

# Spinal Cerrahide Gelecek Vaat Eden Moleküler Gelişmeler

## Promising Molecular Developments in Spinal Surgery

Numan Karaarslan<sup>1\*</sup>, Duygu Yaşar Şirin<sup>2</sup>, İbrahim Yılmaz<sup>3</sup>, Hanefi Özbek<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Tekirdağ

<sup>2</sup>Namık Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Tekirdağ

<sup>3</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada, dünya genelinde yapılan çalışmalar içerisinde, omurga patolojisinin giderilmesinde araştırılan, moleküler düzeyde gerçekleştirilen hücre bazlı hedef tedavilerin, sistematik olarak incelenip, konu hakkında daha büyük bir fotoğrafı görebilmek amaçlandı.

**Gereçler ve Yöntem:** Bu çalışmada, dil kısıtlaması olmaksızın; the cochrane collaboration the cochrane, the cochrane library, ovid medline, proquest, us national library of medicine National Institutes of Health (NLM) ve PubMed, elektronik veritabanlarında, Ağustos 1888 ile 8 Ocak 2018 tarihleri arasında, "target therapy" ve "spinal surgery" ile ilgili yapılan ve basılmış olan klinik çalışmalar "AND", "OR" şeklinde literatür taraması yapılarak incelendi. Elde edilen çalışmalar arasından, inceleme kriterlerini karşılayan makaleler araştırmaya dahil edildi. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi esnasında sonuçlar, Microsoft Office Excel (2013) Programı yardımı ile adet cinsinden gösterildi.

**Bulgular:** İlk tarama sonrasında ortaya konan 1.812.000 adet makaleden, araştırma kriterlerini sağlayan konu ile ilişkili, altı adet makalenin olduğu görüldü.

**Sonuç:** Spinal cerrahi alanında kullanılabilecek olan hedef tedavilere yönelik araştırmalar hakkında yeterli bir kanıt bulunamamıştır. Klinik kullanımına ilişkin yorum yapabilmek amacıyla başta in-vivo olmak üzere, daha uzun dönem fonksiyonel sonuçlar veren, randomize kontrollü ve klinik tasarımlara sahip çalışmalara acil ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Büyüme faktörü, gen susturulması, hedef tedavi, ilaç taşıma sistemi, kontrollü salım, omurga cerrahisi

### ABSTRACT

**Introduction:** In this study, it was aimed to investigate systematically the cellular based target treatments performed at the molecular level concerning spinal pathology and to show a broader profile about the subject.

**Materials and Methods:** Clinical trials concerning target therapy and spinal surgery conducted between August 1, 1888 and January 8, 2018, in the Cochrane Collaboration, the Cochrane Library, Ovid Medline, ProQuest, the National Library of Medicine, and the PubMed electronic databases, were scanned using terms "OR", "AND" without language and country restrictions. The articles that met the examination criteria were included in the study. After descriptive statistical evaluation, the results were reported in number with the help of the Microsoft Office Excel (2013) Program.

**Results:** After scanning 1.812.000 articles, it was seen that there were 6 articles that met the research criteria.

**Conclusion:** It was not found sufficient evidence for research into target treatments that can be used in the field of spinal surgery. In order to be able to make a remark on the clinical use, there is an urgent need for in-vivo studies and for trials with randomized, controlled and clinical designs that provide long-term functional outcomes.

