

İntervertebral Disk Dokusunda Hücresel Düzeyde Dejenerasyon Mekanizmaları

Mechanisms of Degeneration in Intervertebral Disc Tissue at the Cell Level

ÖZ

İntervertebral diskler, nükleus pulposus, annulus fibrosus ve kıkırdak end plateler olmak üzere üç bölümden oluşan karmaşık yapılardır. Yaşlanmayla birlikte intervertebral diskler, mikro ortam değişiklikleri ve hücre ölümü gibi birçok faktörün etkisi ile kademeli olarak dejenere olur. Literatürdeki klinik çalışmalar ve deneysel hayvan modeli çalışmaları, hücre ölümünün, özellikle apoptoz ve otofajinin, intervertebral disk dejenerasyonuna önemli ölçüde katkıda bulunduğunu bildirmiştir. Bu fenomenin altında yatan mekanizmalar, apoptotik yolların aktivasyonu ve otofajinin düzenlenmesini içermektedir. Otofaji ise, besin yoksunluğuna ve çoklu streslere yanıt olarak gelişen olaylar zincirini ifade eder. Özellikle intervertebral disk dejenerasyonunda bu yolların fonksiyonel mekanizmalarını ortaya koyan çalışmalara odaklanarak hücresel düzeydeki mekanizmaları irdelemeyi amaçladık. Böylelikle, fiziksel ve kimyasal değişikliklerin tüm omurganın dejeneratif sürecini nasıl şiddetlendirdiği konusunda bol miktarda bilgi edinilebilmektedir.

Anahtar Sözcükler: İntervertebral, Disk dejenerasyonu, Hücresel mekanizmalar

ABSTRACT

Intervertebral discs are complex structures consisting of three parts: nucleus pulposus, annulus fibrosus and cartilage end plates. With aging, intervertebral discs gradually degenerate with the effect of many factors such as microenvironment changes and cell death. Clinical studies and experimental animal model studies in the literature have reported that cell death, particularly apoptosis and autophagy, contribute significantly to intervertebral disc degeneration. Mechanisms underlying this phenomenon include activation of apoptotic pathways and regulation of autophagy. On the other hand, autophagy refers to the chain of events that occur in response to nutrient deprivation and multiple stresses. We aimed to examine the mechanisms at the cellular level in intervertebral disc degeneration by focusing on the studies that reveal the functional mechanisms of these pathways. Thus, lots of information can be obtained about how physical and chemical changes exacerbate the degenerative process of the entire spine.

Keywords: Intervertebral, Disc degeneration, Cellular mechanism

GİRİŞ

Bel ağrısı dünya çapında engelliliğin bir numaralı nedenidir. Toplumda yaygın olarak görülür ve yetişkinlerin %60-80'i değişen oranlarda bel ağrısı yaşamaktadırlar. Bel ağrısının etiyojisi ve fizyopatolojisi karmaşık olma-

sına rağmen, intervertebral disk (IVD) dejenerasyonu (IVDD) ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu görülmektedir. IVD, üç farklı yapıdan oluşan, iki bitişik vertebral gövdeyi birbirine bağlayan fibröz bir kıkırdak bir dokudur. Nükleus pulposus (NP), annulus fibrosus (AF) ve

kıkırdak *end plate* (KEP)'ten oluşmaktadır. Bu karmaşık yapı, mekanik yükün omurgaya iletilmesinde, absorpsiyonunda ve motor fonksiyonun sürdürülmesinde hayati rol oynar.

IVD, yaşlanma ve birden fazla stres etkeninin neden olduğu doku hasarı nedeniyle kademeli olarak dejenere olmaktadır. Zamanla, vertebral instabilite, spinal kanal stenozu ve spinal segment deformitesi ile sonuçlanarak bel ağrısına ve hareket kısıtlılığına neden olmaktadır. IVDD'de üç ana olay vardır: 1) enflamasyon ve katabolik kaskadlar, 2) sürekli hücre kaybı ve 3) hücrel fonksiyonlarda ve anabolik aktivitelerde düşüş.

Disk dejenerasyonunun nedenleri arasında yaşlanma, yaralanma, genetik ve sigara içme gibi çevresel faktörler veya bunların kombinasyonu yer almaktadır (21). IVDD, ortalama olarak yaşamın ikinci on yılında başlayan ve yetişkinlerde dejenerasyona uğrayan ilk dokulardan biri olarak bilinmektedir. Genetik, biyolojik, yaşlanma ve fiziksel kimyasal değişikliklerin oluşturduğu kombinasyondan etkilenen bir süreç olarak öne çıkmaktadır. Dejenerasyonun kesin patofizyolojisi henüz tam olarak tanımlanmamıştır.

IVD KARAKTERİSTİKLERİ

IVD, komşu iki vertebranın kıkırdak end plateri arasında yer almaktadır. Esnekliğe izin verirken, aynı zamanda destek sağlayan poliaksiyel kıkırdak eklemi oluşturmaya yardımcı olurlar. AF, NP'yi çevreleyen kolajen tip I (COL2A1) açısından zengin, lamel olarak bilinen oldukça organize halkalardan oluşur. Yaklaşık 30-60 derecelik değişen açılarda düzenlenmiş AF'nin bu kollajen lifleri, NP'nin yanıl yer değiştirmesini ve çökmesini önlerken, "bending" ve "twisting" sırasında NP'nin çevresel stresini sınırlamaya hizmet eder (2,28).

