısı uzun dönemde spinal stabilitenin korunmasına bağlıdır. Spinal enstrüman cihazları geçici destek sağlarken kalıcı stabilite için solid bir kemik füzyona ihtiyaç vardır. Modern teknolojik yaklaşımlara ve karmaşık internal fiksasyonlara rağmen solid kemik füzyon olmama oranı çok yüksektir. Kaynamama oranı tek seviyeli füzyonlarda %5 ila %35 oranındadır. Çok seviyeli füzyonlarda ise daha da fazladır (1, 3, 4, 5, 6).

Kortikosteroidler rutin spinal cerrahi pratiğinde akut spinal kord yaralanması, romatoid artrit, demyelinizan hastalıklar, inflamatuvar spondilit veya dekompresyon ve stabilizasyon gerektiren spinal tümörler nedeniyle kullanılmaktadırlar (7). Nöroprotektif etkinliklerinden dolayı deneysel omurilik yaralanma modellerinde denenen çok sayıda maddeden sadece metilprednisolonun, kontrollü, çok merkezli, geniş klinik çalışmalarda, insanlarda fonksiyonel iyileşmeyi artırdığı gösterilmiştir. Faydaları konusunda karşıt fikirler olmasına rağmen, günümüzde akut spinal kord yaralanmalarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (8, 9, 10, 11, 12).

Biz çalışmamızda metilprednisolon tedavisinin posterolateral heterojen kemik füzyon üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.Kemik Anatomisi ve Histolojisi

Kemik dokusunun gücü ve şekli, onun oluşumu ve destrüksiyonu arasındaki sürekli bir denge ile sürdürülür. Normalde oluşum ve emilim hızı bir denge halindedir. Kemığın hücresel içeriği; osteojenik prekürsör hücreler, osteoblastlar, osteositler ve hematopoetik kemik iliği elemanlarından oluşur (1, 13, 14).

**2.1.1-Osteoblastlar:** Bu hücreler olgun, metabolik olarak aktif kemik oluşturan hücrelerdir. Bunlar osteoid adalarından mineralize olmamış bir organik matriks oluştururlar. Bu matriks daha sonra mineralizasyona gider ve kemiğe gücünü ve sertliğini verir. Aynı zamanda bunlar kemiği oluşturan osteoidleri salgırlar. Osteoblastlar ayrıca osteoklastlarla kemik rezorpsiyonunun aktive olmasında da rol oynarlar.

**2.1.2-Osteositler:** Kemik matriks içinde sıkışıp kalmış olgun osteoblastlardır. Bu hücreler kalsiyum ve fosforun ekstrasellüler yoğunluğunun kontrolünde yer alırlar.

**2.1.3-Osteoklastlar :** Multinükleuslu, kemiği rezorbe eden hücrelerdir. Hormonal ve sellüler mekanizmalarla kontrol edilirler. Bu hücreler “kesici koniler” adı verilen gruplar halinde fonksiyon görürler. Bu gruplar çıplak kemik yüzeylerine yapışır ve hidrolitik enzimler salarak kemiğin ve kalsifiye kıkırdağın inorganik ve organik matriksini çözerler (1, 15).

#### **2.1.4-Hematopoetik hücreler :** Kemik iliğininde bulunurlar.

3 tip kemik vardır; “ yünsü kemik ”, “ kortikal kemik ” ve “ süngersi kemik”. Yünsü kemik embriyonik gelişme sırasında bulunur. Fraktür iyileşmesi ( kallus oluşumu ) sırasında, Hiperparatroidizm ve Paget hastalığı gibi patolojik dönemlerde de bulunur (1, 14). Yünsü kemik normal olarak şekillenir ve kortikal veya süngersi kemikle değiştirilir.

Kemik başlıca iki kısımdan oluşur. Kortikal kemik ( lamellar kemik, kompakt kemik ) ve kansellöz kemik ( spongioz kemik, trabeküller kemik ).

Kortikal kemik yünsü kemikten şekillenir. Bu işlem vasküler kanalların embriyonik kemikle invazyonu ve onun periosteal ve endosteal yüzeylerinden kortikal kemik oluşması şeklinde olur. Kortikal kemik hemen vücudun tüm kemiklerinde yer alır. Ancak en çok yassı kemiklerin dış ve iç tabularında görülür. Uzun kemiklerin de dış yüzeylerini yapar. Kortikal kemiğin primer yapısal ünitesi “osteon ” dur. Bu kompakt silindirik şekilde bir yapıdır. Kompakt kemiği oluşturur. Osteonun ortasında Havers kanalları vardır. Bunlar vasküler kanallar olup birbirine horizontal yerleşimli Volkman kanalları ile birleşir. Volkman kanalları komşu osteonları birbirine bağlar. Kortikal kemiğin mekanik gücü osteonların sıkı paketlenmesi veya sıkı ilişkisine bağlıdır.

Kansellöz kemik kortikal kemik yüzleri arasında yer alır. Bal köpüğüne benzer bir ağ içinde bulunur. Bunun içinde hematopoetik elemanlar ve kemik trabeküller yer alır. Trabeküller daha çok birbirine dik yerleşmiştir. Böylece yapısal destek sağlarlar (1, 16, 17). Kansellöz kemik internal endosteal yüzeylerde sürekli olarak şekillenir.

#### **2.2-Kemik Biyokimyası**

Kemik organik ve inorganik elemanlardan oluşur. Ağırlık olarak % 20 si sudur. Kuru kemiğin ağırlığının çoğu inorganik kalsiyum fosfat ( % 65 – 70 ) ve fibröz doku ile kollajenden oluşan organik bir matrikstir ( % 30 – 35 ) (1, 13, 14, 18, 19). Kemik içinde ayrıca mukopolisakkaritler ( kondroitin sülfat, keraton sülfat, sialik asit ) ve osteokalsinde bulunur (1, 20).

Osteoid, osteoblastlar tarafından salgılanan bir non mineralize organik matrikstir. Bu matriksin % 90'ı Tip I kollajen ve % 10 konal yapıdan oluşur. Bu yapının içinde kollajen olmayan proteinler, glikoproteinler, proteoglikanlar, peptidler, karbonhidratlar ve lipitler vardır. Osteoidin inorganik mineral tuzları ile mineralizasyonu kemiğin gücünü ve sertliğini sağlar (1, 21).

Kemiğin inorganik içeriğinde başlıca kalsiyum fosfat ve kalsiyum karbonat yer alır. Az miktarda magnezyum, florid ve sodyum bulunur. Mineral kristalleri hidroksi apatiti oluşturur. Bu da düzgün bir dağılım içinde osteoitin kollajen lifleri etrafında çöker.

## **2.3-Kemik Metabolizmasının Düzenleyicileri**

### **2.3.1-Hormon ve Vitaminler**

Kemik metabolizması hormonal ve lokal faktörler ile sürekli düzenlenmektedir. Kemik metabolizmasını en çok etkileyen üç kalsitropik hormon; paratroid hormon, vitamin D ve kalsitonindir. Paratroid hormon kalsiyumun, kalsiyum havuzu içine akışını artırır ve vücudun ekstrasellüler kalsiyum düzeylerini oldukça sabit bir düzeyde ayarlar. Paratiroid hormon reseptörü bulunan tek kemik hücresi osteoblastlardır. Bu hormon sitoskeletal değişiklikler yaratabilir. Vitamin D intestinal ve renal kalsiyum bağlayan proteinleri stimüle eder ve aktif kalsiyum transportunu kolaylaştırır. Kalsitonin tiroid bezinin parafolliküler hücreleri tarafından salgılanır ve bu salgılama plazma kalsiyum düzeylerinin akut olarak yükselişi ile olur. Kalsitonin kalsiyuma bağlı sellüler metabolik aktiviteyi inhibe etmeye yardımcı olur.

### **2.3.2-İndüktif Proteinler ( Büyüme Faktörleri )**

Kemik metabolizması ayrıca bir dizi protein veya büyüme faktörleri ile de etkilenir. Kemik hücrelerinden köken alan bu büyüme faktörleri son yıllarda büyük popülarite kazanmıştır. Bunlar trombositlerden, makrofajlardan ve fibroblastlardan salınır. Bunlara trombosit kökenli büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü, transformin büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü 1 ve 2, trombosit



kökenli endotelial hücre büyüme faktörü denir (1, 22). Bunların hepsi birer proteindir.

Bu proteinler kemiğin vaskülarize olması, sertleşmesi, birleşmesi ve mekanik olarak fonksiyon görmesini sağlayacak iyileşmeyi uyarırlar. Bunlar mezenşimal kökenli hücreler, örneğin monosit ve fibroblastları oluşturabilirler. Monosit ve fibroblastlar ise migrasyon, proliferasyon ve kemik hücrelerine değişim gösterebilirler. Kemik iyileşmesini hızlandıran proteinler içinde kemik morfojenik proteini ( BMP ), insülin benzeri büyüme faktörleri, trombosit kökenli büyüme faktörü ve fibroblastik büyüme faktörleri yer alır (1, 23, 24).

Kemik morfojenik protein en önemli proteindir (1, 25, 26). BMP kemik matriksten köken alan bir glikoproteinler ailesidir. BMP leri kemik hücrelerine farklılaşan mezenşimal hücreler meydana getirir. BMP en çok kortikal kemikte bulunur. Ancak son yıllarda rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak çok sayıda BMP sentezlenmiştir. BMP nin alt tipleri bulunup bunlara osteoindüktif protein, osteojenik protein, osteogenin ve osteoprotein adları verilmiştir. Osteogenine aynı zamanda BMP-3 de denilir. Rekombinant BMP-2, 5-7 gün içinde kırıkta oluşumuna ve 10-14 gün içinde de kemik formasyonuna neden olur.

#### **2.4-Kemik İyileşmesi ve Füzyonun Fizyolojisi**

Sağlıklı erişkinlerde kemik büyümesinde fiziksel aktivite ve yük taşıma gibi bir dizi faktörler etkilidir. Bu çeşit mekanik uyarılar kemiğe şeklini verirler. Kemik büyümesi ayrıca birçok endokrin büyümeyle de etkilenir. Büyüme hormonu ve somatomedinler bunlar arasında sayılabilir. Erişkinlerde kemik büyümesi olmaz. Ancak kemikte şekillenmeler olur (1, 20).

