

# İntervertebral Disk Dokusunda Hücresel Düzeyde Rejenerasyon Mekanizmaları

## Mechanisms of Cellular Regeneration in the Intervertebral Disc Tissue

### ÖZ

Dejeneratif intervertebral disk hastalıkları, güncel nöroşirürji pratiğinde sıklıkla karşılaşılan patolojilerden birisidir. Bu makalede intervertebral disk dokusunda hücresel düzeyde dejeneratif süreçleri ve rejeneratif tedavi yöntemlerini irdelemek amaçlanmaktadır. Bu kapsamda proteinler, büyüme faktörleri, hücre ve gen tedavileri dahil olmak üzere modern terapötik yaklaşımlar gözden geçirilmiştir. Ayrıca, IVD'de implantasyon için kullanılan farklı kök hücre tipleri; kondrositlere ve notokordal hücre tiplerine farklılaşmaları için kök hücrelerin kaderini değiştirmek için kullanılan küçük moleküllere örnekler sunulmaktadır. Sonuç olarak, bu derleme, intervertebral disk dejenerasyonda rejeneratif tıp temelli yaklaşımları vurgulamaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** Dejenerasyon, İntervertebral disk, Rejenerasyon

### ABSTRACT

Degenerative intervertebral disc diseases are one of the pathologies frequently encountered in current neurosurgery practice. In this article, it is aimed to examine degenerative processes and regenerative treatment methods at the cellular level in intervertebral disc tissue. In this context, modern therapeutic approaches including proteins, growth factors, cell and gene therapies are reviewed. Also, different types of stem cells used for implantation in IVD; Examples of small molecules used to alter the fate of stem cells to differentiate into chondrocytes and notochordal cell types are presented. In conclusion, this review highlights regenerative medicine-based approaches in intervertebral disc degeneration.

**Keywords:** Degeneration, Intervertebral disc, Regeneration

### GİRİŞ

İntervertebral disk dejenerasyonu (IVDD), bel ağrısının önde gelen nedenidir. Disk dejenerasyonu, azalan hücre sayısı ve azalan hücre dışı matris (ECM) üretimi ile karakterize edilir (3). Mezenkimal kök hücreler (MSC'ler), dejeneratif hastalıklar için umut verici bir tedavi olarak tasavvur edilmiştir. MSC'lerin ECM üreten kondrojenik türevlerini kullanan hücre bazlı terapi, intervertebral diskin (IVD) işlevselliğini geri kazanma potansiyeline sahiptir (3,9).

IVD, omurlar arasında bulunan avasküler ve anöral bir bölgedir, omurlar arasındaki alanın yumuşak bir şekilde korunmasını sağlarken omurga üzerine uygulanan basıncı emer. IVD'de merkezi nükleus pulposus (NP) sınırlı sayıda notokondral hücre ve yüksek hacimde proteoglikanlar ve glikozaminoglikanları (GAG'ler) içerir. NP'ü halka şeklindeki annulus fibrosus (AF) çevreler ve kıkırdaksı uç plakalar [(cartilaginous endplate (CEP))]ile birlikte disk yapısı oluşur. Disk, kontrollü difüzyon için ana bölge olan CEP tarafından sağlanan besinler ve meta-

bolitlerle beslenir. IVD'lerin ana işlevi, yükü omurga ile vücut ağırlığı arasında iletmektir ve vücudun fleksiyon ve torsiyonuna yardımcı olmaktır (7,9). IVD'nin dejenerasyonu, yerleşik hücrelerin parçalanmasıyla başlar ve bunu en sonunda proteoglikan ve su içeriğinde bir azalma izler. Dejeneratif süreç yaş, yaralanma ve genetik faktörlerle yoğunlaşır. Bu faktörler NP bölgesinde ekstrasellüler matriks sentezini azaltır (4,7). Ek olarak, notokondral hücrelerin kaybı, anabolik ve katabolik süreçlerin dengesini bozarak disk dejenerasyonuna neden olur. Bu şiddetli değişiklikler ayrıca sitokinleri serbest bırakır ve matris metaloproteinazların salgılanmasını hızlandırır (3,9). Farmakolojik ve konvansiyonel veya cerrahi tedaviler kullanarak doku altyapısını gençleştirmeye ve IVD'nin biyokimyasal homeostazını iyileştirmeye yönelik mevcut yaklaşımlar, dejeneratif disk hastalığının (DDD) neden olduğu ağrıların uzun süreli veya tamamen ortadan kalkmasını sağlamakta yetersiz kalmaktadır (4,9,12).