Merkezi olarak konumlandırılmış olan NP içeriğinde yaklaşık %80 oranında su bulunmaktadır. Özellikle kondroitin ve keratin sülfatın yüksek derecede bulunduğu agrekandan zengin proteoglikanlara sahiptir. NP ayrıca, proteoglikan ile kombinasyon halinde, seyrek kollajen tip II ve elastin liflerini de içermektedir. Bu yapı, end platerlerde, annulus fibrosus içine doğru olan kompresif kuvvetleri etkisiz hale getiren birincil bir amortisör görevi görmektedir. Ek olarak, hiyalin matriks üreten kondrositlere benzer bir morfolojiye sahip hücrelerden oluşan kıkırdak endplaterler, komşu vertebra gövdesi ile IVD arasında bir arayüz görevi görmektedir (19). Disk-

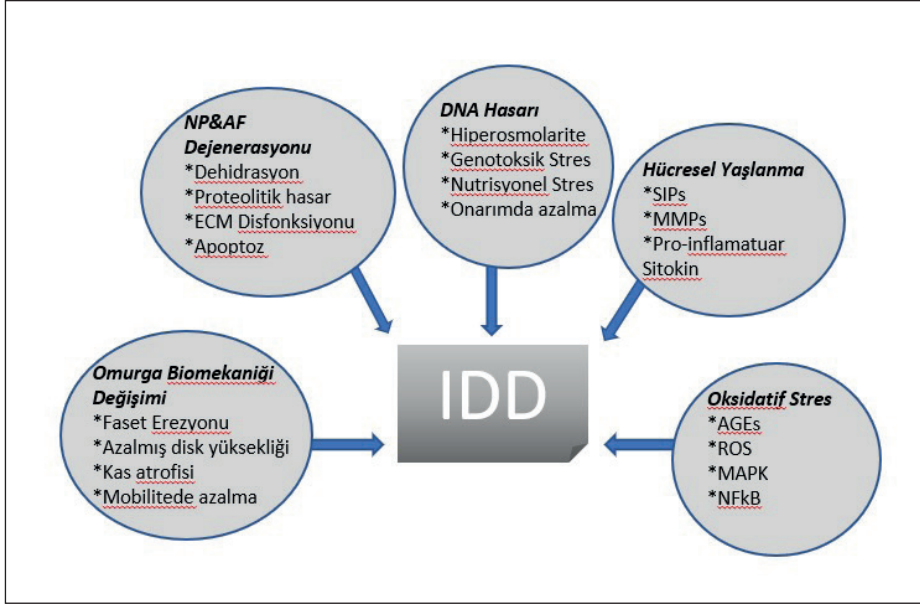
ler ağırlıklı olarak avasküler olduğundan, kıkırdaklı end platerler, diffüzyon yoluyla besin ve metabolit iletimi için özel öneme sahiptir. Bu zayıf perfüzyon ve düşük selülariteye sekonder görülen sınırlı onarım mekanizmaları, disfonksiyonel dokunun birikimine neden olarak diski dejenerasyona duyarlı hale getirmektedir (10).

IVDD sürecini alevlendiren, omurganın dejeneratif değişiklikleri arasında faset kıkırdak erozyonu, arka ve ön spinal bağlar gibi destekleyici bağların zayıflaması ve yağ infiltrasyonu gibi fizyolojik kas atrofisi yer alır. Anüler yırtık ile indüklenen dejeneratif disklerden izole edilen hücrelerde, mekanik yüklenmeye ve enflamatuvar uyarana karşı abartılı tepki göstermiştir. Aynı zamanda uzun süreli yüklemeye kuvvetinin, spinal hareketlilik kaybına ve disk yüksekliğinde azalmaya yol açtığına dair analizler de mevcuttur. Anatomik yapıdaki bu kayıp, hasara bağlı apoptoz, hücrel yaşlanma ve ekstraselüler matriks (ECM) yapısal desteğinin müteakip kaybıyla birlikte metabolizmadaki patolojik değişikliklerin nihai sonucudur (5,8).

ECM'in IVD'nin biyomekanik işlevi ve fizyolojik durumu için hayati rolü olduğu bilinmektedir. Bu hücreler yapısal matriks proteinleri, sitokinler, büyüme faktörleri ve proteazlar üretir. Tüm bu ürünler, biyomekanik işlevi korurken ECM üretimi ve bozunması arasındaki dengeyi korumaya hizmet eder. Serbest radikal oluşumu, pH değişiklikleri ve anormal proteolitik enzimlerin artan aktivitesi ile birlikte ilerleyen proteoglikan kaybı, disk yüksekliği ve kompresif direnç kaybına yol açar. Bu değişiklikler, spinal hareketin ilerleyici bir şekilde bozulmasına yol açarak spinal instabiliteye ve mekanik strese yol açarak dejeneratif sürece neden olmaktadır (3).