Füzyonu sağlamak için kullanılan kemik greft, yukarıda anlatıldığı gibi kemiğin anatomik, histolojik ve biyokimyasal özellikleriyle etkileşim gösterir. Ayrıca kullanılan kemik greftin çok sayıdaki fizyolojik özellikleri greftin kaynamasındaki başarıyı direkt olarak etkiler. Kemik greftin bu özellikleri osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyondur (1, 19).

Kemik füzyonu etkileyen bu biyolojik süreçler aşağıda açıklanmıştır:

**2.4.1-Osteoindüksiyon:** Bir osteoprogenitör kök hücresinin bir osteojenik hücre tipine diferansiye olma yeteneğidir. Aynı zamanda greft materyalinin matür kemik hücrelerine diferansiye olacak kök hücreleri oluşturma yeteneğidir. Kemik morfojenik proteinleri ve demineralize kemik maddesi başlıca osteoindüktif materyallerdir. Daha az derecede otogreft ve allogreft kemiğin de osteoindüktif özellikleri olduğu bulunmuştur (1, 18). En önemli osteoindüktif protein, kemik morfojenik proteindir ( BMP ).

**2.4.2-Osteokondüksiyon:** Kemiğin kapillerler ve perivasküler doku içine yayılabilmek ve osteoprogenitör hücreleri büyütebilme özelliğidir. Osteokondüksiyon, greftin canlı kemik iyileşmesi için uygun bir yatak oluşturma özelliğidir. Osteokondüksiyon ayrıca nörovasküler yapıların greft içine büyümesine izin verir. Osteojenik prekürsör hücrelerin greft içine infiltre olmasını sağlar. Tüm bu özellikler kansellöz otogreft ve allogreftlerde bulunur. Demineralize kemik maddesinde, hidroksiapatitte, kollajen ve kalsiyum fosfatta da bulunur (1, 18).

**2.4.3-Osteogenezis:** Bir greftin yeni kemik oluşturma yeteneğidir (1, 27, 28, 29). Osteojenik greft materyalleri yaşayan hücrelere sahiptir ve kemik oluşturma yetenekleri vardır (osteprogenitör hücreler) veya kemik oluşturan hücrelere diferansiye olma potansiyeline sahiptir (osteojenik prekürsör hücreler). Osteogenezis, sadece taze otojen kemik ve kemik iliği hücrelerinde bulunan bir özelliktir.

## **2.5-Kemik İyileşmesi Süreci**

Spinal füzyon modelinde kemik greftinin kaynama süreci uzun kemiklerdeki kemik iyileşme süreciyle aynıdır (1, 30). Fraktürün iyileşmesi dokuyu orjinal, fiziksel ve mekanik özelliklerine getirir ve bir dizi sistemik ve lokal faktörlerle etkilenir. İyileşme üç farklı, fakat üst üste binen aşamada oluşur. Bunlar:

**2.5.1-Erken enflamatuar aşama:** Fraktür yerinde ilk saatlerde ve günler içinde hematoma oluşur. Enflamatuar hücreler ( makrofajlar, monositler, lenfositler ve polimorf nüveli lokositler ) ve fibroblastlar kemiği infiltre ederler ve bu sırada prostaglandin medyatörleri rol oynar. Bunun sonucunda granülasyon dokusu oluşur. Vasküler dokular içeri büyür, mezenkimal hücreler buraya hareket ederler. Erken sürecin primer besleyicisi ve oksijen destekçisi kansellöz kemik ve kas tarafından sağlanır.

**2.5.2-Tamir aşaması:** Fibroblastlar bir stroma tabakası oluşturmaya başlarlar. Bu tabaka vasküler yapıların içeri büyümesini destekler (1, 31, 32). Vasküler filtrasyon ilerlerken kollajen matriks tabakası oluşur, osteoid sekrete ve daha sonra mineralize olur. Osteoidin mineralize olması kırık yerinde bir yumuşak kallus dokusu oluşmasına yol açar.

**2.5.3-Geç şekillenme aşaması:** Kemik iyileşmesi bu dönemde tamamlanır. İyileşen kemik orijinal şekline, yapısına ve mekanik gücüne kavuşur. Kemiğin şekillenmesi aylar veya yıllar sürer ve kemiğe iletilen mekanik stres de hızlanır. Kemiğin yeterli gücü tipik olarak 3 ila 6 ayda oluşur (1).

Omurgada başarılı bir füzyonun sağlanabilmesi için çeşitli yöntemler vardır ve bu yöntemler otojen kemik greftlemesinden gen tedavisine kadar geniş bir yelpaze oluşturmaktadır (Tablo 1) (33). Spinal füzyonun başarılı bir şekilde gerçekleşmesi büyük oranda füzyon alanına konulan greft materyalinin özelliklerine bağlıdır. Kemik grefti veya onun yerini tutacak greft materyallerinin ideal özellikleri Tablo2 de verilmiştir (33).

## **2.6-Kemik Greftler**

Spinal füzyonda başlıca iki çeşit greft kullanılır. Bunlar otogreft ve allogreftlerdir. Otogreft kemik, kişinin vücudunda bir başka yerinden alınır. Allogreft kemik ise genetik olarak özdeş olmayan aynı türün başka üyelerinden alınır. Her iki tip greft de spinal cerrahide çok sıklıkla kullanılır (1).

İdeal kemik greftinde şunlar olmalıdır; 1) Osteokondüktif ve kondüktif olmalı, 2) Biomekanik olarak stabil olmalı, 3) Hastalıktan arınmış olmalı, 4) Minimal antijenik faktörler içermelidir. Bu özelliklerin hepsi otogreft kemikte vardır. Otogreftin dezavantajı ayrı bir insizyon yapılma gereksinimi, ameliyat süresi ve kan kaybının artması, greft alınan yere ait komplikasyonlar olması ve yetersiz miktarda kemik elde edilebilmesidir (1, 34, 35). İdeal kemik greftinde ayrıca osteokondüksiyon, osteoindüksiyon ve osteogenezis denen üç farklı özellikte bulunmalıdır.

**Tablo 1.** Spinal füzyonda kullanılan yöntemler

|               |   |
|---------------|---|
| MEKANİK       | internal tespit (vida, kanca, rod, vb)<br>eksternal cihazlar  |
| BİYOLOJİK     | <p><b>KEMİK GREFT MATERYALLERİ:</b></p> <p>a) Otojen kemik greftleri: Kancellöz ve morselize<br/>Kortikal<br/>Kortikokancellöz</p> <p>b) Damarlı ve damarsız kortikal greft</p> <p>c) Allojenik kemik greftleri: Taze(fresh)<br/>Donmuş(frozen)<br/>Dondurulup kurutulmuş(Freeze-dried)</p> <p>d) Hücre temelli otojen greftler: Anfraksiyone taze kemik iliği<br/>Mezenşimal kök hücreler<br/>Genetik olarak değiştirilmiş hücreler<br/>Farklılaşmış osteoblastlar, kondrositler</p> <p><b>KEMİK GREFTİ GENİŞLETİCİLERİ</b></p> <p>a) Mineralize kemik matriksleri: Seramikler (kalsiyum fosfat, trikalsiyum fosfat, kalsiyum sülfat)<br/>Kollajen<br/>Kompozit greftler</p> <p>b) Bioaktif cam</p> <p>c) Sentetik polimerler</p> <p>d) Demineralize kemik matriksi (DKM)</p> <p><b>BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE SİTOKİNLER</b></p> <p>a) Transforme edici büyüme faktörü-<math>\beta</math></p> <p>b) Kemik morfojenik proteinler (BMP)</p> <p>c) <math>\alpha</math> ve <math>\beta</math> fibroblast büyüme faktörleri</p> <p>d) Trombosit türevi büyüme faktörleri</p> <p>e) İnsülin benzeri büyüme faktörleri</p> <p>f) Büyüme farklılaşma faktörleri</p> <p><b>GEN TEMELLİ TEDAVİ</b></p> <p>Canlı içinde ve canlı dışında</p> |
| BİYO FİZİKSEL | Elektrik uyarması<br>Ultrason uyarması  |

**Tablo 2.** Greft materyallerinin özellikleri

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

### **2.6.1-Otojen Kemik Greft**

Otojen kemik, greft materyalleri arasında yukarıdaki özelliklerin çoğunun bulunması nedeniyle en iyisi olarak bilinir. Tablo-1 de yapılan sınıflamaya göre otojen kemik greftlerinden kortikokansellöz kemik genellikle iliak kanat kıyından alınıp en sık kullanılan ve en başarılı kemik materyalidir. Otojen kemik grefti hem indükte olabilir, osteojenik prekürsör hücrelere sahiptir, hemde kollajen kemik matriks proteinlerine sahiptir. Bu proteinler osteoindüktif özellikte olan büyüme faktörleri içermektedir. Ayrıca osteokondüktif özellikte olan kemik mineral ve kollajene sahiptir (1, 18, 36). Otojen kemik greft füzyonundaki başarısızlığın % 30 kadar yüksek olduğu bazı seriler bildirilmiştir (1, 4, 6). Bazen iliak kıyından lomber spinal füzyon için kemik greft alınmasının morbiditesi primer cerrahi girişimin kendisinden daha fazla olmaktadır (1, 37). Hastaların % 9 kadarında pelvis fraktürleri, vasküler yaralanmalar ve derin enfeksiyonlar gibi büyük komplikasyonlar görülmektedir. Minör komplikasyonlardan kronik donör yeri ağrısı ve yüzeysel enfeksiyon ise % 25 oranında görülmektedir (1, 38, 39, 40, 29, 41). Donör yerindeki duyu değişikliği en sık görülen minör komplikasyondur. Bu duyu değişikliği kronik ağrı, hiperestezi, dizestezi veya cildin ilgili bölümünde duyu azlığı şeklinde görülür. Bu greftlerin diğer önemli sorunları; iliak kıyından alınan greftin azlığı, ameliyat süresinin uzaması, kan kaybı ve bu nedenle transfüzyona olan ihtiyaçtır. Tüm bu nedenlerden dolayı son yıllarda kemik greft yerine geçen materyaller ve genişleticilerin kullanılmasına büyük bir eğilim oluşmuştur.