**Key Words:** Controlled release, drug delivery systems, gene silencing, growth factor, spinal surgery, target therapy

### Giriş

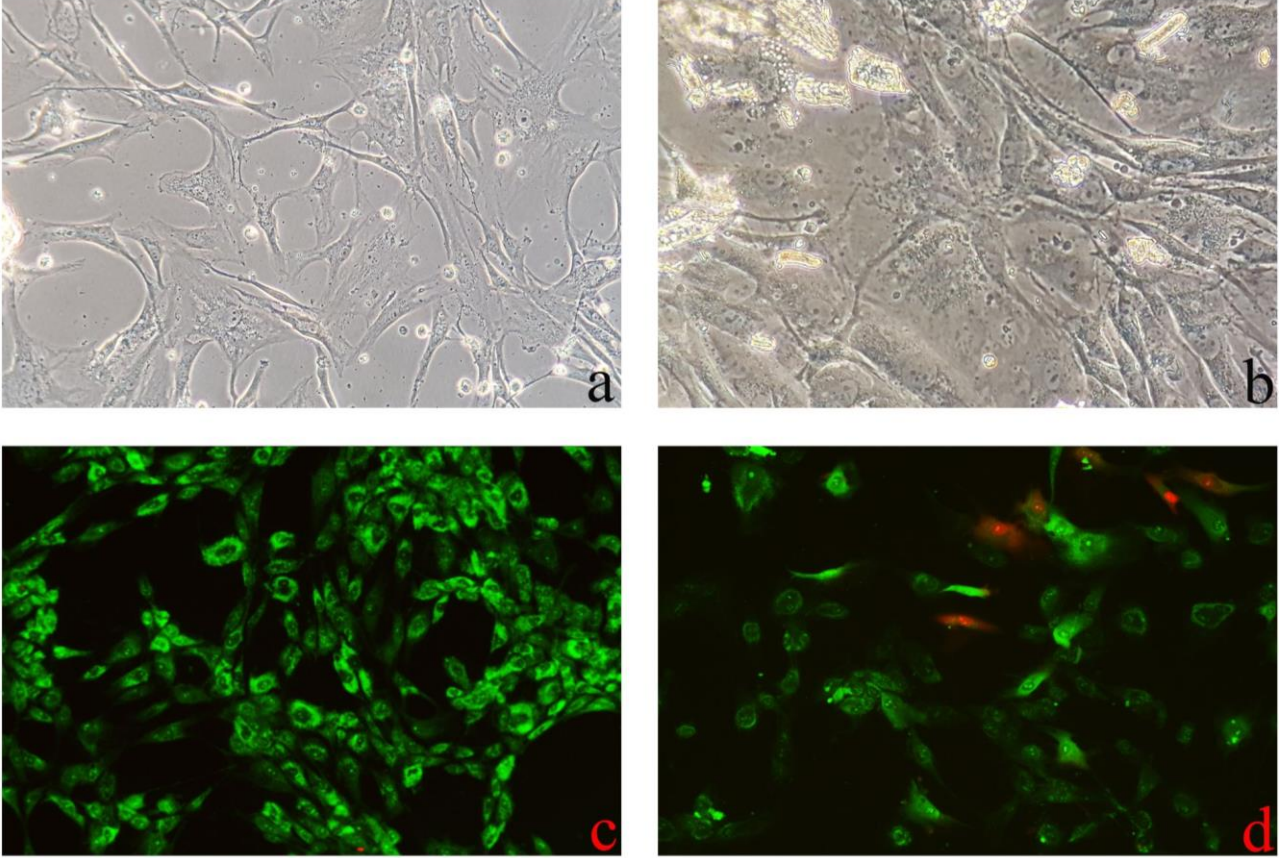
Konservatif tedavi modaliteleri arasında ilk olarak başvurulan yöntem; medikal tedavi prosedürleridir. Bel ağrılı olgularda farmakolojik tedavi

semptomatik olup, ilk olarak steroid yapıda olmayan antiinflatuar ilaç (NSAI)'lar tercih edilmektedir. Bunun yanı sıra myelorelaksanlar, opioid analjezikler ve steroid enjeksiyonları da semptomların şiddetine göre önerilebilmektedir(1).

\*Sorumlu Yazar: Yrd. Doç. Dr. Numan Karaarslan, Namık Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, 59100, Tekirdağ

E-mail: numikara@yahoo.com, Tel: 0 (282) 250 50 00 Faks: 0 (282) 250 99 28

Geliş Tarihi: 09.02.2018, Kabul Tarihi: 27.03.2018



**Resim 1.** İlaçların primer insan intervertebral disk hücrelerine ait hüresel toksisitesinin, acridin orange/propidium iodid boyanması sonrası invert ışık mikroskopisine ait görüntüleri. a) Canlı, sağlıklı ve proliferasyona devam eden hücreler; b) Hüresel ölümlerin başladığı, soluk partiküler hücre ve hüresel yapılar; c) ve d) canlı ve sağlıklı olup proliferasyona devam eden hücrelerin yeşil renkte, kırmızı renk ise, özellikle çekirdek yapıların ölü olduğu hücreleri göstermektedir.