IVDD PATOLOJİSİ

IVDD, patogenezi şiddetlendiren uygunsuz hücrel reaksiyonlara yol açan dejenere moleküllerin birikmesi yoluyla biyolojik yapısal destek ve sonucunda fonksiyon kaybı olarak tanımlanmıştır. Bu değişiklikler, NP'nin dehidrasyonu, disk yüksekliğinin kaybı ve granüler artıkların birikmesi ile fibröz bir diske yol açar. Ayrıca periferik AF'de neovaskülarizasyon ve buna sekonder fissürlerin sayı ve boyutlarında artış saptanır (12). End platerler ayrıca ossifikasyona ve incelmeye maruz kalır, ardından mikro kırıklar oluşmaktadır. Bunun sonucunda kemik sklerozu ve kan akımında azalma meydana gelmektedir. Perfüzyondaki azalmayı takiben besin kaynağında azalma



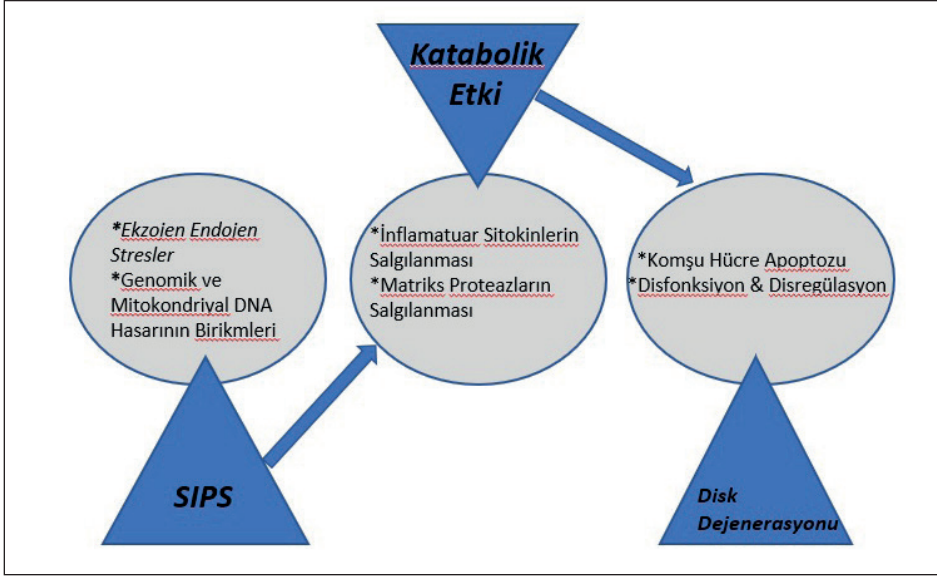
Şekil 1: İntervertebral disk dejenerasyonuna katkıda bulunan faktörler. Hücre Dışı Matriks (ECM), Strese Bağlı Erken Yaşlanma (SİPs), Matriks Metaloproteinazlar (MMP'ler), İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGE'ler) ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS).

ve hücrel atık birikiminde artış, hücre fonksiyonunu olumsuz etkileyebilecek asidik ortam oluşumuna neden olmaktadır. IDD'ye katkıda bulunan moleküler mekanizmalar, hücrel işlev bozukluğu ile sonuçlanmaktadır (Şekil 1) (23).

NP'DE ECM'İN DEJENERASYONU

NP'deki tipik ECM molekülleri, hepsi bir kollajen lif ağı içinde kaplanmış çekirdek protein, bağlantı proteini, sülfatlanmış glikozaminoglikan (S-GAG) ve hiyalüronandan oluşan proteoglikan kümeleridir. Bu ECM, kompresif yüklenme basılarına dayanabilen daha yüksek ozmotik basınç sağlar. Diskler dejenere ve dehidrate olurken, matriksin çoğunluğunu azalan GAG, agrekan ve elastin miktarı ile artan miktarlarda kollajen ve kollajen çapraz bağları oluşturmaktadır. Bu azalan glikozaminoglikan (GAG) zincir uzunlukları ve bağlantı protein seviyeleri ile birlikte artan hyalüronan seviyelerinin, proteolitik ve glikolitik hasarın bir sonucu olduğu düşünülmektedir (31). Versican, disklerin dejenerasyonu ile bozulmaya uğrayan başka bir hiyalüronan bağlayıcı proteindir. Bu kümelemeyen proteoglikanlar, boyutlarına, yük yoğunluklarına, uzamsal sağlamlıklarına ve matriks etkileşimlerine bağlı olarak intakt kümelere kıyasla azaltılmış bir işlevsel yeteneğe sahip görünmektedir. Syndecan-4, hücre içi sinyal yoluyla IVDD'de de önemli rol oynayan bir transmembran heparan sülfat proteoglikandır. Spesifik olarak, trombospondin motifleri 5 (A disintegrin and metallo-

roteinase with thrombospondin motifs, ADAMTS-5) işlevi ve matris metaloproteinazlar (MMP)'ların ekspresyonu ile sindekan-4'ün düzensiz aktiviteleri ile birlikte matriks ve agrekan bozunması meydana gelmektedir. Küçük lösin açısından zengin proteoglikan tekrar ailesi (small-leucine-rich-proteoglycan, SLRP'ler) tipik olarak ECM'nin yapısal desteğinde önemli bir rol oynar. Ancak dejenerasyonla birlikte, SLRP'ler, ECM'nin yapısal desteğini olumsuz yönde etkileyen GAG içeriğinin kaybına yol açan proteolitik hasara maruz kaldığı bildirilmektedir. Spesifik olarak, dermatan sülfat proteoglikanlar olan biglycan ve decorin, sırasıyla kollajen tip IV ve tip I/II ile etkileşime girer. Diskler, tip I ve II'nin %80'ini ve tip IV'ün %10-20'sini içeren zengin bir kolajen ağı içerir. Bu kolajen yapısı ayrıca, düzensiz kolajenaz aktivitesinden, proteolitik hasara uğrar. Bu da zayıflamış mekanik kuvvete ve kolajenin temel amino asitleri ile indirgeyici şekerler arasında enzimatik olmayan çapraz bağların oluşumuna neden olur. Fare modellerinde oksidatif stresin disk elastikiyetini azalttığı ve kolajen moleküllerinin ikincil ve üçüncül yapısının oluşumunu değiştirdiği gösterilmiştir (29,32). Bu proteolitik hasar, kollajen fibril oluşumunu bozan dejenerasyonla disk boyunca artan AGE'ler (Advanced glycation end products, AGEs) yoluyla artan oksidatif stresle sonuçlanır. Bu, MMP'ler tarafından bölünmeye karşı hassasiyetlerini artırır, bu da biyomekanik gücün ve yapısal bütünlüğün bozulmasına neden olur.