### **2.6.2-Allogreft**

Allogreftler; gözenekli yapıları içinde progenitör hücrelerin ve endotelial hücrelerin tutunduğu birçok kimyasal alan içerirler. Aynı zamanda, osteoklastlar tarafından rezorbe edildiklerinde serbest kalan kemik matriks içinde büyüme faktörleri de içerirler. Allogreft kemikte, osteoindüktif özellik taşıyan az miktarda kemik morfojenik proteini de bulunur. Demineralizasyon, allogreft kemik matriksindeki büyüme faktörlerinin biyo-yararlanımını artırır. Ayrıca

demineralizasyon ile HIV enfeksiyonu geçmesi de önlenmiş olur (42, 43). Modern allogreft kemik elde etme işlemleri esnasında uygulanan ileri yıkama basamakları ile greftin içinde kalan hücre sayısı azaltılır. Bu yıkama basamakları ile immunojenik antijenler ve virüs kaynaklı hastalık geçme riski de azaltılmış olur (42, 44, 45).

Allogreftlerin standart otogreftlere göre avantajları şunlardır:

1. Otojen kemik alımı sırasında ortaya çıkan morbidite önlenir.
2. Otogreftin yeterli olmadığı büyük kemik kayıplarında yeterli miktarda greft sağlanır.
3. Otojen kortikal greftlere göre daha büyük miktar ve değişik boyutlarda allojen kortikal kemik sağlanabilir.
4. Jel, toz, fiber ve macun olarak birçok şekilde allogreftler işlenebilir. Bu da amaca yönelik kullanım kolaylığı sağlar. Demineralize kemik matriksleri, morselize ve kansellöz kemik yongalar, kortikokansellöz ve kortikal greftler, osteokondral greftler ve tüm kemik segmentleri gibi birçok değişik ürün elde edilebilir (42, 46).

### **2.6.3-Demineralize Kemik Matriksi**

Demineralize kemik matriksi (DKM), osteokondüktif ve farklı derecelerde osteoindüktif bir materyal olarak kemik kayıplarını ve boşlukları doldurmak için kullanılır. DKM hızlı bir şekilde yeniden damarlanır ve aynı zamanda otolog kemik iliği için iyi bir taşıyıcıdır. Demineralize kemik matriksinin biyolojik aktivitesi, ekstrasellüler matrikste bulunan proteinler ve büyüme faktörleri ile olur. DKM'nin osteoindüktif kapasitesi; kemiğin işlenmesi, saklama şekli, sterilizasyon yöntemi ve donöre göre değişebilir. Ürün; dondurulmuş-kurutulmuş toz, ezilmiş granüller veya yongalar, jel veya macun şeklinde kullanılabilir (42, 47).



## 2.7-Posterior Füzyon

Posterior spinal füzyon omurganın arka elemanlarının füzyonudur. Posterior spinal füzyonun yani artrodezin amacı omurgadaki patolojik segmental hareketi veya dekompresyon sonucu oluşmuş instabiliteyi gidermek ve bu sayede ağrıyı ve eşlik eden bulguları azaltmaktır. Posterior spinal füzyon omurganın infeksiyöz hastalıkları, adölesan skolyoz ve travma gibi nedenlerden dolayı uzun zamandan beri uygulanmaktadır. Posterior spinal füzyon omurganın arka elemanlarının dekortikasyonu ve greftlenmesi ( interspinöz-paraspinöz ) veya transvers proseslerin dekortikasyonu ve greftlenmesi şeklinde yapılabilir. Transvers prosesler arasına yapılan artrodeze posterolateral füzyon adı verilir (33).

## 2.8-Kortikosteroid Tedavisi ve Doku İyileşmesi

Hemen hemen yarım yüzyıldır araştırmacılar ve klinisyenler eksojen kortikosteroid tedavisinin doku iyileşmesi üzerine olan zararlı etkilerini tanımlamışlardır (7, 48, 49). 1950 yılında Howes ve arkadaşları; sistemik kortizol uygulamasının protein deplesyonu veya malnütrisyon ile beraber, kapiller proliferasyon ve fibroplaziyi kötü yönde etkileyerek granülasyon formasyonunu inhibe ettiğini ortaya koymuştur (7, 49). Edwards ve Dunphy perioperatif sistemik kortikosteroid tedavisinin hayvanlarda konnektif doku tamirini geciktirdiğini ve epidural rejenerasyonu baskıladığını göstermiştir. Kapanmış yaralarda gerilme direncini azalttığı, yara kontraksiyonunu etkilediği, enfeksiyona duyarlılığı artırdığı (iyileşme fazında ) da diğer araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (7, 50, 51). Deneyler erken postoperatif dönemde tekrarlanan kortikosteroid uygulamasının hızlı iyileşmeyi olumsuz etkilediğini göstermiştir (7, 52, 53).

Kortikosteroid ajanların yara iyileşmesine olumsuz etkilerinin altında yatan mekanizma şüphesiz multifaktoriyeldir ve enaz iki komponentten oluşur. İlk olarak kortikosteroidler kollajen sentezini ve depolanmasını inhibe ederler. Bunu da proli hidrokasilaz, lizil oksidaz ve kollajenaz enzim aktivitelerini uyararak yaparlar ve böylece kollajen çapraz bağlarının sentezini de önlerler (54, 55). İkinci olarak; kortikosteroidler direkt olarak yara iyileşmesi kaskadının inflamatuvar fazını inhibe

ederler (56, 57). Sonuç olarak yara yerine makrofaj göçü önlenir ve lokal büyüme faktörü ile sitokin üretimi azalır (58, 59). Beraberinde fibroblast göçü ve yapımı dolayısıyla da kollajen sentezi bozulmuştur (60, 61).

### **2.9-Kortikosteroid Tedavisi ve Kemik Metabolizması**

Kortikosteroid ajanlar kemik metabolizması üzerine güçlü etki gösterip yeni kemik oluşumunu inhibe ederek ve kemik rezorpsiyonunu artırarak kemik yapıyı bozarlar (62, 63, 64). Yeni kemik oluşumu kortikosteroidlerin osteoblast fonksiyonları üzerine direkt etkisi ile baskılanır ve bozulur (62, 65). Matriks formasyonunu inhibe edip osteoblast üretimi için gerekli olan mRNA ve osteokalsin gibi osteoblastik protein derivelerinin sentezini baskırlarlar (63, 64). Böylece osteoblastik prekürsör hücrelerin matür kemik oluşturan osteoblastlara farklılaşmasını engellerler (63).

Kemik yıkımı çeşitli mekanizmalarla hızlanır. Kortikosteroidler osteoblastik proliferasyon ve aktiviteyi stimüle eder, osteoblast aracılı kemik yıkımını artırır (64). Ek olarak bu ajanlar kalsiyumun intestinal absorpsiyonunu bozarak kalsiyum ve fosfatın her ikisinin renal atılımını artırıp toplam vücut kalsiyum depolarının azalmasına neden olurlar. Sonuç olarak ilerde ilaç kullanımına sekonder olarak rezorptif kemik kaybında artmaya neden olacak hipoparatroidizm gelişir (62, 66). Ek olarak, kortikosteroidlerin parathormonun osteoblastik fonksiyon üzerindeki aktivitesini suprese etmesini potansiyelize ettiğini gösteren kanıtlar vardır, pituiter gonadotropinleri inhibe ederek seks hormon sekresyonunu kısıtlarlar ve direkt olarak testis ve overlere etki ederler. Sonuç olarak kortikosteroidler ileri dönemde kemik rezorpsiyonuna katkıda bulunurlar (62).

### **2.10-Rat Anatomisi**

Labaratuvar ratı tipik bir omurgalıdır. İskelet sistemi, aksiyal ve appendiküler bölümlere ayrılır. Aksiyel iskelet bölümü; kafatası, omurga, sternum ve kaburgaları içerirken, appendiküler iskelet bölümü ise; pektoral kavşak, üst ekstremité, pelvis ve alt ekstremitéyi kapsar. Ratlarda kemik olgunlaşması diğer

memelilere göre daha yavaş seyirlidir. Vertebral kolon; 7 servikal, 13 torakal, 6 lumbar, 4 sakral, 27-30 arası değişen kaudal vertebradan oluşur. Spinal kord, erişkin erkek ratlarda 113-125 mm uzunlukta ve yaklaşık 0.7gr ağırlıktadır (67).

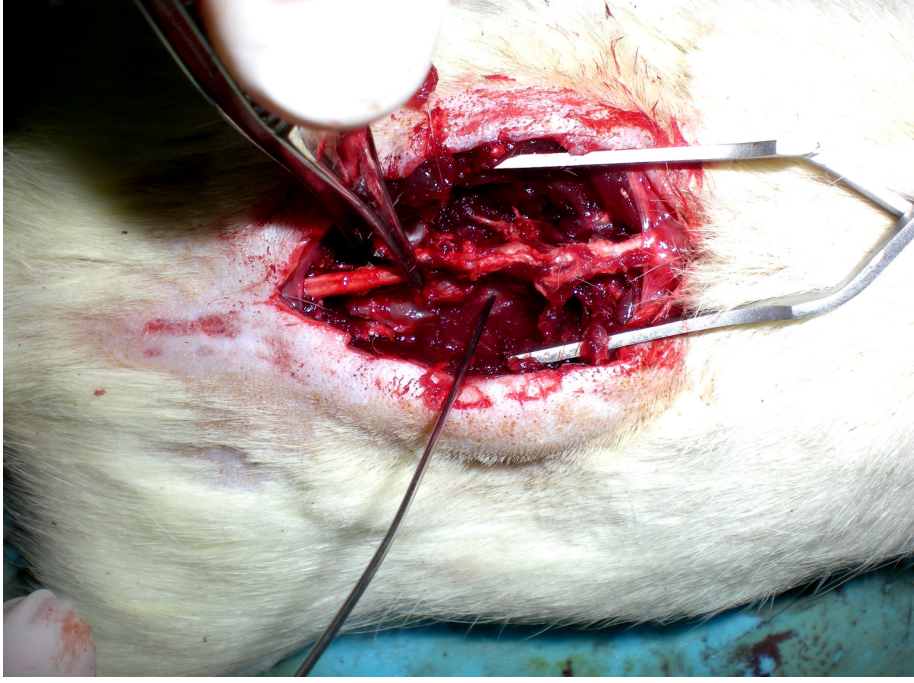
Ratın spinal kolonunun dolaşımı; abdominal aortun verdiği iliolumber dal tarafından düzenlenir. Spinal kordun venöz drenajı, uzunlamasına seyirli altı venöz kanaldan oluşur. Venöz pleksus ventralde dorsale göre daha geniş damarlardan oluşmaktadır (67).