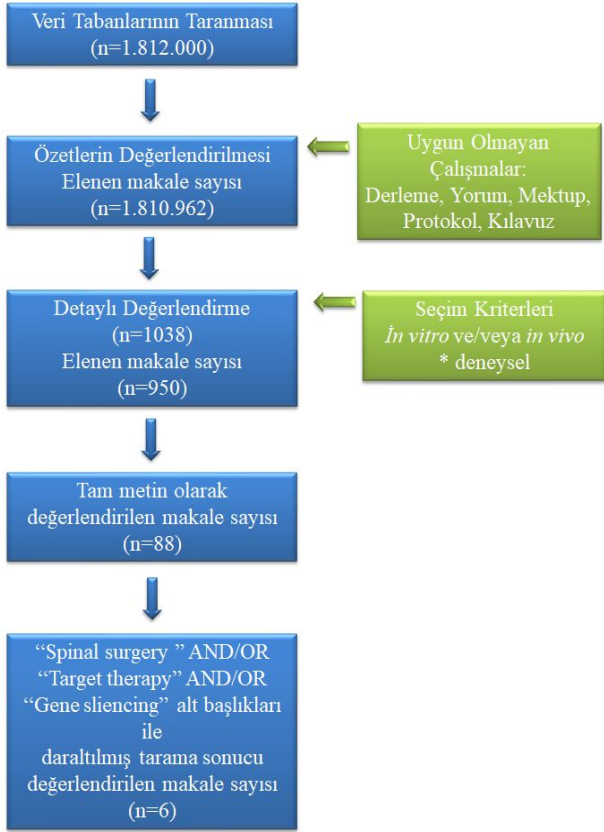
Bu tedavi şeması içerisinde etkinliği plesoboya göre kanıtlanmış tek farmakolojik ajan grubu NSAİ'lar olup, diğer ajanların bel ve boyun ağrılarının semptomatik tedavisindeki başarısını araştıran, kanıt değeri yüksek çalışmalar kısıtlı sayıda (2).

Tüm bunlara ek olarak, tedavide kullanılan ilaçların metabolizmasına bağlı olarak, istenmeyen reaksiyonlar meydana gelmekte ve genellikle hastanın vücudunda olumsuz etkiler oluşabilmektedir. Bu yüzden, hastalığın meydana geldiği hedef bölgede, seçiciliği ve düşük dozda etken madde kullanılarak, ilacın güvenli terapötik indeksinin korunarak, belirgin bir şekilde düzenlenebileceği, bölgeye özgü ilaç taşıma sistemlerine yönelik araştırmalar hız kazanmaktadır (3).

Konservatif tedavi seçeneklerinden bir diğeri olan fizik tedavi yöntemleri ise hastalarda öykü ve fizik muayene bulgularına göre şekillenmektedir. Bu amaçla tanımlanmış birçok fizik tedavi yöntemi bulunmaktadır. Bunlar; kuvvetlendirme, germe,

aerobik egzersizler, postür kontrolü egzersizleri, anahtar kas gruplarının motor koordinasyonu prensibine dayanan lomber stabilizasyon egzersizleri, *McKenzie* yönel tercih egzersizleri, plates, yoga ve *Tai Chi* gibi egzersiz çeşitleri, soğuk uygulamalar, korse ve ortez kullanımı gibi yöntemlerdir (4). Seçilecek tedavi şeklinin birbirine üstünlüğü olamamakla birlikte, yapılan araştırmalarda uygulanan fizik tedavi yönteminin süresi, sıklığı ve dozu her çalışmada farklılık göstermektedir. Bu nedenle fizik tedavi uygulamalarının etkinliğinin tam olarak değerlendirilmesinde kısıtlılık olduğu bildirilmektedir (5). Ayrıca bu egzersiz tedavilerinin, ağrı ve fonksiyonel düzelmeye üzerine olumlu etkileri olduğuna dair çalışmalar olmasına karşın, bu araştırmaların kanıt değeri düşüktür (6).