Şekil 2: Stres Kaynaklı erken yaşlanmanın katabolik etkileri strese kaynaklı erken yaşlanmanın (SIPS) adım adım oluşumunu ve katabolik etkilerini göstermektedir.

NP'DE AF'İN DEJENERASYONU

Kesin mekanizma tam olarak tanımlanmamış olsa da, mekanik yük, oksidatif stres, genetik, inflamasyon ve DNA hasarının da apoptoz yoluyla AF'nin yırtılmasına ve NP'nin herniasyonu ile bütünlüğün değişmesine katkıda bulunduğu varsayılmaktadır. ECM'deki homeostazın, katabolik ve anabolik fonksiyonların düzenlenmesi yoluyla, AF yapısının bütünlüğünün korunmasında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Spesifik olarak, disk dejenerasyonu ile bu homeostaz, aşırı matris katabolik aktivitesi ile bozulur. Memeli hücrelerinde iki apoptotik yol olan mitokondriyal yolun ve Fas/FasLigand yolunun her ikisinin de AF hücresinde apoptoz düzenlemesinde yer aldığı gösterilmiştir (6). Adacık amiloid polipeptidi (Islet amyloid polypeptide, IAPP), amiloid proteini ile aynı bileşime sahiptir ve glikoz metabolizmasının, reaktif oksijen türleri (ROS)'un apoptozun ve enflamasyonun regulasyonuna katılmaktadır. IVDD'li AF hücrelerinde; IAPP, kalsitonin reseptörü ve reseptör aktivitesini modifiye eden protein ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. IAPP'deki bu azalma, tümü hücre ölümüne yol açan MMP'lerde bir azalma ile ROS'da ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonunda bir artışa neden olur. İnsan örnekleri, fare modelleri ve AF kültür deneyleri, mekanik aşırı yüklenmeye bağlı IVDD'nin AF hücrelerinde mitokondriyal apoptotik yol aracılığıyla oluştuğunu göstermiştir (27). Ek olarak, IVD üzerindeki anormal yüklenme, AF'nin kollajen fibrillerinin mikro ölçekte kalınlaşmasına ve sertleşmesine, nano ölçekte ise kollajen fibrillerinin değişmesine neden olmuştur.

DNA HASARI

Proteinler ve diğer makro moleküller parçalanabilir ve değiştirilebilirler, ancak DNA için bu durum geçerli değildir. DNA çeşitli onarım mekanizmalarına sahiptir, ancak bu mekanizmalara rağmen hücreler zaman içinde hasarlı DNA biriktirmeye devam ederler. DNA onarım mekanizmalarındaki kalıtsal kusurların, artmış dejenerasyona sahip çeşitli hastalıklara yol açabileceği gösterilmiştir. Örneğin, DNA onarım defekti olan Ercc 1 (Excision repair cross-complementation group 1)/D fareleri; matris proteoglikan kaybı, disk yüksekliğinde azalma ve artan hücre yaşlanma dahil olmak üzere, temel IVDD özelliklerinin erken belirtilerini gösterirler (15). IVDD'ye sebep olan DNA hasarı, iyonlaştırıcı radyasyon ve tütün içimi gibi disk dejenerasyonunu hızlandıran genotoksik stresler ile desteklenir.

Hiperosmolalitenin ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated)/p53/p21 yolunun aktivasyonu yoluyla pRb proteininin hipofosforilasyonuna ve hücre döngüsünün G1 fazında hücre döngüsünün durmasına yol açarak DNA hasarına neden olduğu gösterilmiştir (18). Ayrıca osmolalitedeki artışın kromatin değişikliklerine bağlı DNA hasarına yol açtığı da bildirilmiştir. NP'de DNA hasarını indükleyen hiperosmolalite düzeyi henüz net olarak bilinmemesine de NP hücreleri *in vivo* olarak 500 mOsm/kg HO'ya kadar hiperosmolalite seviyelerine maruz kalırken vücuttaki çoğu dokuda bu değer <300 mOsm/kg HO'dur.

Beslenme stresi, dejenerasyona ve hücre hasarına yol açarak disk dokusunu etkileyen başka bir faktördür.

Diskler çoğunlukla avasküler olduğundan düşük oksijen ve glikoz nedeniyle NP'de beslenme ortamı hücrelerin gereksinimlerinin çok az üzerinde bulunur. Disk çevresi, yüksek konsantrasyonlarda laktat içeren asidik bir ortamdır. Düşük oksijen ve düşük pH koşullarının DNA hasarına neden olabileceği, proteoglikan ve kollajen sentezini azaltabileceği gösterilmiştir (11). Bu olağanüstü ortam diski ek streslere karşı riskli hale getirmektedir.