## IVD'DE HÜCRESEL SİNYAL

Embriyogeneze IVD'nin gelişimi, notokord ve nöral tüp plakasındaki birbirleri ile çok iyi koordine olan moleküler sinyaller ağına dayanmaktadır (6).

### IVD'de Öne Çıkan Sinyal Yolları

#### *Sonic hedgehog*

Sonic hedgehog (Shh) sinyali, doku morfogenezi, hücre farklılaşması, çoğalması ve bunların regülasyonunda hayati bir rol oynar (8,12). Somite sapsları, Shh ve Wnt (wingless-related integration site) tarafından düzenlenen sinyal yolları ile gelişirken, sklerotom dokusu yalnızca Shh yolunun etkisi altında oluşur (11,12). Shh hücre içi sinyal kaskadı, sklerotom büyümesinin indüklenmesinde kemik morfogenetik proteinleri (BMP'ler) yolunun doğrudan bir antagonisti olan Noggin-kaskadı ile sinerjistik etkileşim yoluyla çalışır. Notokord hücreleri tarafından eksprese edilen Noggin molekülleri, gelişen omur gövdelerinden AF oluşumuna kadar BMP sinyalini bloke eder (8,11,12).

#### *Paired box genleri*

Paired box (Pax) genleri, embriyogeneze sırasında pluripotent hücrelerin proliferasyonu, farklılaşması, apoptozu ve göçü düzenleyen transkripsiyon faktörleri kodlamaktadır. Pax genlerinin ekspresyonu, IVD'deki hücrelerin farklı popülasyonlarına farklılaşmasında fonksiyon görür (6,11). Pax1 ve Pax9 genlerinin IVD oluşumunun

tamamında yer aldığı kanıtlanmıştır. Bu genler yok edildiğinde, IVD ve omur gövdeleri gelişmez ve düzensiz bir kırıldak yapısı gözlenir (6,11). Notokord hücrelerindeki Shh ve Noggin sinyal yollarının tüm sklerotom dokularındaki Pax1 gen ekspresyonu düzenlediği belirlenmiştir. IVD oluşuktan sonra özellikle notokordun etrafını saran IVD primordium (AF'nin öncüsü) dokuda Pax1 geninin ekspresyonu artar, bu şekilde Pax1 gen ifadesi NP'ye dönüşen hücrelerin yayılmasını sağlayarak notokord ilerlemesini etkilemektedir (2,6,11).

#### *SRY-box genes*

SRY-box (Sox) ailesi üyesi proteinler, vertebral kolonun gelişiminde yer almaktadır (6,8). Sox5, Sox6 ve Sox9 genleri, IVD gelişimi ve büyümesi için önemli bir öneme sahiptir. Sox5 ve Sox6, notokord ve sklerotom hücrelerinde ifade edilmektedir (2,8,11). Sox5 ve Sox6 genlerinin susturulduğu farelerde, notokordal zarın gelişimi zayıflamıştır. Bu, bu genlerin, IVD oluşumunda ve hücreler arası matriksi oluşturan kolajen II ve agrekan birçok proteininin düzenlenmesinde kilit rol oynadığı ileri sürülmektedir (6,8,11). Notokordal membranın zayıf gelişimi veya olmaması, notokordal hücrelerin (NC'ler) apoptoza uğramasına ve IVD segmentlerinin gelişiminin bozulmasına neden olmaktadır (6,8).