### 3-MATERYAL VE METOD

Bu deneysel çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarında, 02.05.2008 - 20.06.2008 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmada, ortalama ağırlıkları 350gr (300-400gr) olan, 20 haftalık, 28 adet Sprague Dawley cinsi, erkek rat kullanıldı. Ratlar 12-12 saatlik ışık-karanlık siklusunda, 20-24°C'de, tek tek olacak şekilde kafeslere yerleştirildi. Ratlar, günlük 10gr rat yemi ve su ile beslendi. Çalışma süresinde, ratların kafesleri düzenli olarak 3 günde bir temizlendi. Ratlar, beslenmelerini takiben bir hafta sonra rastgele gruplara ayrıldı. Ratların, 6 tanesi kontrol grubu, 6 tanesi tek seferde yüksek doz metilprednisolon uygulanacak grup ve 6 tanesinde sürekli düşük doz metilprednisolon uygulanacak grup olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Gruplarda yapılan fizyolojinin sonuçları, radyolojik ve histolojik olarak değerlendirildi.

Anestezi sağlamak amacıyla; ratlara xylazin hidroklorid (Rompun®; Bayer Healthcare, Leverkusen, Almanya) 10mg/kg dan intraperitoneal ve ketamin hidroklorid (Ketalar®; Pfizer, İstanbul, Türkiye) 30mg/kg dan intraperitoneal olarak yapıldı. Anestezi uygulanan ratlar, yüzüstü pozisyonda iken, cerrahi uygulanacak bölge traş edildi ve %10'luk povidon iyot solüsyonu (Batticon®; Adeka, Samsun, Türkiye) ile boyandı.

Lumbar bölgeye spinöz çıkıntılar üzerinden olacak şekilde, orta hat cerrahi insizyonu yapıldı. Cilt, cilt altı ve fasya geçildikten sonra, ratların posteriorunda yer alan longissimus lumborum kası geçilerek spinöz çıkıntılar ve transvers çıkıntılar ortaya kondu. Lumbar vertebraların spinöz ve transvers çıkıntıları yumuşak dokularından temizlendi. Her iki tarafta transvers proçesler ortaya konularak ronger yardımıyla transvers proçesler dekortike edildi (Resim 1).



**Resim 1.** Spinöz proçes ve transvers proçesler ortaya konuldu.

Hazırlanan heterojen greftler (Osteoset® 2 DBM, Wright Medical Technology, Netherlands ) 3 gruptaki ratların her birine her bir tarafa ikişer tablet ezilerek yerleştirilerek lumbar bölgeye füzyon uygulandı (Resim 2).



**Resim 2.** Transvers süreçlere heterojen kemik greft yerleştirildi.

Daha sonra her iki taraf kas tabakası yaklaştırılarak cilt tel zimbalar yardımıyla kapatıldı. 2. gruba 1 ay günde 5.4mg/kg dozunda metilprednisolon (Prednol-L®, Mustafa Nevzat, İstanbul, Türkiye ) verilmek üzere intramusküler olarak ilk dozu uygulandı. 3. gruba 30 mg/kg dozunda metilprednisolon tek doz olmak üzere intramusküler olarak uygulandı. Ratlar kafeslerine kondu.

Ratlara cerrahi işlemden önce veya sonra enfeksiyon profilaksisi yapılmadı.

Tüm ratlar, 6 hafta sonra yüksek doz anestetik madde verilerek öldürüldü. Ratlar, ameliyat masasına, alt ve üst ekstremitelerinden tutturuldu. Posterior orta hat insizyonu ile cilt, cilt altı ve kas tabaka geçilerek, füzyon hattına ulaşıldı. Füzyon bölgesi, proksimalinden ve distalinden füzyon sahasına zarar vermemeye

çalışılarak, kemik makası kullanılarak kesildi. Füzyon bölgeleri, içinde % 10 formol bulunan şişelere yerleştirildi.

Çıkarılan füzyon alanlarının her birine bir numara verildi. 30×24cm'lik röntgen kasedinin üzerine numara sırasına göre konularak, dijital olarak radyolojik görüntüleri çekildi. Örnekler, şişelerine histolojik çalışma için %10 tamponlu formalin solusyonu içerisine konularak saklandı. Her bir çalışma grubundan örnekleme yapmak için kemik dokular %20' lik formik asit içinde dekalsifiye edildi. Her bir grupta ratların vertebral kolonlarından transvers ve longitudinal kesitler hazırlandı. Mikroskopik inceleme için mikrotom bıçağı kullanılarak, 4µm kalınlığında kesitler yapılarak hemotoksilen-eozin (H.E) ile boyandı. Tüm kesitler Karadeniz Teknik Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından ışık mikroskobu (Olympus BX-51) ile değerlendirilerek, mikro fotoğraflar çekildi.

Radyolojik bulgular Lenke'nin radyolojik değerlendirme sistemine göre değerlendirildi (Tablo 3) (68). Histopatolojik değerlendirmelerde ise Emery ve arkadaşlarının kullandığı skala sisteminden yararlandı (Tablo 4) (69).

**Tablo 3.** Lenke sınıflandırmasına göre radyolojik değerlendirme

|        |   |
|--------|---|
| 4 puan | Bilateral büyük solid füzyon alanları                       |
| 3 puan | Unilateral büyük- kontrilateral küçük solid füzyon alanları |
| 2 puan | Bilateral küçük solid olmayan füzyon alanları               |
| 1 puan | Bilateral greft resorpsiyonu veya bilateral psödoartrosis   |

**Tablo 4.** Emery sınıflandırmasına göre histolojik değerlendirme

| PUAN   | DOKU ÖZELLİĞİ                            |
|--------|--|
| 7 puan | Sadece kemik doku                        |
| 6 puan | Kemik doku, fibrokartilaj dokudan fazla  |
| 5 puan | Fibrokartilaj doku, kemik dokudan fazla  |
| 4 puan | Sadece fibrokartilaj doku                |
| 3 puan | Fibrokartilaj doku, fibröz dokudan fazla |
| 2 puan | Fibröz doku, fibrokartilaj dokudan fazla |
| 1 puan | Sadece fibröz doku                       |
| 0 puan | Boş adacıklar                            |

### 3.1-İstatistiksel Değerlendirme

Hem radyolojik, hem de histopatolojik verilerin analizi Kruskal Wallis Varyans Analizi (post hoc olarak Bonferroni düzeltmeli Mannn Whitney U testi) ile yapılmıştır.

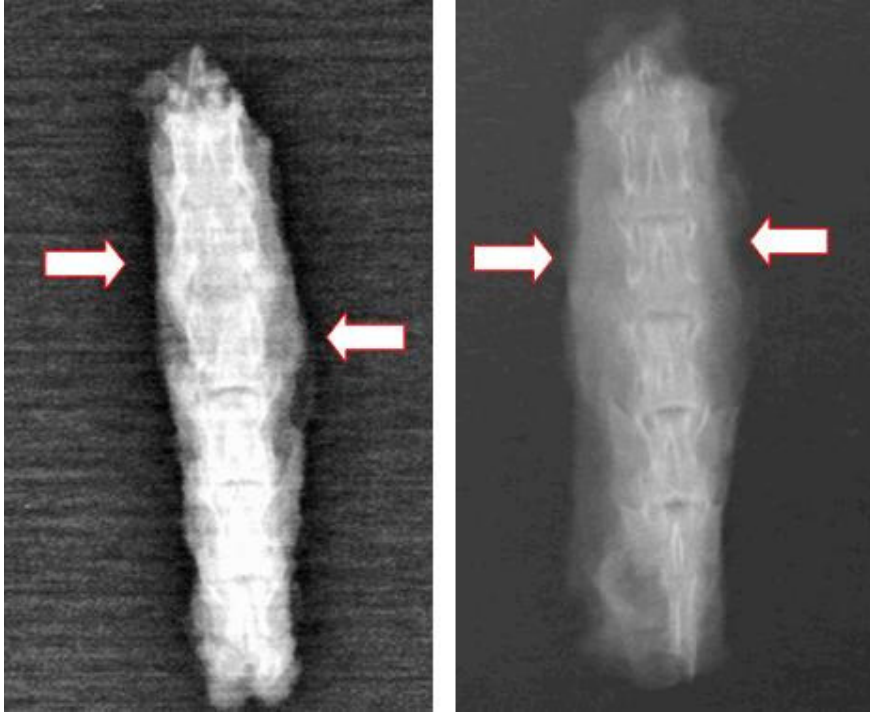


## 4-BULGULAR

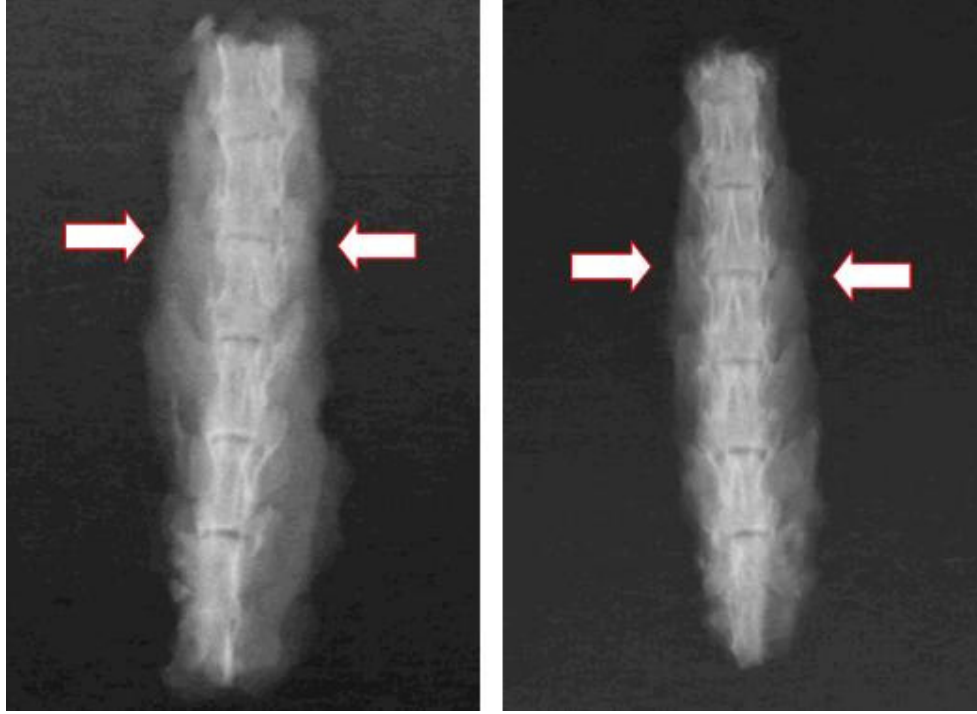
Çalışmamızda, ratlarda insizyon bölgesinde kızarıklık, koleksiyon veya akıntı yoktu. Çalışmada, ratlarda ölüm olmadı. Çalışma dışında bırakılan rat olmadı.