HÜCRESEL YAŞLANMA

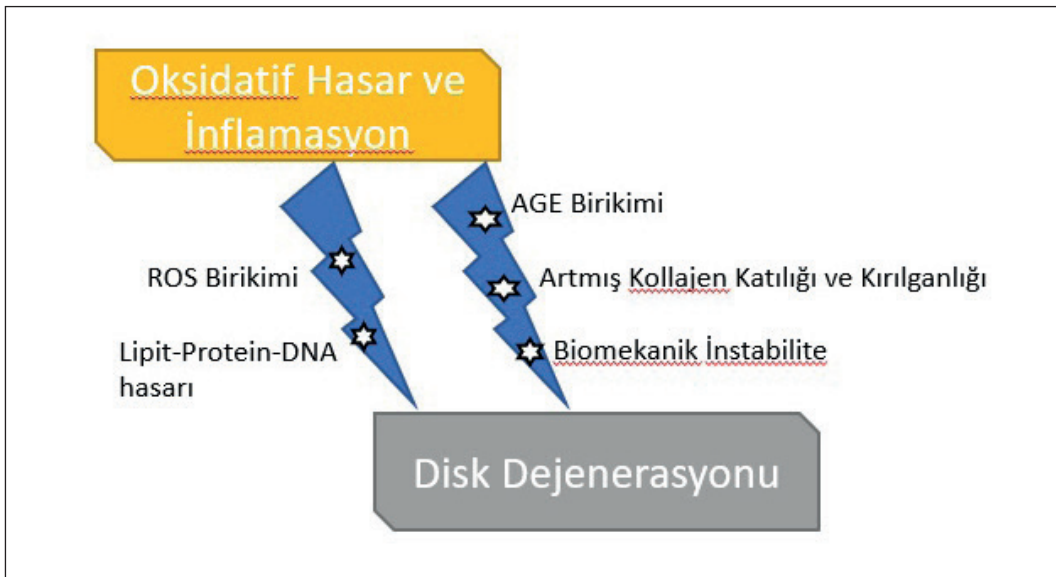
Potansiyel kanser hücrelerinin proliferasyonunun sınırlandırılması için önemli bir mekanizma olan hücresel yaşlanma, birbirini takip eden replikatif hücre döngülerini takiben telomer uzunluğunun kritik kısalması nedeniyle hücre proliferasyonunun durması olarak tanımlanmıştır. Başka bir erken yaşlanma türü stres kaynaklı hücresel yaşlanma stres kaynaklı erken yaşlanma (SIPS), genomik ve mitokondriyal DNA hasarının birikmesinden kaynaklanır. SIPS hücreleri aynı zamanda, komşu hücreler ve ECM üzerinde katabolik bir etkiye neden olarak dejenerasyonu tetikleyen yüksek miktarlarda salgılanan enflamatuar sitokinlere ve matriks proteinazlara yol açan, yaşlanmayla ilişkili bir salgı özelliği kazanır. Bu patolojik süreç, yaşlanma ile ilişkili β -galaktosidaz, p16 ve azalan telomer uzunluğu dahil olmak üzere yaşlanma belirteçleri ile desteklenir. Ek olarak p16'nın, MMP-13 ve ADAMTs-5 gibi matriks metaloproteazların ekspresyonu ile pozitif bir korelasyona sahip olduğu gösterilmiştir (13). DNA hasarının diskte hücresel yaşlanmaya sebep olduğu, Ercc1 genotoksinine maruz kalmış DNA

onarım kusuru bulunan farelerde artmış hücresel yaşlanmanın gözlenmesiyle desteklenmiştir (20). SIPS'in disk dejenerasyonunun potansiyel sebebi olduğunun diğer bir destekleyicisi de HO ile DNA'da hasar oluşturup hücreyi katabolik fenotipe çeviren in vitro hücre çalışmalarıdır. Bu fenotip, IVDD patogeneğinde baskın bir sitokin olan IL-1 ile birlikte, MMP ve proinflamatuar sitokinlerin düzeylerinin yükselmesine ve artmış matriks bozulmasına yol açar.

OKSİDATİF STRES VE DÜZENSİZ SİNYALİZASYON

Oksidatif inflamasyonun, eksojen ve endojen stres etkenleriyle moleküler hasarın ana nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir (Şekil 3). Pentosidin ve karboksime-tillisin içeren AGE'ler moleküler hasarın kaynağı olarak oksidatif hasarı daha fazla artırır. Pentosidin kollajen moleküllerini çapraz bağlayarak kollajen katılığını ve kırılabilirliğini artırıp biyomekaniği etkiler. Ayrıca, oksidatif post-translasyonel modifikasyonlar (protein karboksilasyonu), protein parçalanması ve agregasyonunda artış göstermiş ve bu artış fare modelinde disk sertliğinin artmasına sebep olmuştur. Disk hücreleri nispeten düşük oksijen gerilimli ortamlarda bulunsun da ROS hâlâ oksidatif fosforilasyon yoluyla üretilir. Disk dejenerasyonu oldukça AF'de neovaskülarizasyona bağlı çatlaklar oluşur, bu hipoksik hücrelerde oksijen geriliminde artışa sebep olur ve disk çevresindeki oksidatif stres artar (1).