#### *Transforming growth factor-β geni*

Transforming growth factor-β (TGF-β) sinyal yolları, gelişen IVD'de hücre göçü çoğalma, farklılaşma ve ekstrasellüler matriks sentezinin düzenlenmesinde etkili bir şekilde yer alır (5,6,9). TGF-β3 embriyogeneze yoğunlaşma aşaması sırasında perikordal zarda aktif olarak sentezlenir ve AF ve vertebral cisimlerin gelişimini destekler (6,9). TGF-β2 reseptörlerinin blokajı, tip II kollajen sentezini inhibe ederek AF'nin dış kısmı olan kusurlu NP'ye ve yetersiz IVD mineralizasyonuna yol açar. TGF-β2 reseptörleri, IVD dokusunun ve omur gövdelerinin farklılaşmasına katılarak omurgayı oluşturur (5,9).

## IVDD VE DEJENERE DİSK DOKUSUNDA İNFLAMASYON

Dejenere IVD hücreleri, sağlıklı IVD oranla daha yüksek konsantrasyonlarda proinflatuar mediatörler üretmekte, bu durumda IVD'nin patogenezeindeki rolleri ile ilişkilendirilmektedir (4,6,7,8). Bu mediatörler arasında İnterlökinler (IL), interferonlar, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α), matriks metaloproteinazlar (MMP'ler), prostaglandin E2 (PGE2), nitrik oksit (NO) dahil

olmak üzere çeşitli sitokinler, kemokinler ve enzimler bulunmaktadır. Bunlar arasında TNF- $\alpha$  ve IL-1 ailesinin sitokinleri en yaygın şekilde araştırılmıştır. Hem TNF- $\alpha$  hem de IL-1 $\beta$ , IVD hücreleri tarafından üretilir ve IVDD'nin patogenezi ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir (4,6,12).

Dejenere ve fıtıklaşmış disklerde, hem proinflamatuvar kemokinler, hem de TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin artmış ekspresyonunu bildirmiştir (5). Her ikisinin de ECM'yi parçalayan enzimleri aktive ettiği ve *in vitro* olarak ECM bileşen sentezini azalttığı bulunmuştur. Son araştırmalar, hem TNF-a hem de IL-1 $\beta$  moleküllerinin, özellikle MMP-1, -2, -3, -7, -8 ve -13 olmak üzere MMP ekspresyonunu indüklediğini göstermiştir (4,8,12). Bu MMP'ler, kollajen ve proteoglikanlara (PG'ler) karşı proteolitik aktiviteleri ile iyi tanınmaktadır. Ayrıca, proinflamatuvar bir sitokin olarak IL-1 $\beta$ , inflamasyona ve diskojenik ağrıya yol açan IVD'nin neovaskülarizasyonunu ve neoinnervasyonunu uyaran vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), beyin kaynaklı nörotrofik faktörü ve sinir büyüme faktörü ekspresyonlarının artmasına neden olmaktadır (6,7,8,12). Birçok çalışma, IL-1 $\beta$ 'nin disk hücrelerinde diğer sitokinleri ve kemokinleri etkileyen bir ana düzenleyici olduğu ileri sürmektedir. IVDD'nin patogeneziinde yer alan başka bir proinflamatuvar sitokin, yine NP hücreleri tarafından salgılanan IL-6'dır. Aslında, dejenere IVD doku numuneleri, önemli ölçüde daha yüksek bir IL-6 ekspresyonu içerir. Özellikle, sitokin genlerindeki çok sayıda genetik varyasyon, IVD dejenerasyonu ile ilişkilendirilmiştir (6,7,8,12).

## DEJENERATİF İNTERVERTEBRAL DİSKLER İÇİN TERAPÖTİKLER

Kronik bel ağrısı için geleneksel konservatif tedavi, yatak istirahati, fizyoterapi, analjezik ve anti-inflamatuvar ilaçlar, akupunktur ve kayropratik dahil olmak üzere çok çeşitli tedavi yöntemlerini içerir (15,16). Ağrı semptomları; opioidler, steroidler, non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar ve kas gevşeticiler uygulanarak giderilebilmektedir. Yine de IVDD için modern tedaviler bir tartışma konusu olmaya devam etmektedir ve tedavi seçenekleri sınırlıdır (10,15).