Konservatif tedavi seçenekleri dışında; omurganın dejeneratif ve intervertebral disk hastalıklarında medikal tedavi ve fizik tedavi uygulamalarına yanıtız olgularda, cerrahi tedavi modiliteleri uygulanmaktadır. Bu amaçla, omurgadaki patolojiye yönelik, açık ve mikro diskektomiler,



Şekil 2. Yayın tarama süreci

füzyonlu veya füzyonsuz dekompresyonlar, endoskopik cerrahi girişimler, minimal invaziv müdahaleler gibi birçok cerrahi girişim tekniği uygulanmaktadır. Fakat gerek cerrahi girişim yolu gerek cerrahi teknik gerekse hastaya ait risklere bağlı olarak, spinal cerrahi operasyonlarda komplikasyon riski %89'lara varabilmektedir. Bu komplikasyonlar ise; intraoperatif kan kaybı, nörolojik zedelenme, dural hasarlar, enstrüman komplikasyonları, büyük damar yaralanmaları, üreter yaralanmaları, post-operatif cerrahi alan hematomları, yara yeri enfeksiyonları, pulmoner ve gastrointestinal sistem komplikasyonları, psödoartrozlar ve komşu segment dejenerasyonları gibi patolojilerdir (8).

Bu tür başarısızlıklardan dolayı, dokuların moleküler tabanlı ve biyolojik düzeyde tamir edilebilmesi için, içeriğinde hücrel stimülasyonları indükleyebilecek olan moleküllerin araştırılmasına yönelinilmektedir. Hem bu sebeplerden hem de gelişen farmasötik teknolojinin de yardımı ile, tıbbın bütün alanlarında olduğu gibi beyin ve sinir cerrahisi alanında da moleküler tabanlı biyolojik tamirlerin temel alındığı, “target therapy” olarak adlandırılan hedef tedavilere yönelik araştırmalar popülerite kazanmaktadır (9).

Moleküler branşlar sayesinde başta kanser tedavisi için; tümör aşuları, hasarlı genin susturulması ve/veya onarılması, monoklonal antikor, çeşitli enzimler ve hormonların üretimi ya da ilaçların hücre siklusuna olan etkisi, hücre içi aktivite ölçümü, sinyal iletim mekanizmalarının araştırılması, genetik manipülasyon ve immortalizasyon ya da ilaçlara ait sitotoksikite (Resim 1) çalışmaları gibi çeşitli amaçlar gerçekleştirilebilmektedir (3, 9-13).

Bu sistematik derleme, gelecekte belki de geleneksel spinal cerrahi girişimsel tedavilere alternatif olabilecek, cerrahide henüz yeni olan moleküler perspektifleri ile ilgi çekici yeni tedavi modalitelerine ışık tutabilmesi amacıyla gerçekleştirildi.

## Gereç ve Yöntem

**Yayınları Tarama ve İnceleme Süreci:** “US National Library of Medicine National Institutes of Health, Embase, OVID”, ve “Cochrane Library”, elektronik veritabanlarında; 11.08.1888 - 01.01.2018 tarihleri arasında, spinal cerrahi alanında gerçekleştirilmiş olan moleküler çalışmalara ait basılı yayınlar, dil ve ülke kısıtlaması olmaksızın araştırıldı. Bu veritabanlarında anahtar kelimeler; “target therapy”; “growth factor”; “drug delivery systems”; “controlled release”; “gene silencing” ve “spinal surgery” şeklinde AND/OR kelimeleri kullanılarak tarandı.