### 4.1-Radyolojik değerlendirme

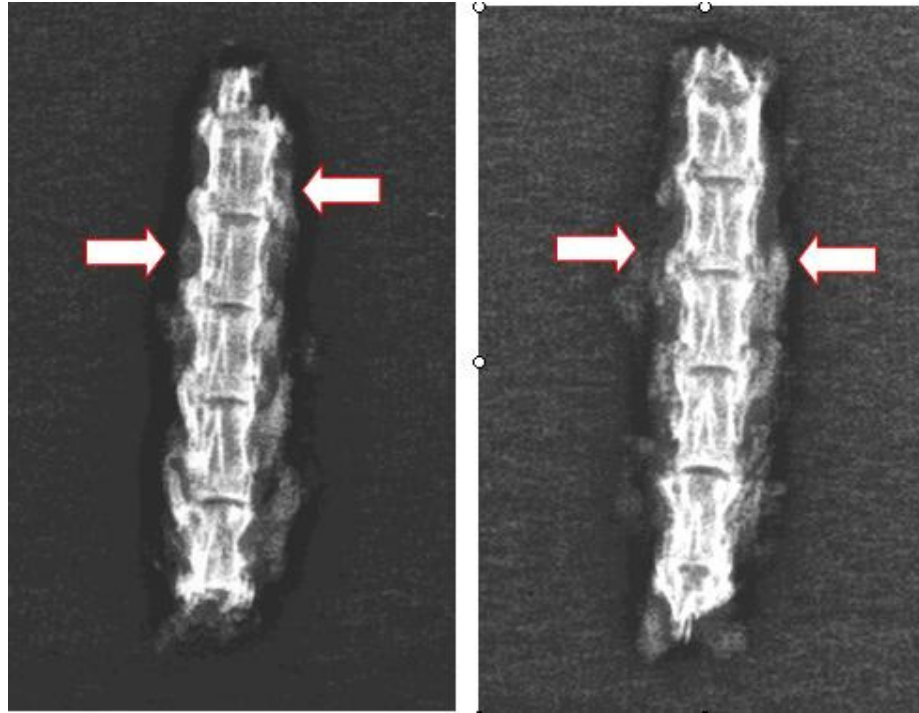
Tüm gruplarda oluşan füzyonun, 6. hafta sonunda radyolojik görüntüleri alındı (Resim 3-4-5).



**Resim 3.** 6. hafta sonunda kontrol grubundaki 2 ratın lomber bölgesindeki füzyonun radyolojik görüntülerinde, lomber bölgedeki vertebraların her iki yanında solid geniş füzyon alanları gösterilmektedir.



**Resim 4.** 6. hafta sonunda 1 ay boyunca düşük doz metilprednisolon uygulanan gruptaki 2 ratın lomber bölgesindeki füzyonun radyolojik görüntülerinde, her iki tarafta oluşan zayıf solid olmayan küçük füzyon alanları gösterilmektedir.



**Resim 5.** 6. hafta sonunda tek doz metilprednisolon uygulanan gruptaki 2 ratın lomber vertebralarındaki füzyonun radyolojik görüntüsünde, her iki tarafta greft rezorpsiyonu veya açık psödoartrozla birlikte füzyon alanları gösterilmektedir.

Kontrol ve metilprednisolon verilen gruptaki her ratın radyolojik görüntüleri, Lenke sınıflandırması kullanılarak değerlendirildi. Sonuçların ortalama rakamsal değerleri, Tablo 5’de verildi.

**Tablo 5.** 6. hafta sonunda tüm grupların radyolojik değerlendirme sonuçları

| RADYOLOJİK GÖRÜNÜM |        |           |
|--------------------|--------|-----------|
|                    | Median | Min - Max |
| Kontrol            | 3      | 3-4       |
| Sürekli Doz        | 2      | 1-3       |
| Tek Doz            | 1      | 1-2       |
| KW Ki kare         | 12.50  |           |
| p                  | 0.002  |           |

Kontrol grubunun radyolojik değerlendirmesinde, 6. hafta sonunda 1 ratta skor 4 elde edilmiş olup diğerlerinde skor 3 olarak tespit edildi. S¼rekli d¼ř¼k doz ve tek seferde y¼ksek doz metilprednisolon uygulanan gruplara g¼re daha iyi f¼zyon elde edildi. Yapılan istatistiğe g¼re de bu fark anlamlı idi ( $p=0.002$ ).

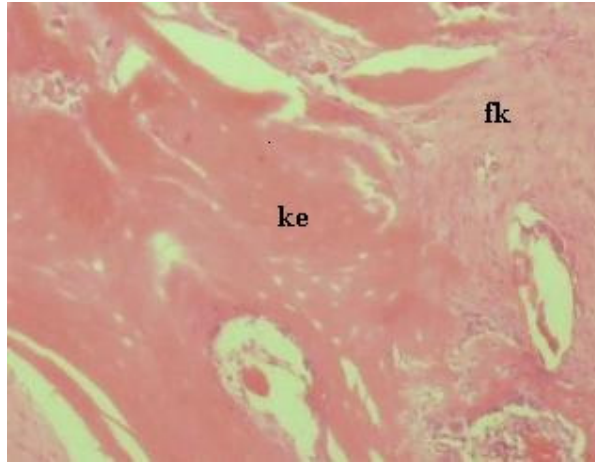
S¼rekli d¼ř¼k doz metilprednisolon uygulanan grubun yapılan radyolojik değerlendirmesinde, en y¼ksek f¼zyon skoru bir ratta 3 olarak tespit edildi. Diğer ratlarda skor 1 ve 2 olarak tespit edildi. Yapılan istatistik değerlendirmeye g¼re de fark anlamlı idi ( $p=0.007$ ).

Tek seferde y¼ksek doz metilprednisolon uygulanan grubun yapılan radyolojik değerlendirmesinde en y¼ksek skor 2 olarak tespit edildi. Diğerlerinde skor 1 idi. Buna g¼re yapılan istatistik değerlendirme de yine fark anlamlı idi ( $p=0.002$ ).

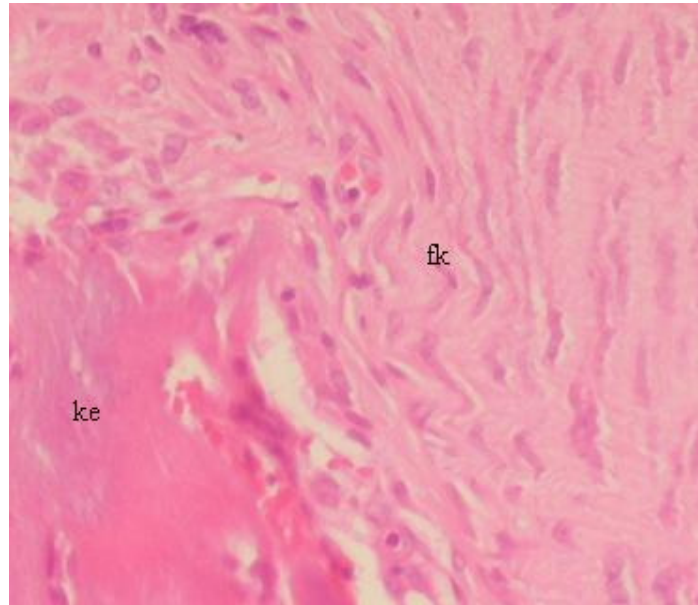
Radyolojik ağıdan istatistiksel olarak tespit edilen bu farklılığın nedeni kontrol grubunun radyolojik skorunun diğer iki gruptan y¼ksek olmasından kaynaklanmaktadır. Aynı zamanda radyolojik ağıdan s¼rekli d¼ř¼k doz metilprednisolon uygulanan grup ile tek seferde y¼ksek doz metilprednisolon uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p=0.083$ ).

#### **4.2-Histolojik Değerlendirme**

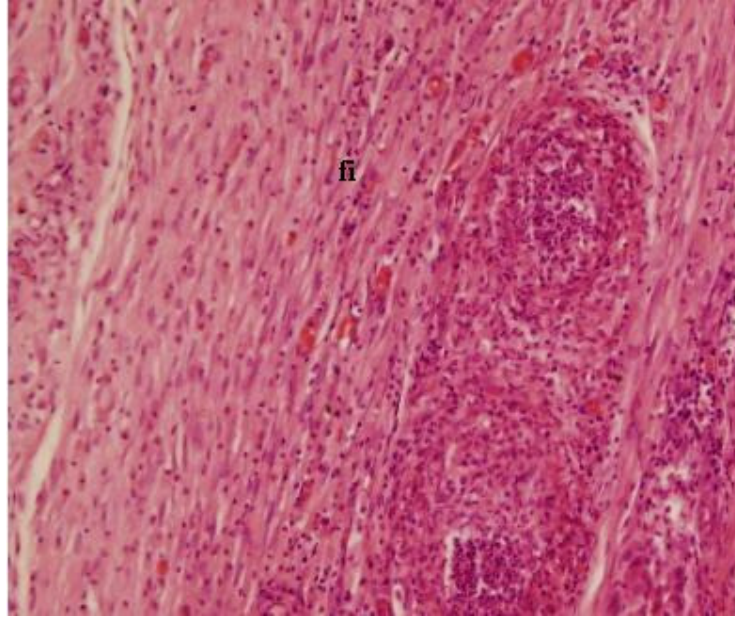
Histopatolojik incelemeler, ışık mikroskopisi ile değerlendirilerek, her gruba ait mikro-fotoğraflar çekildi (Resim 3- 4 -5 ).



