

## Dejenere İntervertebral Disk Dokusunda Kök Hücre Uygulamaları Rejeneratif Süreçte Rol Alabilir mi?

### Can Stem Cell Applications Play a Role in the Regenerative Process in Degenerated Intervertebral Disc Tissue?

#### ÖZ

İntervertebral diskte, yaşlanma ile birlikte bir dizi hücrel ve moleküler olay neticesinde ilerleyici ve geri dönüşümsüz dejenerasyon meydana gelir. Yoğun araştırmalara rağmen, intervertebral diski yeniden oluşturma girişimlerinde tam başarı sağlanamamıştır. Bu derlemede, intervertebral disk rekonstrüksiyonu için onarım ve rejeneratif stratejiler, mevcut durumları, önlerindeki zorluklar ve gelecekteki olası planlamalar tartışılmıştır.

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

#### ABSTRACT

Progressive and irreversible degeneration occurs in the intervertebral disc as a result of a series of cellular and molecular events with aging. Despite intensive research, attempts to reconstruct the intervertebral disc have not been fully successful. In this review, repair and regenerative strategies for intervertebral disc reconstruction, their current status, challenges ahead and possible future planning are discussed.

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

#### GİRİŞ

Omurgada komşu omur gövdeleri arasında yer alan intervertebral disk (IVD), günlük aktiviteler sırasında büyük deformasyonlara uğrar ve önemli yükler taşır. IVD'ler, omurga yüksekliğinin yaklaşık üçte birini kaplayarak, omurga hareketinde önemli bir rol oynar ve omurgaya esneklik sağlar. IVD, nükleus pulpozus (NP) olarak bilinen bir iç jelatinimsi çekirdeği çevreleyen annulus fibrosus (AF) adı verilen kalın dış fibrokartilaj halkalardan oluşur.

Dejeneratif disk hastalığı (DDD), intervertebral diskin kompleks hücrel ve moleküler olaylar neticesinde ilerleyici ve geri dönüşümsüz dejenerasyonu ile karakterizedir.

Bu dejenerasyon prosesinin gelişimi genetik, beslenme ve mekanik etkileri içerebilir (14,23). Dejeneratif disk hastalığına bağlı bel ağrısı, özellikle yaşlılarda en yaygın iş göremezlik, tıbbi-cerrahi bakım gerektiren, sakatlık ve morbidite nedenlerinden biridir (11). Bel ağrısı, yaşam kalitesini uzun yıllar boyu etkileyen, geniş sosyo-ekonomik etkilere sahip, yaygın ve rahatsız edici bir durumdur. Ülke ve hasta ekonomisine önemli ölçüde yüksek bir mali yük getirir (16).

İntervertebral disk dejenerasyonunun bel ağrısı (LBP) ile ilişkisi çok iyi bilinmemektedir. Bununla birlikte, çalışmalar yaşlanma, genetik, meslek ve intervertebral disk yırtılmasının bel ağrısına neden olan intervertebral disk

dejenerasyonuna yol açabileceğini göstermiştir (25,35). Öte taraftan bel ağrısı çeken hastalarda intervertebral disklerde sıklıkla dejeneratif değişiklikler saptanır. Günümüzde dejeneratif disk hastalığının tedavisi, analjezikler, fizik tedavi ve algolojiden cerrahi tedaviye kadar uzanan geniş bir yelpazeden oluşmaktadır.

Omurganın dejenerasyonu ile görülen bir diğer patoloji de intervertebral diskte görülen yapısal defekt neticesinde annulus fibrozusun hasarı ve fıtık oluşmasıdır. Herniasyon, nukleus pulposusun yumuşak içeriğinin anullus fibrozustaki hasardan çıkması ile oluşur. Diskektomi ise spinal fıtıkların tedavisinde günümüzdeki altın metoddur. Aslında diskektomi ile nukleus pulposuz çıkartılırken annulus fibrozusun da bir kısmı çıkartılır. Bu da intervertebral disk dejenerasyonunu artırarak bel ağrısının artmasına neden olabilir. Cerrahi müdahalelerdeki sınırlamalar, komplikasyonlar, disk dejenerasyonunu artırmaları ve rejenerasyona katkılarının olmamaları dezavantajlarıdır.