Tüm çalışmalar arasından kanıt değeri yüksek olanlar seçildi. Çalışmaların kanıt düzeylerinin belirlenmesi için Lijmer ve ark.’nın çalışmasından yararlanıldı (9, 14-17). Daha sonra elde edilen veriler, çoğunlukla bu tür analizlerde “Sistematik Gözden Geçirme Raporunun (Transparent Reporting of Systematic Review: PRISMA)’nın Şeffaf Raporlaması dikkate alınarak kontrol edildi (9, 14-17). Editöre mektup, metodolojik protokol ve meta-analiz şeklinde yayınlanmış çalışmalar araştırmaya dahil edilmedi (9, 14-17).

**Makalelerin Seçilerek Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri:** Omurga cerrahisine yönelik moleküler tabanlı çalışmalar içerisinde, klinik olmayan, in-vitro ve/veya in-vivo olarak laboratuvar ortamında preklinisel olarak test edilen araştırmaların, çalışmaya dahil edilmesi planlandı. Tarama süreci şekil 1’de özetlendi.

**İstatistiksel Değerlendirme:** Elde edilen verilerin değerlendirilmesi esnasında sonuçlar, Microsoft Office Excel (2013) Programı yardımı ile adet cinsinden gösterildi.

**Tablo 1.** Tarama sonuçları

Anahtar Kelimeler	Miktar (Adet)	Tarih Aralığı
Spinal surgery	129.936	11 Ağustos 1888 - 5 Ocak 2018
Target therapy	231.844	1951 -25 Aralık 2017
Growth factor	1.162.584	1 Ocak 1896 – 25 Aralık 2017
Drug delivery system	147.968	7 Aralık 1945 – 5 Ocak 2018
Controlled release	5.566	30 Ocak 1948 – 8 Ocak 2018
Gene silencing	91.102	1964 – 5 Ocak 2018
Spinal surgery + Target therapy	1365	Ocak 2018 – Şubat 1968
Spinal surgery + Growth factor	4472	31 Ocak 1964 – Aralık 2017
Spinal surgery + Drug delivery system	453	Ekim 1971 – Aralık 2017
Spinal surgery + Controlled release	307	Aralık 1971 – 6 Aralık 2017
Spinal surgery + Gene silencing	68	18 Şubat 1997 – 28 Ekim 2017
Spinal surgery + Target therapy + Growth factor	132	1981 – 8 Kasım 2017
Spinal surgery + Target therapy + Drug delivery system	18	1993 – 26 Temmuz 2017
Spinal surgery + Target therapy + Controlled release	8	1988 – 1 Mayıs 2017
Spinal surgery + Target therapy + Gene silencing	6	Nisan 2011 – Temmuz 2016

## Bulgular

İlk taramada; 1.812.000 adet çalışmaya rastlandı. Bunlardan 244.799 adedinin derleme yazıları olduğu anlaşıldı ve araştırmaya dahil edilmedi (Tablo 1). Anahtar kelimeler “Spinal surgery” AND/OR “Target therapy” AND/OR “Gene silencing” şeklinde girildiğinde altı adet (18-23) araştırmaya rastlandı.

## Tartışma

Fiziksel tıp ve rehabilitasyon, Beyin ve Sinir Cerrahisi ile ortopedi kliniklerine; insan anatomisinde çok kullanılan ve içerdiği yumuşak dokuların, sık kullanım ve hareketi dışında, yaşlanma ile birlikte daha fazla dejenerasyona uğraması sonucu yaşam kalitesi omurga patolojilerine bağlı ağırlı şikayetlerle olumsuz yönde etkilenen, birçok hasta başvurmaktadır. Dejeneratif omurga hastalıkları; diskopatiler, spondilozlar, listezisler, spinal deformiteler gibi omurgaya ait patolojilerin sonucunda, ağrı, hareket kısıtlılığı, motor ve duyu defisitleri ve/veya sfinkter bozuklukları gibi yaşam aktivitesini olumsuz etkileyen olaylar meydana gelebilmekte ve buna bağlı olarak iş gücü kayıplarına ek, ülke sağlık ekonomilerine yük getirmektedir. Dahası, başarılı

tedavi protokolleri uygulanamadığı ya da tedavinin gerçekleştirilemediği olgularda, nöronal hasara bağlı kalıcı nörolojik kayıplar ortaya çıkabilmektedir.