### Yeni Terapötik Yaklaşımlar

Araştırma ve araştırma tekniklerindeki ilerlemeler, bilim insanlarını IVD'nin rejenerasyonunda, mekanik işlevi eski haline getirecek ve koruyacak, ağrılı semptomları

azaltan yenilikçi farmakolojik tedaviler aramaya teşvik etmektedir. Böyle bir tedavide dejenerasyon aşamasına bağlı olarak ardışık olayları moleküler düzeyde düzenleyen bir biyolojik yaklaşım 1) IVDD'nin erken evresinde (derece II-III), büyüme faktörü enjeksiyonları, 2) Dejenerasyonun orta aşamasında (derece IV), gen tedavisi veya hücre tedavisine 3) IVDD'nin ileri aşamasında (Derece V), doku mühendisliği yaklaşımlarını içermektedir (12,16).

### Büyüme Faktörü Tedavisi

Büyüme faktörlerinin terapötik kullanımı, matriks sentezini artırır ve inflamasyonu azaltarak dejenerasyonu geciktirir. Büyüme faktörleri, hücre yüzeyinde bulunan spesifik reseptörleri hedefleyen, böylece hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını etkileyen ve ECM'yi sentezleme yeteneklerini artıran peptitler veya polipeptitlerdir (4,6,13). BMP'leri ve TGF- $\beta$  aile üyelerini içeren bu özgül büyüme faktörleri osteojenik ve kondrojenik farklılaşmayı uyarmak için kullanılmaktadır. BMP-2 ve -7, TGF- $\beta$ , epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), büyüme ve farklılaşma faktörü 5 (GDF-5) ve insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) ile yapılan eşitli *in vitro* ve *in vivo* analizler bu faktörlerin ECM sentezini uyardıklarını ortaya çıkarmıştır (4,13). IVDD'nin kronik koşullarında, büyüme faktörlerinin kısa bir yarılanma ömrüne sahip olması ve kararsız olmaları büyüme faktörlerinin IVD'ye doğrudan enjeksiyon olarak kullanılmalarını sınırlamaktadır. Çoklu büyüme faktörü enjeksiyonlarının uygulanması, istenen etkiyi elde etmek için hedef bölgede kademeli salınımı sağlamak veya gen bazlı dağıtım sistemleri kullanılarak büyüme faktörü tedavisinde karşılaşılan bu sınırlamalar aşılmaya çalışılmaktadır. Şu anda IVD rejenerasyonunu desteklemek için birincil terapötik seçenek olarak kullanılan trombosit açısından zengin plazmadır (PRP) (4,13).

PRP'nin insan kondrosit hücrelerinin proliferasyonu, yeniden farklılaşması ve ECM oluşturmak üzere teşvik edilmesi dahil olmak üzere insan kondrosit hücreleri üzerindeki potansiyelini daha önce inceledik. Bu çalışmamızda düşük (2000-4000 lökosit/ $\mu$ L) ve yüksek (9000-11000 lökosit/ $\mu$ L) konsantrasyonlarda lökosit içeren PRP formülasyonları hazırlayarak taşıyıcı hidrojel sistem varlığında ve yokluğunda etkisini karşılaştırdık ve taşıyıcı sistem ile uygulanan ve düşük konsantrasyonlarda lökosit içeren PRP'nin kırıldak hasarının tedavisinde PRP'nin

konvansiyonel uygulamalarından daha etkin olduğunu gösterdik (13).

PRP uygulamalarında ise dozajın standardizasyonunun olmaması, hazırlama süreci ve etki şeklinin tanımlanması gibi bazı sınırlamaların halen giderilmesi gerekmektedir (13,14).

### Gen Temelli Tedavi

Son birkaç on yılda, gen temelli tedavi veya gen tedavi alanında yapılan birçok araştırma IVD yapılarının rejenerasyonuna odaklanmaktadır. Gen tedavi yaklaşımlarının birçoğu kondrosite özgü proteinleri kodlayan genlerin doğrudan konakçı dokulara aktarılmasını içermektedir (7,12). Güvenli ve etkili bir tedavi için gen-doz etkisinin karakterize edilmesi gerekir. Ayrıca konakçı hücelere doğrudan gen aktarımı yaklaşımının yetersiz kaldığı da bildirilmektedir. Bununla birlikte, bu yaklaşımın etkinliğini destekleyen araştırmalar da vardır (6, 12). Özellikle lentivirüslerin vektör olarak kullanımının etkin gen transferi sağlayabildiği bildirilmektedir. Sıklıkla çalışılan faktörler TGF- $\beta$ 3, Sox-9, GDF-5, BMP ailesi üyeleri BMP2, 7 ve 12, bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF), Wnt, IL-1, metalloproteinazların doku inhibitörü (TIMP1) ve LIM mineralizasyon proteini 1 (LMP-1)'in NP hücrelerinde kollajen tip II ve agrekan sentezini artırdığı bildirilmiştir (6,7,12).