ROS; lipitlerin, DNA'nın ve proteinlerin zarar görmesine neden olarak diskin yapısal ve fonksiyonel homeostazına



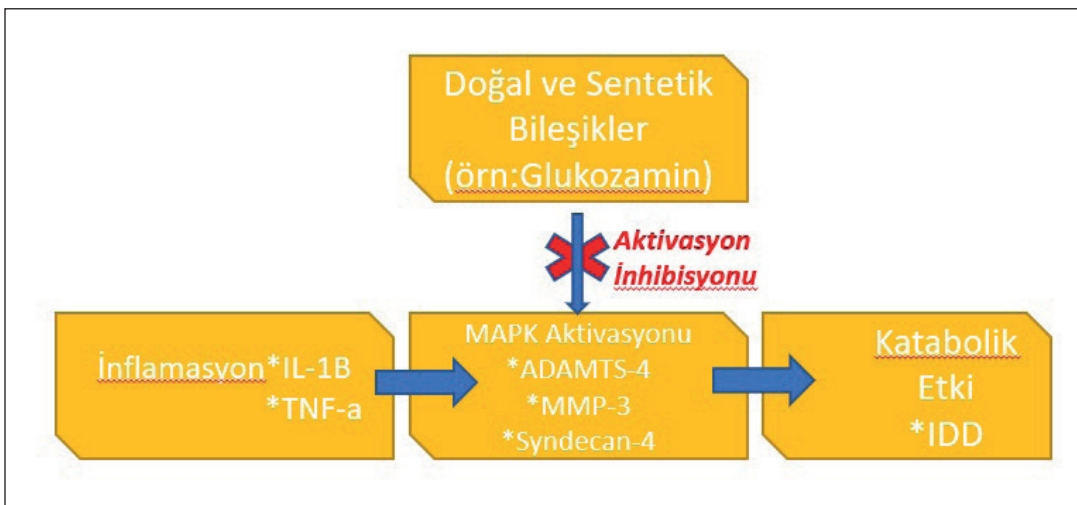
Şekil 3: İntervertebral disk dejenerasyonuna katkıda bulunan yollar intervertebral disk dejenerasyonuna katkıda bulunan iki yolun (inflamasyon ve oksidasyon) gösterilmesi. Reaktif Oksijen Türleri (ROS), İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGE'ler).

zarar verir. İnsan NP dokusunda tanımlanan hidrojen peroksit, *in vitro* olarak AF hücrelerinde saptanan peroksimomlarla birlikte disk hücrelerinde ROS'un kaynaklarıdır. Aşırı ROS üretiminin bilinen bir kaynağı olan mitokondri disfonksiyonu ile mitokondri bağımlı ROS'un rolü, insan ve sıçan NP ve AF hücreleri dahil olmak üzere disk hücrelerinde tanımlanmıştır (7,9). Daha spesifik olarak, sıçanlarda dejeneratif disklerde aşırı ROS üretimi bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar hidrojen peroksidin kollajen tip 2 ve agrekan ifadesini azalttığını insan ve sıçan disk hücrelerinde göstermiştir. Ayrıca ROS aşırı üretimine sebep olan proinflatuar sitokinlerin, insan ve sıçan disk hücrelerinde matriks sentezini baskıladığı ve matriks bozunma proteazlarının ekspresyonunu artırdığı da gösterilmiştir. ROS'un pozitif geri bildirim ile disk hücrelerinde kendi üretimini artırdığı da bilinmektedir (7).

Dejeneratif diskte görülen proinflatuar sitokin tümör nekroze edici faktör alfa (TNF- α), matriks proteoglikan parçalayıcı ürünlerin ve MMP'lerin (MMP-3, ADAMTS-5 dahil) yükselmesi matriks homeostazında dengesizlik olarak bildirilmiştir (22,25,30). Disk matriks proteoglikanın tükenmesi, doku dehidrasyonu ve değişmiş disk yükü dağılımı hasara karşı verilen artmış cevaptan kaynaklanabilecek diğer fenotipik ve fonksiyonel değişikliklerdendir. Bu bozulmuş koşullar hücrelerde artmış nekroz, apoptoz ve yaşlanmaya yol açar.

İnflamasyon ve yüksek glukoz kaynaklı stres (diyabette de olduğu gibi), oksidatif stres ve DNA hasarının potansiyel kaynaklarıdır. Nükleer faktör kappa-B (NF-kB) sinyalinin bir hücrenin iltihaplanma ve hasara tepkisinde kritik

bir rol oynadığı bilinmektedir, dolayısıyla aktivitesindeki artış birikmiş oksidatif strese bağlı IVDD'ye neden olur (24). NF-kB aktivitesinin farmakolojik ve genetik inhibisyonunun, bir fare modelinde ilişkili IVDD'yi azalttığı gösterilmiştir. Semptomatik disklerde, NF-kB yolu ile ilişkili olduğu düşünülen TNF- α , interlökin (IL)-1 β , IL-6 ve IL-8 gibi proinflatuar sitokinlerin daha yüksek seviyelerde olduğu gösterilmiştir (4). Bir sinyal iletim yolağı ailesi olan Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinazlar (MAPK'ler), hücrelerin enflatuar sitokinler ve çevresel stres dahil olmak üzere çeşitli hücre dışı sinyallere yanıt vermesinde rol oynar. Spesifik olarak MAPK'nın bir alt ailesi olan p38 MAPK'nın ifadesi, yaşlanmış AF hücrelerinde tanımlanmıştır. Katabolik sürecin birçok bileşeni (örn. MMP'ler, ADAMTS'ler, siklooksijenaz-2, prostoglandin E2, indüklenabilir nitrik oksit sentaz, vb.), MAPK ve NF-kB tarafından ikili olarak düzenlenir. Yukarıda bahsedildiği gibi, proinflatuar sitokinler (IL-1 β ve TNF- α), ADAMTS-4, MMP-3 ve sindekan-4 gibi katabolik moleküllerin üretimine yol açan MAPK yollarını aktive eder. Bu ilişki, MAPK aktivasyonunu sentetik veya glukozamin gibi doğal bileşiklerle bloke ederek disk dejenerasyonunu kolaylaştıran bir araç olarak temsil edilebilir (Şekil 4). Disk dejenerasyonunun diğer bir karakteristik özelliği, kısmen büyüme faktörü ve reseptörlerin aşırı ekspresyonuna bağlı olduğu düşünülen, hasarlı bölgelerde hücre proliferasyon kümelerinin oluşmasıdır. MAPK'nın disk denegasyonundaki diğer bir rolü PDGF, IGF-1 ve bFGF gibi büyüme faktörlerinin, MAPK'ların başka bir alt ailesi olan hücre dışı sinyalle ilişkili kinazlar aracılığıyla hücre proliferasyonunu uyarmasıdır (26).