Kliniğine başvuran bu olguların konservatif tedavisinde sık olarak oral veya injektabel ilaçlar kullanılmaktadır. Ancak bu tür ilaçlar bilindiği üzere sistemik etkiye sahip olduğundan bütün vücuda yayılabilecektir. Bunun neticesinde ilaç içerisinde yer alan etken ve yardımcı maddeler ile aktif metabolitler ile etkileşim sadece istenen bölgede olmayacaktır. Normal yoldan alınan ilaçlar, hastalıklı olan bölgenin dışında da istenmeyen vücut kompartmanlarına ulaşacak ve sağlıklı olan hücre ve dokuları da etkileyecektir. Bu etkileşim sonrası istenmeyen yan ve/veya advers reaksiyonlar oluşabilecektir (3).

Buna engel olabilmek ve ilaçtan gözlenen yararın artırılabilmesi için, ilaç moleküllerinin istenilen bölgeye hedeflendirilmesi ya da biyolojik olarak hasarlı dokuların hücresel düzeyde tedavi edilebilmesi gerekebilmektedir. Bu yüzden tıbbın bütün alanlarında olduğu gibi, nöroşirürjisyenler de bunu efektif olarak sağlayabilecek sistemlerin kullanılabilmesine yönelik, hücresel boyutta tamirlerin baz alındığı tedavi modalitelerine yönelik araştırmalara odaklanmaktadır. Ayrıca sadece omurga hasarlarına yönelik hücresel



boyutta tedavilerde değil aynı zamanda hasarın meydana geldiği patolojik süreç içerisinde meydana gelen etki mekanizmalarının da açıklanabilmesi için, yine moleküler düzeyde hücre bazlı hedef tedaviler popülizm kazanmıştır (3, 18-23).

Bu tip tedavilere örnek olarak; voltaj-bağımlı kalsiyum kanallarının veya opioid sinyal yollarının hedeflenmesi, nörotropin üretiminin artırılması verilebilir bu amaçla viral vektörler veya gen susturma yöntemleri kullanılabilir (18). RNA interferans olarak adlandırılan transkripsiyon sonrası gen susturulması için Small interfering RNA (siRNA) molekülleri kullanılabilir. Ancak düşük transdüksiyon etkinliği dolayısı ile yetersiz gen baskılama kapasitesi ve kısa süreli etkili olması nedeni ile siRNA sistemik tedavilerde başarılı olamamıştır. Bu problemleri aşabilmek için short-hairpin RNA (shRNA)'ların viral aktarımı kullanılmış daha etkili ve uzun süreli gen susturması sağlanmıştır. shRNA viral aktarımı için adeno-associated virüs (AAV), herpes simpleks virüs ve lentivirüs gibi birçok virüs tipi vektör olarak kullanılmaktadır (19, 21-23). siRNA etkinliğini arttırmak için kullanılan yaklaşımlardan birisi RNA moleküllerinin PEGlenmiş lipozomlar ile kapsüle edilmesidir. Bu yöntemin yüksek seçicilikte olduğunu ve düşük sitotoksikite gösterdiğini bildiren çalışmalar mevcuttur (20).

Bu araştırma gerçekleştirilmeden önce elde edilen verilerin istatistiksel analizlerinde, heterojenite testinin *Cochrane Q* ile ölçülerek alfa anlamlılık değerinin belirlenmesi hedef alınmış idi (24). Ancak literatür taramamız sonucu arama kriterlerimizin tümünü birden kapsayan yalnızca altı adet çalışmaya rastladık. Bu çalışmaların tamamı deneysel olup, hiçbirinde klinik çıkarımlar yapılmadığından, klinik bir akış şeması oluşturulamadı. Buna bağlı olarak da ortak verilerin anlamlı bir istatistiksel analizi gerçekleştirilemedi. Tarama makalelerimizin sayısının artırılmasının, arama kriterlerinde yer alan anahtar kelimelerin artırılması ile sağlanabilir idi. Ancak, bu olasılığın, sonuçlar arasında kafa karıştırıcı bir şekilde, ortak bağlayıcı çıkarımlar yapılmasını engel olabileceği düşüncesini meydana getirdiğinden gerçekleştirilmedi. Bu yüzden bu araştırmanın gerçek kısıtlılığı, makalelerin seçimine bağlı taraf tutma ve bilgi toplama veya sınıflamasına ilişkin hata kaynaklarından doğabilecek olan taraf tutma (bias)'nın gözden kaçabilme olasılığıdır (25).