### Hücre Tedavisi Yaklaşımları

Çeşitli tedavi alternatiflerinin geliştirilmesine rağmen, konservatif ve cerrahi terapötik yaklaşımlar, dejenere disk hastalığının tedavisinde istenilen derecede yeterli olamamaktadır. Zaten geleneksel tedavilerde dejenere olmuş IVD'nin yapısal ve mekanik işlevini yeniden kurmak amaçlanmamaktadır (10,12). Rejeneratif tıp temelli bir yaklaşımda farklı hücrel ve moleküler olayları hedefleyerek IVD'de hücre ölümünü sınırlamak, apoptotik ve nekrotik hücrelerin yerine geçecek hücre kaynakları sağlamak amaçlanmaktadır (10). Onaylanmış birkaç hücrel ve moleküler yaklaşımdan, kök hücre tedavilerinin kullanımı elde edilen sonuçlar ile öne çıkmaktadır (10,12). Kök hücreler, kök hücre özelliğini koruyarak çoğalabilen ve belirli hücre tiplerine farklılaşabilen, bir hücre tedavisi aracı olarak kullanılabilir farklılaşmamış hücrelerdir. Kök hücre tipleri; Perinatal ve erişkin dokulardan elde edilen Mezenkimal kök hücreler, Embriyonik kök hücreler (ESC) ve Uyarılmış pluripotent kök hücreler (iPSC)'dir (10,12).

## IVD Rejenerasyonu İçin Kök Hücreler

### Mezenkimal kök hücreler (MSC)

MSC'lerin terapötik kullanımı, iki temel özelliğine dayanmaktadır, farklı hastalıkları tedavi etmek için kullanılabilir ve otolog kaynaktan izole edilebilir. MSC'ler, IVDD, inme, miyokardiyal iskemi, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalık için bir tedavi seçeneği olarak kabul edilir (3,8,15). MSC'ler adherent özelliklerinden dolayı kolaylıkla izole edilebilirler. MSC'ler, kemik, yağ ve kıkırdak hücre soylarına ve aynı zamanda uygun büyüme faktörleri veya farmakolojik indükleyiciler tarafından yönlendirildiğinde endotelial, miyojenik, epitelyal ve nöral hücre tiplerine farklılaşma yeteneğine sahiptir (15). Hücre kültüründe dikkate değer proliferatif kapasiteye sahip olan MSC'lerin kültür ortamında fenotipleri ve farklılaşma potansiyelleri de oldukça stabildir. Ayrıca transplante edildikleri dokuda farklılaşmalar ve immünolojik olarak inaktif olmaları, bu kök hücre tipinin ideal bir tedavi aracı olarak görülmesine neden olmaktadır (3,8). MSC'ler, kondrojenik indüksiyon koşullarında fenotipik olarak NP hücrelerine benzeyen kondrosit benzeri hücelere farklılaşma konusunda büyük bir yeteneğe sahiptir. Ancak dejeneratif diske implante edilen MSC'nin farklılaşma davranışlarının daha fazla araştırılması gerekmektedir (3,8,15).