**Resim 3.** 6. hafta sonunda, kontrol grubundaki füzyonun 40x büyütmede, H.E. ile boyanmış histolojik kesitinde, kemik dokunun, fibrokartilaj dokudan daha fazla oranda olduğu görüldü:(ke=kemik, fk=fibrokartilaj)



**Resim 4.** 6. hafta sonunda, sürekli düşük doz uygulanan gruptaki füzyonun 40x büyütmede, H.E. ile boyanmış histolojik kesitinde, fibrokartilaj doku, kemik dokudan daha fazla oranda görüldü: (ke=kemik, fk=fibrokartilaj)



**Resim 5.** 6. hafta sonunda, tek seferde yüksek doz metilprednisolon uygulanan gruptaki füzyonun, 40x büyütmede H.E. ile boyanmış histolojik kesitinde, fibröz dokunun daha fazla oranda olduğu görüldü. Kemik doku görülmedi. (fi=fibröz doku)

Histolojik olarak kemik doku, fibrokartilaj doku ve fibröz doku oranlarına bakılarak Emery sınıflandırmasına göre değerlendirmeler yapıldı. Sonuçların istatistiksel dağılımı Tablo-6'da verildi.

**Tablo 6.** 6. hafta tüm grupların histolojik sonuçlarının dağılımı

| HİSTOLOJİK GÖRÜNÜM |        |           |
|--------------------|--------|-----------|
|                    | Median | Min - Max |
| Kontrol            | 4      | 3 - 6     |
| Sürekli Doz        | 3      | 2 - 5     |
| Tek Doz            | 2.5    | 2 - 3     |
| KW Ki kare         | 7.064  |           |
| p                  | 0.029  |           |

Kontrol grubunun histolojik değerlendirmesinde, 6. haftada oluşan füzyonun sürekli düşük doz ve tek sefer yüksek doz metilprednisolon uygulanan gruplardan daha iyi olduğu bulundu. Bu fark, istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p=0.029$ ).

Sürekli düşük doz metilprednisolon uygulanan grubun histolojik değerlendirmesinde, 6. haftada oluşan füzyonun kontrol grubundan daha zayıf olduğu ( $p=0.029$ ), buna karşın tek seferde yüksek doz metilprednisolon uygulanan grupla arasında bir fark bulunmadığı tespit edildi. Bu durum istatistiksel olarak da anlamlı değildi ( $p=0.116$ ).

Tek seferde yüksek doz metilprednisolon uygulanan grubun histolojik değerlendirilmesinde, 6. haftada oluşan füzyonun kontrol grubundan daha zayıf olduğu bulundu ( $p=0.012$ ). Sürekli düşük doz metilprednisolon uygulanan grupla arasında füzyon açısından bir fark bulunmadı. Bu durum istatistiksel olarak da anlamlı değildi ( $p=0.116$ ).

Radyolojik ve histolojik değerlendirmelerimiz sonucunda, 6. hafta sonunda en iyi füzyonun kontrol grubunda olduğu, sürekli düşük doz metilprednisolon uygulanan gruptaki füzyon ile tek seferde yüksek doz metilprednisolon uygulanan gruptaki füzyonun kontrol grubundan daha az olduğu tespit edildi. Bunların kontrol grubuyla arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi.

## 5.TARTIŞMA

Cerrahi yöntemle bir veya daha fazla eklemi kaynaştırıp oynamaz hale getirmek artrodez veya eklem füzyonu olarak adlandırılır. Omurgada omurların anatomik ve fizyolojik düzenini sağlamak ve sürdürmek, anormal hareketleri önlemek veya ortadan kaldırmak, travma, infeksiyon ve tümör gibi destrüktif olayların yol açabileceği omurilik veya sinir kökü basısını önlemek yada sabit deformitelere engel olmak gibi değişik amaçlarla füzyon uygulanır (70). Günümüzde omurga ve omurilik yaralanmalarının en sık sebebi trafik kazaları, daha sonra düşmeler, şiddet ve spor yaralanmalarıdır.

Omurilik yaralanmasında birincil hasar mekanik çarpmanın etkisi ile pek çok şekilde gerçekleşse de, mekanik yaralanmanın tetiklediği ikincil hücresel hasar, omurilikteki hasarın zaman içinde artışı ve klinik kötüleşme ile sonuçlanır. Yaralanmadan sonra başlayan bu ikincil hasar kaskadının durdurulması yada yavaşlatılması klinik tedavinin asıl amacıdır. Akut omurilik yaralanmasında ikincil hasardan korunma nöroproteksiyon (nöral koruma) olarak adlandırılmaktadır. Bu amaçla ilaç tedavileri, doku oksijenlenmesinin düzeltilmesi, omurilik basısının kaldırılması, omurganın stabilizasyonu gibi birçok medikal ve cerrahi yaklaşım uygulanmaktadır (71).

Omurilik yaralanmasını izleyen dönemde, tedavi amacıyla değişik farmakolojik ajanlar denenmiştir. Bu ajanlar arasında; steroidler, 21 – aminosteroidler, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, gangliozidler, prostasiklin analogları ve antagonistleri, çeşitli intravenöz anestezi ajanları sayılabilir (72). Bu ajanlar arasında en çok incelenenler steroidler olmuştur. Steroidler, birincil omurilik yaralanmasında etkisiz olmasına karşın, ikincil yaralanmada, özellikle lipid peroksidasyonunu engelleyici



etkileri ile koruyucu olabilecekleri öne sürülmüştür (72). Ayrıca steroidlerin omurilik perfüzyonunu düzelttiği ve travma sonrası transmembran kalsiyum dengesini sağladıklarında gösterilmiştir (71, 73). National Acute Spinal Cord Injury Study 2/3 ( NASCIS 2/3 ) çalışmasında, omurilik yaralanmasını izleyen ilk 8 saatte 30 mg/kg/saat yükleme dozu izleyerek 5.4mg/kg/saat ( 23 saat ) verilen metilprednisolonun ikincil yıkımı engellediği saptanmıştır (71, 74).

Çalışmamızda; omurilikte ikincil hasarı önlemek veya durdurmak için uygulanan metilprednisolonun 6. hafta sonunda sürekli düşük doz ve tek seferde yüksek doz metilprednisolon uygulamasının kontrol grubuyla ve birbirleri arasında yapılan radyolojik ve histolojik değerlendirilmesinde istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu ( $p=0.002$  ve  $p=0.029$ ). Buna göre metilprednisolon füzyon üzerine olumsuz etki göstermiş olup bu etkinin yüksek doz metilprednisolon uygulanan grupla aynı olduğu tespit edildi. Metilprednisolon ile ilgili Kubeck ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada akut spinal kord injurili hastalarda NASCIS 2/3 protokolüne göre uygulanan yüksek doz metilprednisolonun ratlarda organlar üzerindeki etkileri araştırılmış ancak füzyon üzerine etkilerine bakılmamıştır. Bu çalışmaya göre özellikle yüksek doz metilprednisolon uygulanan ratlarda daha çok fulminan sepsis, pulmoner emboli, pnömoni, gastrointestinal hemoraji, yara enfeksiyonları gibi komplikasyonlara neden olabilecek organ hasarları olduğu tespit edilmiş (75). Sawn ve arkadaşları tavşanlar üzerinde 6. hafta sonunda lomber spinal bölgeye otogreft ile uygulanan füzyon üzerine deksametazonun etkilerini araştırmışlardır. Buna göre 0.05mg/kg dozunda günde iki kez uygulanan deksametazonun tek seviye lumbar spinal posterolateral füzyon yapılan tavşan modelinde kemik greft birleşimini engellediği bulunmuştur (7). Biz ise çalışmamızda birçok klinik tarafından uygulanan NASCIS 2/3 protokolündeki metilprednisolonun spinal füzyon üzerine etkilerini araştırdık. Literatürde, füzyon ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda; Huang ve arkadaşları, alendronatın spinal füzyonu olumsuz etkilediğini bildirmişlerdir (76). Dimar ve arkadaşları, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların spinal füzyonu olumsuz etkilediklerini göstermişlerdir (77). Juang ve arkadaşları, oral simvastatin kullanımının spinal füzyon üzerine olumsuz etkileri olduğunu bildirmişlerdir (78).

Tortolani ve arkadaşları da doksorubisinin tavşanlarda spinal füzyon üzerine olumsuz etkilerini göstermişlerdir (79).

Omurga füzyonunda otolog kemik grefti kullanımı zorunlu bir komponenttir. Omurganın hareketli segmentleri arasında uzun süreli stabil artrodez sağlanmasında anahtar rol oynar. Geleneksel olarak otolog kemik grefti kullanımı, bu amacı başarabilmenin altın standartıdır. Kemik indüksiyonu, kemik kondüksiyonu ve kemik gelişiminin özellikleri için doğal bir ihtiyaçtır. Otolog kemik greftinin tüm kalitesine sahip onun yerini alacak güncel bir yapı yoktur. Ayrıca iliak kanat, kemik grefti elde etmek için alınan alandaki ağrı ve hasar oluşumu açısından önemli morbidite ilişkisi nedeniyle çok sınırlıdır (80).

Travma, kemik enfeksiyonları, konjenital anomaliler, kas iskelet sistemi tümör cerrahisi, revizyon artroplasti cerrahisi ve spinal cerrahi gibi rekonstrüktif işlemler sırasında oluşan kemik defektlerini tedavi etmek amacıyla kemik greftleri ve kemik yerini tutabilecek maddeler artan sıklıkla kullanılmaktadır (81, 82). Demineralize kemik matriksi ( DKM ), osteokondüktif ve farklı derecelerde osteoindüktif bir materyal olarak kemik kayıplarını ve boşlukları doldurmak için kullanılır. DKM hızlı bir şekilde damarlanır ve aynı zamanda otolog kemik iliği için iyi bir taşıyıcıdır. Urist ve arkadaşları tarafından tarif edilen ve daha sonra Reddi ve Huggins tarafından geliştirilen standardize edilmiş yöntemle DKM elde edilir (83, 84). Biz çalışmamızda spinal füzyonda günümüzde de daha çok tercih edilen heterojen greftleri (Osteoset® 2 DBM, Wright Medical Technology, Netherlands ) kullandık.