İntervertebral disk dejenerasyonu ve buna bağlı bel ağrısını iyileştirmek için cerrahi yöntemlerle ilişkili doğal kısıtlamaların üstesinden gelmek için, son araştırmalar hücre, biyomoleküller ve gen terapilerine artan ilgi ile intervertebral disk rejeneratif tıbbına odaklanmıştır (17,20,34). Burada amaç önce intervertebral disklerdeki patolojiyi anlamak ve cerrahi komplikasyonları önlemek için anatomiye bozmadan bel ağrısını olabildiğince ortadan kaldırmaktır.

Dejenere bir IVD'de AF, sağlıklı dokulara kıyasla farklı mekanik özellikler sergileyen daha düşük proteoglikanlar ile daha az organize ve dehidratedir. Dejenere IVD'lerde sıklıkla gözlemlendiği gibi AF hücre yoğunluğundaki bir azalma, hücre dışı matristeki (ECM) anabolizma:katabolizma oranının dengesini değiştirerek AF'nin mekanik, biyolojik ve yapısal özelliklerini değiştirir (2). Bu nedenle, rejeneratif stratejiler, dejenere olmuş bir IVD'yi sağlıklı hücrelerle yeniden doldurmayı (hücre terapisi) veya ECM'yi düzenlemek için mevcut hücreleri uyarak gelişmiş bir kompozisyon, miktar ve yapıya (biyomolekül ve gen terapisi) ulaşmayı amaçlar (33). ECM yeniden modellenmesi, sitokinler, interlökinler, büyüme faktörleri ve enzimler (metalloproteinazlar ve heparanaz) gibi biyokimyasal araçların etkisini kontrol etmek için çok önemlidir, sonuçta IVD dejenerasyon sürecini durdurur veya tersine çevirir (5,8,10,12). Son birkaç yılda, hücre, biyomolekül ve gen terapileri, rejeneratif stratejilerin merkezinde yer almaktadır.

Rejeneratif çalışmalarda amaç dejenerasyon kaskadını geciktirmek, durdurmak ve tersine çevirmektir. Rejeneratif çalışmalar arasında trombosit açısından zengin plazma (13), kök hücreler (27) ve kemik iliği konsantresi (21) yer alır. Bu seçenekler arasında kök hücre ve kemik iliği konsantresi, diskojenik bel ağrısının tedavisinde umut verici sonuçlar göstermiştir (24). Bertolo ve ark. ile Cao ve ark. mezenkimal kök hücrelerin (MSC) ve nukleus pulposus hücrelerinin, ekstrasellüler matriksin (ECM) ve kollajen yoğunluğunun hidrasyonunu artırarak disk yüksekliğini geri kazandığını ve etkili bir şişme basıncını koruduğunu, böylece diskin normal biyomekanik özelliklerinin eski hâline geldiğini göstermişlerdir (1,3). Moleküler düzeyde umut verici sonuçların ardından, hayvan çalışmalarında da ümit verici sonuçlar elde edilmiştir (9,15,28). Jeong ve ark. fare kuyruğu disk modelinde, disk mesafesine insan mezenkimal kök hücreleri enjeksiyonu ile ekstrasellüler matriks seviyelerinde ve disk yükseklikleri ile disk sinyal yoğunluklarında artış göstermişlerdir (18).

Dejeneratif disk hastalığı için kök hücre tedavisinin yararlı rolünü gösteren çok sayıda çalışma yapılmıştır (22,30). Bu çalışmaların çoğunda ağrı skorlarında değişik oranlarda iyileşmeler görülmüştür. Dejeneratif disk hastalığının tedavisinde, diski eski hâline getirmenin ya da dejenerasyonu geciktirmenin olası mekanizması, nakledilen mezenkimal kök hücrenin nukleus pulposus hücrelerinin yerine geçmek için farklılaşması veya endojen intervertebral disk hücrelerinin uyarılmasını teşvik ederek antikatabolik ve antiinflamatuvar etkileri olabilir.