### Dokuya özgü kök hücreler

CEP, AF ve NP türevli kök hücreler, sırasıyla kıkırdak uç plaka kök hücreleri, AF kök hücreleri ve nükleus pulposus kök hücreleri (NPSC'ler) olarak adlandırılan yetişkin IVD'den izole edilir. Bu hücreler, IVD iyileşmesi için etkili adaylardır (8,10,12). Yapılan çalışmalar disk kök hücrelerinin IVD nişinde yer bulma ve tutunma, farklılaşma yeteneği ve fonksiyonel olmak açısından dikkate değer olduklarını göstermiştir (12). Diskten türetilmiş kök hücreler kullanılarak IVD hasarının üstesinden gelmek için yapılan çalışmalar, diske özgü kollajen tip II ve proteoglikan üreterek ve disk hidrasyonunu fizyolojik duruma geri getirerek etkilenen dokuyu değiştirme yeteneklerini göstermiştir (12). Bununla birlikte, disk kök hücrelerinin toplanması, ayrılması ve çoğaltılmasındaki sınırlamalar ve etkilerinin düşük olması nedeni ile tedavi amacıyla kullanılamamaktadır (8,10,12).

### Embriyonik kök hücreler

Blastula'nın iç hücre kütesinden elde edilen Embriyonik kök hücreler (ESC'ler) farklı hücre tiplerine farklılaşma



konusunda yetenekleri nedeniyle *in vitro* olarak üretildikten sonra disk rejenerasyonu için transplante edilebilecek kararlı ve nispeten daha iyi bir kaynak olarak öne çıkmaktadır. Araştırmacılar başarılı bir şekilde ESC'leri kondrosit benzeri hücelere dönüştürmeyi başardılar ancak ESC'ler tümörijenik özellikler gösterebilmekte ve teratom oluşumuna neden olabilmektedir. Ayrıca embriyonik kökenleri nedeniyle tedavi amaçlı kullanımları etik kaygılara neden olmaktadır. Tüm bu dezavantajlar IVDD tedavisi için ESC'lerin kullanımını sınırlamaktadır (8,10,12).

### Uyarılmış pluripotent kök hücreler

Uyarılmış pluripotent kök hücreler (iPSC'ler), genetik olarak yeniden programlanmış somatik hücrelerden elde edilen embriyonik hücre benzeri hücrelerdir (2).

Yetişkin terminal olarak farklılaşmış hücrelerde pluripotens genlerinin ve faktörlerinin aktarılması, bu çağın önemli bir keşfidir (12). İlk olarak 2006 yılında Shinya Yamanaka ve arkadaşları fare iPSC'leri fibroblastlara dört pluripotent genin: Sox2, octamer-binding transcription factor 3/4 (Oct3/4), Kruppel-like factor 4 (Klf4) ve Myelocytomatosis (c-myc) aktarılarak ESC benzeri bir hücreye yeniden programlanabileceğini ortaya koymuştur. Araştırmacıların elde ettikleri iPSC'ler, fare ESC'leri ile aynı pluripotent belirteçleri ifade eden ve herhangi bir hücre soyuna farklılaşabilen hücrelerdir. Aynı araştırma grubu insan fibroblastlarını kullanarak yaptıkları çalışmalarda da fibroblast aynı faktörleri uygulayarak iPSC'lere başarılı bir şekilde yeniden programladılar (14). Farklı bir araştırma ekibi, c-myc ve Klf4 yerine Lin-28 ve Nanog'da küçük değişiklikler yaparak benzer bir başarı elde etti. iPSC'ler, notokordda bulunan üç eşey tabakası hücrelerinin her birine farklılaşabilmektedir ancak aşırı derecede pluripotent doğaları nedeniyle tümör oluşumuna duyarlı olabilmektedirler (8,10,12).

Hücre tedavisi yaklaşımları her ne kadar umut vaat etse de halen çözülmesi gereken birçok problemde bulunmaktadır. IVD'nin mikro ortamının çok sert olması, bu basit hücre tedavisi stratejisini çok daha zorlaştırılmaktadır. IVD ortamı, yüksek laktat konsantrasyonları, düşük glukoz ve oksijen konsantrasyonları ve dalgalanan ozmolarite nedeniyle asidik bir pH'a sahiptir; dejenere IVD ayrıca bu zorlu ortamı daha da bozan katabolik sitokinleri sağlıklı IVD'den daha yüksek oranlarda ifade eder. Bu nedenle, hücrelerin ayrıca IVD nişine uyum sağlayabilmesi ve hayatta kalabilmesi gerekecektir (15).