Omurganın patolojilerinin engellenmesine yönelik güncel yaklaşımların cerrahi ve konservatif

yöntemler olup disk hareketinin önlenmesi yönünde olduğu, bu durumun da disk hareketini engelleyerek disk fonksiyonun yerine getirilememesi ile sonuçlandığı gerçeği anlaşılmaktadır (3-8). Bunun yerine gelecekte, hücre bazlı moleküler araştırmaların daha da popüler hale gelerek umut vaat edici çalışmalar arasında yer alabileceği aşikardır. Gelecekte; spinal patolojilerinin oluşumunu engelleyen ya da daha yüksek oranlarda oluşmasına neden olan genetik faktörlerin tanımlanması sayesinde hekimlerin daha etkili ve koruyucu hedef tedaviler sunmalarına olanak sağlanabilecektir.

## Kaynaklar

1. Park SY, An HS, Moon SH, Lee HM, Suh SW, Chen D, et al. Neuropathic Pain Components in Patients with Lumbar Spinal Stenosis. *Yonsei Med J* 2015; 56(4): 1044-1050.
2. Kutsal YG, İnanıcı F, Oğuz KK, Alanay A, Palaoglu S. Bel ağrıları. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2008; 39(1): 180-193.
3. Akyuva Y, Karaarslan N, Yılmaz I, Ozbek H, Sirin DY, Gurbuz MS, et al. How scaffolds, which are polymeric drug delivery systems allowing controlled release, can be tested in human primary nucleus pulposus and annulus fibrosus cell culture? *Merit Res J Med Med Sci* 2017; 5(10): 477-487.
4. Van Middelkoop M, Rubinstein SM, Verhagen AP, Ostelo RW, Koes BW, van Tulder MW. Exercise therapy for chronic nonspecific low-back pain. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2010; 24(2): 193-204.
5. Ferreira ML, Smeets RJ, Kamper SJ, Ferreira PH, Machado LA. Can we explain heterogeneity among randomized clinical trials of exercise for chronic back pain? A meta-regression analysis of randomized controlled trials. *Phys Ther* 2010; 90(10): 1383-1403.
6. Pillastrini P, Gardenghi I, Bonetti F, Capra F, Guccione A, Mugnai R, et al. An updated overview of clinical guidelines for chronic low back pain management in primary care. *Joint Bone Spine* 2012; 79(2): 176-185.
7. Weiss HR, Goodall D. Rate of complications in scoliosis surgery-a systematic review of the PubMed literature. *Scoliosis* 2008; 3: 9.
8. Çakır CÖ, Çaylı S. Komplikasyonlara genel bakış. *Türk Nöroşirürji Dergisi* 2013; 23:114-120.
9. Karaarslan N, Kaya YE, Yılmaz I, Ozbek H, Bilir BE, Kaplan N, et al. Will it be possible to prevent lumbar degenerative disc diseases in the future by means of vitamin D receptor gene manipulation? *Merit Res J Med Med Sci* 2017; 5(10): 500-510.