Bununla birlikte, AF'yi yenilemek için hücre bazlı tedaviyle ilgili bazı sınırlamalar vardır (32). Klinik uygulamalar için optimal hücre kaynağı kemik iliği, mezenkimal stromal ve intervertebral hücreler henüz tanımlanmamıştır (31). Preklinik çalışmalar, enjeksiyondan sonra hücreleri fiziksel olarak korumak için yapısal bütünlük eksikliği ve hücre apoptozunu önlemek için önemli olan uygun bir biyolojik ortam nedeniyle, hücre tedavisinin yüksek oranda dejenere olmuş intervertebral disklerde annulus fibrozusu yeniden oluşturmasının olası olmadığını ortaya koymuştur. Bu nedenle, orta derecede IVD dejenerasyonu olan hastalar en çok fayda sağlayabilir (32,29). Hücre bazlı tedaviyle ilgili diğer kısıtlamalar, hücrelerin enjeksiyon bölgesinde nasıl tutulacağı, ideal popülasyonlarının nasıl korunacağı ve enjeksiyon başına hücre dozunun nasıl belirleneceğidir. Çalışmalar, doğrudan hücre enjeksiyonunun, defektten hücre sızıntısı

nedeniyle AF'yi yeniden oluşturmada başarısız olduğunu ve ECM'yi yeniden şekillendirmek için önemli olan ideal hücre popülasyonunun korunmasını neredeyse imkânsız hale getirdiğini göstermiştir.

Bu rejeneratif tedavilerinin yararlı rolü inkâr edilemez olsa da intradiskal enjeksiyonlarla ilgili potansiyel endişeler vardır: enfeksiyona neden olabilir, diske iğne travması daha fazla dejenerasyonla sonuçlanabilir, otolog veya allojenik mezenkimal kök hücrenin bağışıklık reddi ve osteofit oluşumu olabilir (4,36). Bu nedenle, optimal hücre kaynağının ve optimal dağıtım yönteminin tanımlanması, DDD'de mezenkimal kök hücre tedavisi için hâlâ büyük zorluklar arz etmektedir. Bu nakledilen hücrelerin, intervertebral diskin avasküler merkezinde hayatta kalması ve çevreye uyum sağlaması zordur. Bir alternatif olarak, mezenkimal stromal hücreden türetilmiş eksozomlar, bu zorlukların üstesinden gelebilecek hücrelerdir (26). Bugüne kadar, farklı kök hücre kaynaklarından türetilen eksozomları veya hücre dışı kesecikleri kullanan birkaç hayvan çalışmasında intervertebral diskin işlevini eski hâline getirmek için kök hücreler gibi benzer veya ek faydalar gözlemlenmiştir (6,37).

## GELECEK

Yoğun araştırmaya rağmen, intervertebral diski rejeneratif girişimleri şu ana kadar başarısız olmuştur ve hiçbir etkili strateji başarılı bir klinik sonuca dönüşmemiştir (7,19).

Yeni denemelere ve prospektif çalışmalara geçmeden önce, rejeneratif tedaviler için hedef popülasyon, hasta ve hastalık özelliklerini dikkate alacak şekilde tanımlanmalıdır. Bahsedilen araştırmalardaki dahil etme ve hariç tutma kriterleri arasındaki farklar ve benzerlikler, gelecekte yapılacak çalışmalarda hedef popülasyonun belirlenmesi için yeterli yol gösterici olabilir. Hasta popülasyonu tanımlanması benzer şekilde, özellikle aynı ajanın kullanıldığı çalışmalarda tedavi ajan ve yöntemlerinde standardize edilmiş bir yaklaşım izlenmelidir. Son olarak, mevcut literatürdeki güvenlik ve ön verilere bakıldığında, rejeneratif tedavilerin dejeneratif disk hastalığı üzerindeki etkisini tam olarak anlamak için daha ileri çalışmalar (Aşama II/III denemeleri) gereklidir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için katkıda bulunan İstanbul Beyin ve Omurga Merkezi (İBOM) ekibine teşekkür ederim.