### Doku Mühendisliği Yöntemleri ile Tedavi

MSC'ler, transplantasyonu takiben hayatta kalma, yetersiz parakrin sekresyonu ve hücre yerleşimindeki sınırlamalar gibi zorluklarla karşı karşıyadır. MSC'lerin etkinliğindeki bu engeller, tercih edilen hücre tipine göç, yuvalanma, yayılma ve farklılaşma potansiyellerini geliştirerek aşılabılır (1,14). Bu nedenle, kök hücreler için uygun bir yapı iskelesi seçmek, kaybedilen dokunun yeniden geliştirilmesine daha iyi hizmet edebilir. Biyoyumluluk, hücre infiltrasyonu ve nakledilen hücrelerin yeniden modellenmesi için enjekte edilebilir biyomateriyaller veya mikro ve nano ölçekli yapı iskeleleri tercih edilebilmektedir (1). Tamamen biyo-uyumlu bir malzeme aynı zamanda hücre bağlanmasını, proliferasyonunu, normal morfolojiyi ve arzu edilen faktörlerin yüksek ekspresyonunu sağlayabilir. Doku mühendisliği *in vitro* farklılaşmanın indüklendiği ve *in vivo* olarak hücrelerin nakledildiği stratejilere sahiptir (2,12,14).

İntervertebral disk rejenerasyon tedavisi için aday biyomateriyaller arasında Polilaktik asit (PLA), Poliglitolik asit (PGA), Polietilen glikol (PEG) gibi sentetik veya Aljinat, Agaroz, Fibrin, Hyaluronik asit, Kollajen, Kitosan ve karboksimetilselüloz doğal ürünler sayılabilir (2,16).

### Gelecek

Disk dejenerasyonunu durdurmak veya tersine çevirmek için iPSC'lerin uyarılabileceğinin gösterilmesi umut verici bir yaklaşım. *In vivo* olarak notokordal benzeri hücreler oluşturabilen iPSC'lerin disk sağlığı üzerindeki etkisi kanıtlanmıştır. Yine de yetişkin disklerinden hücrelerin saflaştırılmasına dayanan hücre tabanlı tedavilerde yaşanan zorluklar iPSC'den türetilen notokordal benzeri hücreler içinde geçerli olacaktır ve bu hücrelerde muhtemelen diskleri kendi başlarına iyileştiremeyeceklerdir. Belirli bir dokuda hücrelerin bulunduğu nişin, hücre fonksiyonunu büyük ölçüde etkileyebileceği açıktır. Bu yüzden hangi kaynaktan gelirse gelsin hücrelerin bölünmesi ve/veya disk fonksiyonunu eski haline getirmek için gerekli proteinleri üretmesi için; içinde yerleşmesi gereken nükleus pulposus yapısında şu anda bilinmeyen niş(ler)in tanımlanması ve iyi karakterize edilmesi gerekmektedir. Ayrıca IVDD'de nükleus pulposus dışındaki diğer disk dokularının hasar görme olasılığı artar. Bu nedenle notokord benzeri hücrelerin doğrudan enjeksiyonu yanı sıra biyolojik temelli diskler oluşturmak için AF ve uç plaka hücreleri ile birlikte kullanımı tasarlanabilir. Ne yazık ki, Annulus fibrosunun farklı bölümlerinin ve özellikle

uç plakaların nasıl oluştuğuna dair anlayışımız şu anda sınırlıdır. Tamamen hücre tabanlı bir diskin farklı parçalarının transplantasyondan önce *in vitro* olarak nasıl bir araya getirileceğine ilişkin lojistiğin de ele alınması gerekir. Hücre kaplı biyo-uyumlu materyalleri kullanan bir ara adım, *in vivo* olarak disk onarımında bir miktar başarı göstermiştir. Bununla birlikte, biyo-uyumlu materyallerin omurgaya entegrasyonu ve diskin biyomekanik fonksiyonunun yeniden kazandırılması ile ilgili zorluklar devam etmektedir. Diskleri hasar görmüş veya bozulmuş bireylerde disk işlevini eski haline getirmek için biyomateryaller ile saflaştırılmış hücreler ve/veya proteinlerin henüz belirlenmemiş bir kombinasyonunu içeren yaklaşımların bir kombinasyonuna ihtiyaç duyulması muhtemeldir.