Şekil 4: MAPK Yolunun Aktivasyonu. İnflamasyon ve MAPK yolunun, IVDD'de oynadığı rollerden birini ve MAPK yolunun aktivasyonunu önleyerek IVDD'yi engellemenin olası bir yöntemini gösteriyor.

SONUÇ

Besin açısından fakir, asidik ve hipoksik ortamda mekanik olarak yüklü bir yapının stabilitesini ve hareketini koruyan, diske özgü fonksiyonlar, yeni disk dejenerasyon mekanizmalarını keşfetmek için olağanüstü bir fırsat sunar. Yukarıda da belirtildiği gibi disk dejenerasyonu, tek başına meydana gelmeyen ve komşu omurga yapılarının ve sistemik faktörlerin bozulmasından etkilenen sistemik bir süreçtir. Bu nedenle gelecekteki omurga dejenerasyonu ve rejenerasyon araştırmalarında tüm omurganın dejenerasyon açısından araştırılması bir gerekliliktir. Özellikle terapötik müdahalelerin, fonksiyonel bozukluktan önce disk ve omurga dejenerasyonunun erken aşamalarını hedeflemesi gerekecektir.

Son zamanlarda yapılan birkaç çalışma, intervertebral onarım ve rejenerasyon anlayışımızı desteklemektedir. Bir sıçan kuyruğu modelinde IVD'i taklit eden asellular disk benzeri açılı katlı yapının *in vivo* performansı incelendi, doğal hücrelerin açılı kat yapısına sızıp, doku oluşumunu teşvik edip bazı biyomekanik davranışları eski haline getirmeleri dikkate değerdi (17). Rejenerasyonu uyarmanın başka bir yolu olan mezenkimal kök hücre enjeksiyonlarının, yaralı sıçan IVD'e erken enjekte edildiğinde GAG birikim miktarlarını artırdığı gösterilmiştir (16). İnorganik fosfatların, hipoksik koşullar altında bile NP hücrelerinde proteoglikan birikimini teşvik ettiği gösterilmiştir. Ek olarak, kemik morfogenetik protein 2 (BMP-2) ve BMP-7'nin *in vitro* ve organ kültürü modellerinde NP'yi agrekan ve kollajen 2 üretmesi yönünde uyardığı gösterilmiştir (14). Yukarıda bahsedildiği gibi NF-kB inhibisyonu, bir proinflatuar katabolik sitokin olan IL-1 β 'in azalması ile sonuçlanır. Artan ve yaşlanan nüfusumuzla birlikte ağrı ve engellilik ile ilişkili olan disk dejenerasyonunun prevalansı artmaya devam edecektir. Bu durum IVD ve patolojileri için güvenli ve etkili tedaviler geliştirmek için daha fazla araştırmayı teşvik etmektedir.