## KAYNAKLAR

1. Bertolo A, Thiede T, Aebli N, Baur M, Ferguson SJ, Stoyanov JV: Human mesenchymal stem cell co-culture modulates the immunological properties of human intervertebral disc tissue fragments in vitro. *Eur Spine J* 20(4):592-603, 2011
2. Bowles RD, Williams RM, Zipfel WR, Bonassar LJ: Self-assembly of aligned tissue-engineered annulus fibrosus and intervertebral disc composite via collagen gel contraction. *Tissue Eng Part A* 16:1339-1348, 2010
3. Cao C, Zou J, Liu X, et al: Bone marrow mesenchymal stem cells slow inter-vertebral disc degeneration through the NF-kappaB pathway. *Spine J* 15(3):530-538, 2015
4. Carragee EJ, Don AS, Hurwitz EL, Cuellar JM, Carrino JA, Herzog R, ISSLS Prize Winner: Does discography cause accelerated progression of degeneration changes in the lumbar disc: A ten-year matched cohort study. *Spine* 34(21):2338-2345, 2009
5. Cazzanelli P, Wuertz-Kozak K: MicroRNAs in intervertebral disc degeneration, apoptosis, inflammation, and mechanobiology. *Int J Mol Sci* 21:3601, 2020
6. Cheng X, Zhang G, Zhang L, et al: Mesenchymal stem cells deliver exogenous miR-21 via exosomes to inhibit nucleus pulposus cell apoptosis and reduce inter-vertebral disc degeneration. *J Cell Mol Med* 22(1):261-276, 2018
7. Chuah YJ, Tan JR, Wu Y, Lim CS, Hee HT, Kang Y, Wang DA: Scaffold-free tissue engineering with aligned bone marrow stromal cell sheets to recapitulate the microstructural and biochemical composition of annulus fibrosus. *Acta Biomater* 107:129-137, 2020
8. Chung SA, Khan SN, Diwan AD: The molecular basis of intervertebral disk degeneration. *Orthop Clin N Am* 34:209-219, 2003
9. Crevensten G, Walsh AJL, Ananthakrishnan D, et al: Intervertebral disc cell therapy for regeneration: Mesenchymal stem cell implantation in rat intervertebral discs. *Ann Biomed Eng* 32(3):430-434, 2004
10. de Oliveira CP, Rodrigues LMR, Fregni MVVD, Gotfryd A, Made AM, da Silva Pinhal MA: Extracellular matrix remodeling in experimental intervertebral disc degeneration. *Acta Ortop Bras* 21:144, 2013