Sonuç olarak biz çalışmamızda uygulanan yüksek doz metilprednisolon ( 30mg/kg/tek doz ) tedavisinin, sürekli düşük doz ( 5.4mg/kg/gün ) metilprednisolon tedavisinin spinal füzyon üzerine olumsuz etkileri olduğunu gösterdik.

## 6-SONUÇLAR

1- Posterior spinal füzyonda bir glukokortikoid olan metilprednisolonun füzyonu olumsuz etkilediği, yüksek doz metilprednisolon uygulaması ile sürekli düşük doz metilprednisolon uygulamasının füzyon üzerine olumsuz etkileri arasında bir fark olmadığı bulunmuştur.

2- 6. hafta sonunda spinal füzyonun histolojik ve radyolojik sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesinde tüm grupların birbirleri arasında anlamlı fark oluşturdukları tespit edilmiştir.

3- 6. hafta sonunda heterojen kemik greft uygulamasıyla kontrol grubunda anlamlı fark oluşturacak füzyonun elde edilebileceğini belirledik.

4- Çalışmamızda ratlarda yan etki ve komplikasyona rastlanmadı.

5- Günümüzde çoğu klinik tarafından uygulanan NASCİS 2/3 protokolünün metilprednisolon uygulamasının klinik yararları yanında zararlarının da olduğu ve tedavi planlanırken bunların da göz önünde bulundurulması gerektiği sonucuna vardık.

## 7-ÖZET

### **METİLPREDNİSOLONUN POSTEROLATERAL SPİNAL FÜZYON ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ**

Çalışmamızda, metilprednisolonun posterior vertebral füzyon üzerine etkileri araştırıldı. Bu amaçla 18 adet Sprague Dawley tipi erkek rat kullanıldı. Ratlar 6 rattan oluşan 3 gruba ayrıldı. Gruplar; kontrol, yüksek doz metilprednisolon ve sürekli düşük doz metilprednisolon uygulanan grup olarak adlandırıldı.

Çalışmamızdaki tüm ratlara heterojen greftle posterolateral füzyon uygulandı. Kontrol grubundaki ratlara metilprednisolon uygulanmadı. Yüksek doz metilprednisolon grubuna 30mg/kg intramusküler tek doz metilprednisolon uygulandı. Düşük doz grubundaki ratlara 5.4mg/kg metilprednisolon 30 gün boyunca hergün intramusküler olarak uygulandı. 6 hafta sonunda tüm ratlar yüksek doz anestezi verilerek öldürüldü ve füzyon bölgeleri radyolojik ve histopatolojik değerlendirilmeleri için çıkarılıp hazırlandı.

Sonuçlar Lenke radyolojik değerlendirme skalasına göre ve Emery histolojik değerlendirme skalasına göre değerlendirildi.

Biz çalışmamızda, yüksek ve düşük doz metilprednisolon uygulamalarının posterolateral spinal füzyon üzerine olumsuz etkileri olduğunu gösterdik.

## **8-SUMMARY**

### **THE EFFECTS OF METHYLPREDNISOLONE ON POSTEROLATERAL SPINAL FUSION**

In our study examined effects of methylprednisolone on posterior vertebral fusion. 18 male Sprague Dawley species male rats were used in this study. Rats were classified into three groups of six rats. The groups were named as control, high dose methylprednisolone and continuous low dose methylprednisolone group.

Posterolateral fusion with heterogeneous graft was performed to all rats in the study. No methylprednisolone was administered to the rats in the control group. 30mg/kg intramuscularly methylprednisolone was administered once to the rats in the high dose methylprednisolone group. 5.4mg/kg methylprednisolone was administered to the rats in the low dose continuous methylprednisolone group for 30 days. 6 weeks later, all rats were killed with high dose anesthesia and fusion sites were excised and prepared for radiological and histopathological examinations.

Radiological evaluation was performed according to Lenke classification and histopathological examination was performed with Emery scale.

In our study, we demonstrated that both high and low dose of have negative effects on posterolateral spinal fusion.

## 9-KAYNAKLAR

1. M. Zileli, F. Özer: Omurilik ve Omurga Cerrahisi. 2. Baskı, s:209-215, 2002.
2. Katz J: Lumbar spinal fusion: surgical rates, costs and complications. Spine 20: p78-83, 1995.
3. Cleveland M, Bosworth D, Thomson F: Pseudoarthrosis in the lumbosacral spine. J Bone Joint Surg Am 30: p302-311, 1948.
4. DePalma AF, Rothman RH: The nature of pseudoarthrosis. Clin Orthop 59: p113, 1968.
5. Stauffer R, Coventry M: Posterolateral lumbar spine fusion. J Bone Joint Surg Am 54: p1195-1204, 1972
6. Steinmann J, Herkowitz H: Pseudoarthrosis of the spine. Clin Orthop 284:80, 1992
7. Paul D. Sawn, Curtis A. Dickman, Neil R. Crawford, M. Stephen Melton, William D. Bichard, Volker K. H. Sonntag: The effects of dexamethasone on bone fusion in an experimental model of posterolateral lumbar spinal arthrodesis. J Neurosurg (Spine 1) 94:76-81, 2001

8. M. Zileli, F. Özer: Omurilik ve Omurga Cerrahisi. 2. Baskı, s:813-831, 2002.
9. Behrman DL, Bresnahan JC, Beattie MS: Modelling of acute spinal cord injury in the rat: neuroprotection and enhanced recovery with methylprednisolone, U-74006F and YM-14673 high 1. *Exp Neurol* 126:61-75, 1994.
10. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, et al.: A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal cord injury. *N Engl J Med* 322:1405-1411, 1990.
11. Bracken MB, Shepard MJ, Hellenbrand KG: Methylprednisolone and neurological function one year after spinal cord injury. *J Neurosurg* 63:704-713, 1985.
12. Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR, et al.: Methylprednisolone or trilazad mesilate administration after acute spinal cord injury: 1 year follow up. Results of the third National Acute Spinal Cord Injury Randomized controlled trial. *J Neurosurg* 89:699-706, 1998.
13. Copenhaver WM, Kelly DE, Wood RL: The connective tissues: cartilage and bone, in Copenhaver WM, Kelly DE, Wood RL (eds): *Bailey's Textbook of Histology*, ed 17. Baltimore: Williams&Wilkins, pp170-205, 1978.
14. Recker RR: Embryology, anatomy and microstructure of bone, in Coe FL, Favus MJ (eds): *Disorders of bone and mineral metabolism*. New York: raven, pp219-240, 1992.
15. Dee R: Bone healing, in Dee R, Mango E, Hurst E, (eds): *Principles of orthopedic practise*. New York: Mc Graw-Hill, pp68-73, 1988.

16. Herron LD, Newman MH: The failure of ethylene oxide gassterilized freeze-dried bone graft for thoracic and lumbar spinal fusion. *Spine* 14, p496-500, 1989.
17. White AA III, Hirsch C: AN experimental study of the immediate load bearing capacity, of some commonly used iliac bone grafts. *Acta Orthop Scand* 42, p482-490, 1971.
18. Muschler G, Lane J, Dawson E: The biology of spinal fusion. Berlin: Springer Verlag, p9-21, 1990.
19. Prolo DJ: Biology of bone fusion. *Clin Neurosurg* 36, p135-146, 1990. (1-r61)
20. Gore DR, Gardner GM, Sepic SB, et al. : Function following partial fibulectomy. *Clin Orthop* 220:206, 1987.
21. Kalfas IH: Principles of bone healing. *Neurosurg Focus* 10, p1-4, 2001.
22. Moeller KH, Lawrence DP: Hernia through an iliac bone graft defect. *Military Medicine* 161, p176-178, 1996.
23. Lane JM, Muschler GF, Kurz LT, et al. : Spinal fusion, in Rothmans RH, Simeone FA (eds): *The Spine*. Philadelphia: WB Saunders, pp1739-1755, 1992.
24. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, et al. : Novel regulators of bone formation: molecular clones and actives. *Science* 242:1528-1534, 1988.
25. Aldinger G, Herr G, Kusswetter w, et al. : Bone morphogenic protein: a review. *Intern Orthop (SICOT)* 15:169-177, 1991.



26. Smith GW, Robinson RA: The treatment of certain cervical spine disorders by the anterior removal of the intervertebral disc and interbody fusion. *J Bone Joint Surg* 40A:607, 1958.
27. Boden S, Summer D: Biologic factors affecting spinal fusion and bone regeneration. *Spine* 20, p102-112, 1995
28. Lane JM, Sandhu H: Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am* 18:213, 1987.
29. Summer B, Eisenstein S: Donor site pain from the ileum. *J Bone Joint Surg Br* 71:677-680, 1989.
30. Boden SD, Schmandle JH, Hutton WC: An experimental intertransverse process spinal fusion model. Radiographic, histologic and biomechanical healing characteristics. *Spine* 20:412-420, 1995.
31. Bishop RC, Moore KA, Hadley MN: Anterior cervical interbody fusion using autogenetic and allogeneic bone graft substrate: a prospective comparative analysis. *J Neurosurg* 85:206-210, 1996.
32. Blumenthal S, Baker J, Dosset A, Selby D: The role of anterior lumbar fusion for internal disc disruption. *Spine* 13:566-569, 1988.
33. Yazar T, Altun N: Dejeneratif omurga hastalıkları Türk Omurga Derneği Yayınları, No:2, s.707-736, 2007
34. DePalma AF, Rothman RH, Lewinnek GE, et al. : Anterior interbody fusion for severe cervical disc degeneration. *Surg Gynecol Obstet* 134:755-758, (1-r75), 1972.