#### KAYNAKLAR

1. Akyuva Y, Kaplan N, Yılmaz İ, Özbek H, Şirin DY, Karaarslan N, Güler O, Ateş Ö: Delivering growth factors through a polymeric scaffold to cell cultures containing both nucleus pulposus and annulus fibrosus. *Turk Neurosurg* 29:180-193, 2019
2. Binch ALA, Fitzgerald JC, Growney EA, Barry F: Cell-based strategies for IVD repair: Clinical progress and translational obstacles. *Nat Rev Rheumatol* 17:158-175, 2021
3. Chen WH, Liu HY, Lo WC, Wu SC, Chi CH, Chang HY, Hsiao SH, Wu CH, Chiu WT, Chen BJ, Deng WP: Intervertebral disc regeneration in an ex vivo culture system using mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma. *Biomaterials* 30:5523-5533, 2009
4. Chu G, Zhang W, Han F, Li K, Liu C, Wei Q, Wang H, Liu Y, Han F, Li B: The role of microenvironment in stem cell-based regeneration of intervertebral disc. *Front Bioeng Biotechnol* 10:968862, 2022
5. Çalışkan T, Şirin DY, Karaarslan N, Yılmaz İ, Özbek H, Akyuva Y, Kaplan N, Kaya YE, Şimşek TA, Yıldırım GA, Ateş Ö: Effects of etanercept, a tumor necrosis factor receptor fusion protein, on primary cell cultures prepared from intact human intervertebral disc tissue. *Exp Ther Med* 18(1):69-76, 2019
6. Ekram S, Khalid S, Salim A, Khan I: Regulating the fate of stem cells for regenerating the intervertebral disc degeneration. *World J Stem Cells* 13(12):1881-1904, 2021
7. Fiordalisi MF, Ferreira JR, Pinto ML, Ribeiro-Machado C, Pinto MT, Oliveira MJ, Barbosa MA, Gonçalves RM, Caldeira J: The impact of matrix age on intervertebral disc regeneration. *Biomaterials Advances* 143:213192, 2022
8. Harfe BD: Intervertebral disc repair and regeneration: Insights from the notochord. *Semin Cell Develop Biol* 127:3-9, 2022
9. Khalid S, Ekram S, Salim A, Chaudhry GR, Khan I: Transcription regulators differentiate mesenchymal stem cells into chondroprogenitors, and their *in vivo* implantation regenerated the intervertebral disc degeneration. *World J Stem Cells* 14(2):163-182, 2022
10. Ma K, Chen S, Li Z, Deng X, Huang D, Xiong L, Shao Z: Mechanisms of endogenous repair failure during intervertebral disc degeneration. *Osteoarthritis Cartilage* 27:41-48, 2019
11. Nakamichi R, Asahara H: The transcription factors regulating intervertebral disc development. *JOR Spine* 3:e1081, 2020
12. Sakai D, Schol J, Watanabe M: Clinical development of regenerative medicine targeted for intervertebral disc disease. *Medicina* 58:267, 2022
13. Şirin DY, Yılmaz İ, İsyar M, Öznam K, Mahiroğulları M: Does leukocyte-poor or leukocyte-rich platelet-rich plasma applied with biopolymers have superiority to conventional platelet-rich plasma applications on chondrocyte proliferation? *Joint Dis Relat Surg* 28(3):142-151, 2017
14. Ukeba D, Yamada K, Suyama T, Lebl DR, Tsujimoto T, Nonoyama T, Sugino H, Iwasaki N, Watanabe M, Matsuzaki Y, Sudo H: Combination of ultra-purified stem cells with an *in situ* forming bioresorbable gel enhances intervertebral disc regeneration. *eBioMedicine* 76:103845, 2022
15. Williams RJ, Tryfonidou MA, Snuggs JW, Le Maitre CL: Cell sources proposed for nucleus pulposus regeneration. *JOR Spine* 4:e1175, 2021
16. Yamada K, Iwasaki N, Sudo H: Biomaterials and cell-based regenerative therapies for intervertebral disc degeneration with a focus on biological and biomechanical functional repair: Targeting treatments for disc herniation. *Cells* 11:602, 2022