10. Gumustas SA, Yilmaz I, Isyar M, Sirin DY, Batmaz AG, et al. Is it Possible to Expedite Studies on the Effects of Pharmacological Agents on Primary Cell Cultures Obtained from High-grade Fibular Osteosarcoma? *J Clin Exp Oncol* 2016; 5:6.
11. Karaarslan N, Yilmaz I, Ozbek H, Oznam K, Ates O, Erdem I. Is implant washing and wound irrigation with rifampicin effective for preventing surgical site infections in lumbar instrumentation? *Turk Neurosurg* 2018; 28(1): 1-6.
12. Sirin DY, Kaplan N, Yilmaz I, Karaarslan N, Ozbek H, Akyuva, Y, et al. Investigation of the relationship between different molecular weight hyaluronic acid applications and CHAD, HIF1 $\alpha$ , COL2A1 expression in chondrocyte cultures. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2018; 1: 1-8.
13. Sirin, Yasar, Duygu; Karaarslan, Numan; "Evaluation of the effects of pregabalin on chondrocyte proliferation and CHAD, HIF-1 $\alpha$ , and COL2A1 gene expression", *Archives of Medical Science* 2018; 3(1): 1-8.
14. Lijmer JG, Mol BW, Heisterkamp S, Bonsel GJ, Prins MH, van der Meulen JH, et al. Empirical evidence of design-related bias in studies of diagnostic tests. *JAMA* 1999; 282(11): 1061-1066.
15. Transparent reporting of systematic reviews and meta-analyses. <http://www.prisma-statement.org/v24>. 09.01.2018 tarihinde erişilmiştir.
16. Topuk S, Akyuva Y, Karaarslan N, Mutlu CA, Yilmaz I, Isyar M, et al. Is it Possible to Treat Osteosarcoma Using Oligonucleotides Confined into Controlled Release Drug Delivery Systems? *Curr Pharm Biotechnol* 2017; 18(6): 516-522.
17. Ali Gumustas S, Isyar M, Topuk S, Yilmaz I, Oznam K, Onay T, et al. Systematic Evaluation of Drug-Loaded Hydrogels for Application in Osteosarcoma Treatment. *Curr Pharm Biotechnol* 2016; 17(10): 866-872.
18. Liem L, van Dongen E, Huygen FJ, Staats P, Kramer J. The Dorsal Root Ganglion as a Therapeutic Target for Chronic Pain. *Reg Anesth Pain Med* 2016; 41(4): 511-519.
19. Enomoto M, Hirai T, Kaburagi H, Yokota T. Efficient Gene Suppression in Dorsal Root Ganglia and Spinal Cord Using Adeno-Associated Virus Vectors Encoding Short-Hairpin RNA. *Methods Mol Biol* 2016; 1364: 277-290.
20. Niu NK, Yin JJ, Yang YX, Wang ZL, Zhou ZW, He ZX, et al. Novel targeting of PEGylated liposomes for codelivery of TGF- $\beta$ 1 siRNA and four antitubercular drugs to human macrophages for the treatment of mycobacterial infection: a quantitative proteomic study. *Drug Des Devel Ther* 2015; 9: 4441-4470.
21. Hirai T, Enomoto M, Kaburagi H, Sotome S, Yoshida-Tanaka K, Ukegawa M, et al. Intrathecal AAV serotype 9-mediated delivery of shRNA against TRPV1 attenuates thermal hyperalgesia in a mouse model of peripheral nerve injury. *Mol Ther* 2014; 22(2): 409-419.
22. Hirai T, Enomoto M, Machida A, Yamamoto M, Kuwahara H, Tajiri M, et al. Intrathecal shRNA-AAV9 inhibits target protein expression in the spinal cord and dorsal root ganglia of adult mice. *Hum Gene Ther Methods* 2012; 23(2): 119-127.
23. Zou W, Song Z, Guo Q, Liu C, Zhang Z, Zhang Y. Intrathecal lentiviral-mediated RNA interference targeting PKC $\gamma$  attenuates chronic constriction injury-induced neuropathic pain in rats. *Hum Gene Ther* 2011; 22(4): 465-475.
24. Gökçe A, Yılmaz İ, Tonbul M, Gökay NS, Bircan R, Gökçe Ç. Controlled release from a crosslinker and growth factor embedded hydrogel systems: a systematic review. *Okmeydani Tıp Derg* 2012; 28(1): 25-34.
25. Çakır B. Bias in medical research: types, classification, sources and control measures: review (1). *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2005; 25(1): 100-110.