35. Whitecloud TS III: Complications of anterior cervical fusion. Instr Course Lect 27:223-227 (1-75), 1976.
36. Murscler G, Lane J: Orthopedic surgery. In: Habal M,Reddi A (eds) Bone grafts and bone substitutes. WB Saunders, Philadelphia, 1992.
37. Bauwart C, Asher M, Hassanein R: İliac crest bone graft harvest donor site morbidity:a statistical evaluation. Spine 13:566-569, 1995.
38. CockinJ: Autologous bone grafting complications at the donor-site. J Bone Joint Surg Br 53:253, 1980.
39. Ferynhough JC, Schimandle J, Weigel M, Edwards C, Levine A: Chronic donor-site pain complicating bone graft harvesting from the posterior iliac crest for spinal fusion. Spine 17:1474-1480, 1992.
40. Kurz L, Garfin S, Bouth R: Harvesting autologous iliac bone grafts:a review of complications and techniques. Spine 14:1234-1331, 1989.
41. Younger E, Chapman M: Morbidity in bone graft donor site. J Orthop. Trauma 3:192-195, 1989.
42. Aykın Şimşek, Gökhan Çakmak,Erdal Cila: Kemik greftleri ve kemik greftlerinin yrini tutabilecek maddeler. TOTBİD Dergisi, cilt 3, sayı 3-4, 2004
43. Swenson CL, Arnoczky SP: Demineralization for inactivation of infectious retrovirus in systemically infected cortical bone: in vitro and in vivo experimental studies. J Bone Joint Surg Am, 85-A(2):323-32, 2003.

44. Tomford WW, Starkweather RJ, Goldman MH: A study of the clinical incidence of infection in the use of banked allograft bone. *J Bone Joint Surg Am*, 63-A(2):244-8, 1981.
45. Tomford WW, Thongphasuk J, Mankin HJ, Ferraro MJ: Frozen musculoskeletal allografts. A study of the clinical incidence and causes of infection associated with their use. *J Bone Joint Surg Am*, 72-A(8):1 137-43, 1990.
46. Fleming JE Jr, Cornell CN, Muschler GF: Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. *Orthop Clin North Am* 31(3):357-74, 2000.
47. Finkemeier CG: Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J Bone Joint Surg Am* 84-A(3):454-64, 2002.
48. Findlay CW, Howes EL: The combined effect of cortisone and partial protein depletion on wound healing, *N Engl J Med* 246:597-604, 1952.
49. Howes EL, Plotz CM, Blunt JW Jr, et al. : Retardation of wound healing by cortisone. *Surgry* 28:177, 1950.
50. Ehrlich HP, Hunt TK: Effects of cortisone and anabolic steroids on the tensile strength of healing wounds. *Ann Surg* 170:203-206, 1969.
51. Stephens FO, Dunphy JE, Hunt TK: Effects of delayed administration of corticosteroids on wound contraction. *Ann Surg* 173:214-218, 1971.
52. Pollack SV: Systemic medications and wound healing. **Int J Dermatol** 21:489-496, 1982.

53. Sandberg N: Time relationship between administration of cortisone and wound healing in rats. **Acta Chir Scand** **127**:455–466, 1964.
54. Benson SC, LuValle PA: Inhibition of lysyl oxidase and prolyl hydroxylase activity in glucocorticoid treated rats. **Biochem Biophys Res Commun** **99**:557–562, 1981.
55. Cutroneo KR, Costello D, Fuller GC: Alteration of proline hydroxylase activity by glucocorticoids. **Biochem Pharmacol** **20**:2797–2804, 1971.
56. Ehrlich HP, Hunt TK: Effects of cortisone and vitamin A on wound healing. **Ann Surg** **167**:324–328, 1968.
57. Ehrlich HP, Tarver H, Hunt TK: Effects of vitamin A and glucocorticoids upon inflammation and collagen synthesis. **Ann Surg** **177**:222–227, 1973.
58. Baybutt HN, Holsboer F: Inhibition of macrophage differentiation and function by cortisol. **Endocrinology** **127**:476–480, 1990.
59. Leibovich SJ, Ross R: The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. **Am J Pathol** **78**:71–100, 1975.
60. Fauci AS, Dale DC, Balow JE: Glucocorticosteroid therapy: mechanisms of action and clinical considerations. **Ann Intern Med** **84**:304–315, 1976.
61. Harvey W, Grahame R, Panayi GS: Effects of steroid hormones on human fibroblasts in vitro. I. Glucocorticoid action on cell growth and collagen synthesis. **Ann Rheum Dis** **33**:437–441, 1974.

62. Picado C, Luengo M: Corticosteroid-induced bone loss. Prevention and management. **Drug Saf** 15:347–359, 1996.
63. Sambrook PN, Jones G: Corticosteroid osteoporosis. **Br J Rheumatol** 34: 8-12, 1995.
64. Worth H, Stammen D, Keck E: Therapy of steroid-induced bone loss in adult asthmatics with calcium, vitamin D, and a diphosphonate. **Am J Respir Crit Care Med** 150:394–397, 1994.
65. Prummel MF, Wiersinga WM, Lips P, et al: The course of biochemical parameters of bone turnover during treatment with corticosteroids. **J Clin Endocrinol Metab** 72:382–386, 1991.
66. Suzuki Y, Ichikawa Y, Saito E, et al: Importance of increased urinary calcium excretion in the development of secondary hyperparathyroidism of patients under glucocorticoid therapy. **Metabolism** 32:151–156, 1983.
67. Bayramiçli M: Deneysel mikrobiyoloji (ARGOS iletişim hizmetleri reklamcılık ve ticaret A.Ş.), 1. Baskı, İstanbul, s.122,128,155, 2005.
68. Moazzaz, Payam B A, Gupta, Munish C, Gilotra, Mudit M, Gilotra, Mohit N BS, Maitra, Sukanta BA, Theerajunyaporn, Thongchai MD, Chen, James L MPH, Reddi, Hari A, Martin, Bruce R: Estrogen-dependent actions of bone morphogenetic protein-7 on spine fusion in rats. *Spine*, Vol.30(15): 1706-1711, 2005.
69. Emery S A, Brazinski MS, Koka A, Bensusan JS, Stevenson S: The biological and biomechanical effects of irradiation on anterior spinal bone grafts in a canine model. *The Journal of Bone and Joint Surg*, 76-A:540-548, 1994.

70. Selçuk Palaoglu: Spinal Füzyon. Türk Nöroşirurji Derneği Spinal Cerrahi Grubu Yayınları, No:2, s18, 2002.
71. Murat Hancı, Sedat Çağlı: Omurga ve omurilik yaralanmaları. Türk Nöroşirurji Derneği Spinal ve Periferik Cerrahi Grubu Yayınları No:6, s17-53, 2007.
72. Hall ED, Yonkers PA, Andrus PK, et al. : Biochemistry and pharmacology of lipid antioxidants in acute brain and spinal cord injury. J Neurotrauma 9:425-442, 1992.
73. Young W: Secondary CNS injury. J Neurotrauma
74. Bracken MB, Shephard MJ, Holford TR, et al. : Administration of methylprednisolone for 24 or 48 hours or trilizad mesylate for 48 hours in the treatment of acute spinal cord injury: Results of the third national acute spinal cord injury randomized controlled trial. National Acute Spinal Cord Injury Study, JAMA 277:1597-1604, 1997.
75. **Justin P. Kubeck, Andrew Merola, Sameer Mathur, Mario Brkaric, Kamran Majid, Nael Shanti, Steve Caruso, Sontang Yuan, Thomas Lowe, Anthony Dwyer, Thomas Haher, and Michael O'Brien: End Organ Effects of High-Dose Human Equivalent Methylprednisolone in a Spinal Cord Injury Rat Model. MD& SPINE Volume 31, Number 3, pp 257–261, 2006.**
76. Huang, Russel C MD, Khan, Safdar N MD, Sandhu, Harvinder S MD, Metzl, Joshua A BS, Frank P Jr MD, Zheng, Fengyu MD, Sama, Andrew A MD, Lane, Joseph M MD: Alendronate inhibits spine fusion in a rat model. The Spine, Vol. 30:2516-2522, 2005.

- 77.** Dimar, John R II MD, Ante, William A, BS: Zhang, Y Ping PhD, Glassmann, Steven D MD: The effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on posterior spinal fusions in the rat. *The Spine*, Vol. 21:1870-1876, 1996.
- 78.** Albert Juang Ming Yee MD, Hyun W, Bae MD, Darin Friess MD, Sandie M. Roth MSc, Cari Whyne PhD, Mark Robbin MD, Brian Johnstone PhD, Jung U. Yoo MD: The use of simvastatin in rabbit posterolateral lumbar intertransverse process spine fusion. *The Spine Journal*, Vol. 6:391-396, 2006.
- 79.** P. Justin Tortolani, Andrew E. Park, John Louis-Ugbo, Emad S. Attallah-Wasef, Chaiwat Kraiwattanapong, John G. Heller, Scott D. Boden, S. Tim Yoon: The effects of doxorubicin (adriamycin) on spinal fusion: an experimental model of posterolateral lumbar spinal arthrodesis. *The Spine Journal* 4:669–674, 2004.
- 80.** Michael L. Salamon, Peter L. Althausen, Munish C. Gupta, and Justin Laubach: The Effects of BMP-7 in a Rat Posterolateral Intertransverse Process Fusion Model. *Journal of Spinal Disorders and Techniques* Vol. 16, No. 1, pp. 90–95, 2003.
- 81.** Greenwald AS, Boden SD, Goldberg VM, Khan Y, Laurencin CT, Rosier RN: Bone-graft substitutes: facts, fictions, and applications. *J Bone Joint Surg Am*, 83 A(Suppl 2, Pt 2):98-103, 2001.
- 82.** Szpalski M, Gunzburg R: Applications of calcium phosphatebased cancellous bone void fillers in trauma surgery. *Orthopedics*, 25(5 Suppl):601-9, 2002.
- 83.** Urist MR, Silverman BF, Buring K, Dubuc FL, Rosenberg JM: The bone induction principle. *Clin Orthop*, 53:243-83, 1967.

- 84.** Urist MR, Dawson E: Intertransverse process fusion with the aid of chemosterilized autolyzed antigen-extracted allogenic (AAA) bone. Clin Orthop, 154:97-113, 1981.