Çıkar Çatışmaları: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

1. Ali R, Le Maitre CL, Richardson SM, et al: Connective tissue growth factor expression in human intervertebral disc: Implications for angiogenesis in intervertebral disc degeneration. *Biotech Histochem* 83:239-245, 2008
2. Ambard D, Cherblanc F: Mechanical behavior of annulus fibrosus: A microstructural model of fibers reorientation. *Ann Biomed Eng* 37(11):2256-2265, 2009
3. An HS, Masuda K, Inoue N: Intervertebral disc degeneration: Biological and biomechanical factors. *J Orthop Sci* 11(5): 541-552, 2006
4. Bachmeier BE, Nerlich AG, Weiler C, et al: Analysis of tissue distribution of TNF-alpha, TNF-alpha-receptors, and the activating TNF-alpha-converting enzyme suggests activation of the TNF-alpha system in the aging intervertebral disc. *Ann NY Acad Sci* 1096:44-54, 2007
5. Blanco JF, Graciani IF, Sanchez-Guijo FM, et al: Isolation and characterization of mesenchymal stromal cells from human degenerated nucleus pulposus: Comparison with bone marrow mesenchymal stromal cells from the same subjects. *Spine (Phila. Pa. 1976)* 35:2259-2265, 2010
6. Chen SQ, Lin JP, Zheng QK, et al: Protective effects of paeoniflorin against FasL-induced apoptosis of intervertebral discs annulus fibrosus cells via Fas-FasL signaling pathway. *Exp Ther* 10(6):2351-2355, 2015
7. Ding F, Shao ZW, Yang SH, et al: Role of mitochondrial pathway in compression-induced apoptosis of nucleus pulposus cells. *Apoptosis* 17(6):579-590, 2012
8. Feng G, Yang X, Shang H, et al: Multipotential differentiation of human annulus fibrosus cells: An *in vitro* study. *J Bone Joint Surg Am* 92:675-685, 2010
9. Gruber HE, Watts JA, Riley FE, et al: Mitochondrial bioenergetics, mass, and morphology are altered in cells of the degenerating human annulus. *J Orthop Res* 31(8):1270-1275, 2013
10. Gruhagen T, Wilde G, Soukane DM, et al: Nutrient supply and intervertebral disc metabolism. *J Bone Surg Am* 88(2):30-35, 2006
11. Ishihara H, Urban JP: Effects of low oxygen concentrations and metabolic inhibitors on proteoglycan and protein synthesis rates in the intervertebral disc. *J Orthop Res* 17:829-835, 1999
12. Kumaresan S, Yoganandan N, Pintar FA, et al: Morphology of young and old cervical spine intervertebral disc tissues. *Biomed Sci Instrum* 36:141-146, 2000
13. Le Maitre CL, Freemont AJ, Hoyland JA: Accelerated cellular senescence in degenerate intervertebral discs: A possible role in the pathogenesis of intervertebral disc degeneration. *Arthritis Res Ther* 9(3):R45, 2007
14. Li Z, Lang G, Karfeld-Sulzer LS, et al: Heterodimeric BMP-2/7 for nucleus pulposus regeneration-*in vitro* and *ex vivo* studies. *J Orthop Res* 35:51-56, 2016

15. Lotz JC, Ulrich JA: Innervation, inflammation, and hypermobility may characterize pathologic disc degeneration: Review of animal model data. *J Bone Surg Am* 88(2):76-82, 2006
16. Maidhof R, Rafiuddin A, Chowdhury F, et al: Timing of mesenchymal stem cell delivery impacts the fate and therapeutic potential in intervertebral disc repair. *J Orthop Res* 35:32-40, 2016
17. Martin JT, Kim DH, Milby AH, et al: In vivo performance of an acellular disc-like angle ply structure (DAPS) for total disc replacement in a small animal model. *J Orthop Res* 35:23-31, 2016
18. Mavrogenatou E, Kletsas D: High osmolality activates the G1 and G2 cell cycle checkpoints and affects the DNA integrity of nucleus pulposus intervertebral disc cells triggering an enhanced DNA repair response. *DNA Repair (Amst)* 8:930-943, 2009
19. Nachemson A, Elfstrom G: Intravital dynamic pressure measurements in lumbar discs. A study of common movements, maneuvers and exercises. *Scan J Rehabil Med Suppl* 1:1-40, 1970
20. Nasto LA, Ngo K, Leme AS, et al: Investigating the role of DNA damage in tobacco smoking-induced spine degeneration. *Spine J* 14:416-423, 2014
21. Nasto LA, Wang D, Robinson AR, et al: Genotoxic stress accelerates age-associated degenerative changes in intervertebral discs. *Mech Ageing Dev* 134(1-2):35-42, 2013
22. Nerlich AG, Schleicher ED, Boos N: 1997 Volvo Award winner in basic science studies. Immunohistologic markers for age related changes of human lumbar intervertebral discs. *Spine (Phila. Pa. 1976)* 22:2781-2795, 1997
23. Niedernhofer LJ, Robbins PD: Signaling mechanisms involved in the response to genotoxic stress and regulating lifespan. *Int J Biochem Cell Biol* 40:176-180, 2008
24. Park JS, Park JB, Park IJ, et al: Accelerated premature stress-induced senescence of young annulus fibrosus cells of rats by high glucose-induced oxidative stress. *Int Orthop* 38:1311-1320, 2014
25. Pearce RH, Mathieson JM, Mort JS, et al: Effect of age on the abundance and fragmentation of link protein of the human intervertebral disc. *J Orthop Res* 7:861-867, 1989
26. Pratsinis H, Constantinou V, Pavlakis K, et al: Exogenous and autocrine growth factors stimulate human intervertebral disc cell proliferation via the ERK and Akt pathways. *J Orthop Res* 30:958-964, 2012
27. Rannou F, Lee TS, Shou RH, et al: Intervertebral disc degeneration: The role of mitochondrial pathway in annulus fibrosus cell apoptosis induced by overload. *Am J Pathol* 164:915-924, 2004
28. Shapiro IM, Vresilovic EJ, Risbud MV: Is the spinal motion segment a diarthrodial polyaxial joint: What a nice nucleus like you doing in a joint like this? *Bone* 50:771-776, 2012
29. Sivan SS, Tsitron E, Wachtel E, et al: Age-related accumulation of pentosidine in aggrecan and collagen from normal and degenerate human intervertebral discs. *Biochem J* 399:29-35, 2006
30. Sztrolovics R, Alini M, Roughley PJ, et al: Aggrecan degradation in human intervertebral disc and articular cartilage. *Biochem J* 326:235-241, 1997
31. Tengblad A, Pearce RH, Grimmer BJ: Demonstration of link protein in proteoglycan aggregates from human intervertebral disc. *Biochem J* 222:85-92, 1984
32. Verzijl N, DeGroot J, Ben ZC, et al: Age- and diabetes-related nonenzymatic crosslinks in collagen fibrils: Candidate amino acids involved in Advanced Glycation End-products. *Matrix Biol* 34:89-95, 2014