11. Frank JW, Kerr MS, Brooker AS, et al: Disability resulting from occupational low back pain. Part I: What do we know about primary prevention? A review of the scientific evidence on prevention before disability begins. *Spine* 21(24):2908-2917, 1996
12. Fuller ES, Shu C, Smith MM, Little CB, Melrose J: Hyaluronan oligosaccharides stimulate matrix metalloproteinase and anabolic gene expression in vitro by intervertebral disc cells and annular repair in vivo. *J Tissue Eng Regen Med* 12:e216-e226, 2018
13. Gullung GB, Woodall JW, Tucci MA, James J, Black DA, McGuire RA: Platelet-rich plasma effects on degenerative disc disease: Analysis of histology and imaging in an animal model. *Evid Based Spine Care J* 2(4):13-18, 2011
14. Han I, Ropper AE, Konya D, et al: Biological approaches to treating inter- vertebral disk degeneration: Devising stem cell therapies. *Cell Transplant* 24(11):2197-2208, 2015
15. Henriksson HB, Svanvik T, Jonsson M, et al: Transplantation of human me- senchymal stems cells into intervertebral discs in a xenogeneic porcine model. *Spine* 34(2):141-148, 2009
16. Hoy D, March L, Brooks P, et al: The global burden of low back pain: Estimates from the Global Burden of Disease 2010 study. *Ann Rheum Dis* 73(6):968-974, 2014
17. Ishiguro H, Kaito T, Yarimitsu S, Hashimoto K, Okada R, Kushioka J, Chijimatsu R, Takenaka S, Makino T, Sakai Y: Intervertebral disc regeneration with an adipose mesenchymal stem cell-derived tissue-engineered construct in a rat nucleotomy model. *Acta Biomater* 87:118-129, 2019
18. Jeong JH, Lee JH, Jin ES, Min JK, Jeon SR, Choi KH: Regeneration of in- tervertebral discs in a rat disc degeneration model by implanted adipose-tissue- derived stromal cells. *Acta Neurochir* 152(10):1771-1777, 2010
19. Jiang EY, Sloan SR Jr, Wipplinger C, Kirnaz S, Härtl R, Bonassar LJ: Proteoglycan removal by chondroitinase ABC improves injectable collagen gel adhesion to annulus fibrosus. *Acta Biomater* 97:428-436, 2019
20. Krouwels A, Iljas JD, Kragten AH, Dhert WJ, Öner FC, Tryfonidou MA, Creemers LB: Bone morphogenetic proteins for nucleus pulposus regeneration. *Int J Mol Sci* 21:2720, 2020
21. Law L, Hunt CL, Wijnen AJ van, et al: Office-based mesenchymal stem cell therapy for the treatment of musculoskeletal disease: A systematic review of recent human studies. *Pain Med* 20(8):1570-1583, 2019
22. Meisel HJ, Agarwal N, Hsieh PC, et al: Cell therapy for treatment of inter- vertebral disc degeneration: A systematic review. *Global Spine J* 9(1 Suppl):39s-52s, 2019
23. Oehme D, Goldschlager T, Rosenfeld JV, Ghosh P, Jenkin G: The role of stem cell therapies in degenerative lumbar spine disease: A review. *Neurosurg Rev* 38(3):429-445, 2015
24. Pettine KA, Suzuki RK, Sand TT, Murphy MB: Autologous bone marrow con- centrate intradiscal injection for the treatment of degenerative disc disease with three-year follow-up. *Int Orthop* 41(10):2097-2103, 2017
25. Ruiz-Fernández C, Francisco V, Pino J, Mera A, González-Gay MA, Gómez R, Lago F, Gualillo O: Molecular relationships among obesity, inflammation and intervertebral disc degeneration: Are adipokines the common link? *Int J Mol Sci* 20:2030, 2019
26. Sakai D, Andersson GB: Stem cell therapy for intervertebral disc regeneration: Obstacles and solutions. *Nat Rev Rheumatol* 11(4):243-256, 2015
27. Sakai D, Mochida J, Iwashina T, et al: Differentiation of mesenchymal stem cells transplanted to a rabbit degenerative disc model: Potential and limitations for stem cell therapy in disc regeneration. *Spine* 30(21):2379-2387, 2005
28. Sakai D, Mochida J, Yamamoto Y, et al: Transplantation of mesenchymal stem cells embedded in Atelocollagen gel to the intervertebral disc: A potential ther- apeutic model for disc degeneration. *Biomaterials* 24(20):3531-3541, 2003
29. Sakai D, Schol J: Cell therapy for intervertebral disc repair: Clinical perspective. *J Orthop Translat* 9:8-18, 2017
30. Sanapati J, Manchikanti L, Atluri S, et al: Do regenerative medicine therapies provide long-term relief in chronic low back pain: A systematic review and me- taanalysis. *Pain Physician* 21(6):515-540, 2018
31. Shafiee A, Seyedjafari E, Soleimani M, Ahmadbeigi N, Dinarvand P, Ghaemi N: A comparison between osteogenic differentiation of human unrestricted somatic stem cells and mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue. *Biotechnol Lett* 33:1257-1264, 2011
32. Smith LJ, Silverman L, Sakai D, LeMaitre CL, Mauck RL, Malhotra NR, Lotz JC, Buckley CT: Advancing cell therapies for intervertebral disc regeneration from the lab to the clinic: Recommendations of the ORS spine section. *JOR Spine* 1: e1036, 2018
33. Stich S, Möller A, Cabraja M, Krüger JP, Hondke S, Endres M, Ringe J, Sittinger M: Chemokine CCL25 induces migration and extracellular matrix production of anulus fibrosus-derived cells. *Int J Mol Sci* 19:2207, 2018

34. Takeoka Y, Yurube T, Nishida K: Gene therapy approach for intervertebral disc degeneration: An update. *Neurospine* 17:3, 2020
35. Urban JP, Fairbank JC: Current perspectives on the role of biomechanical loading and genetics in development of disc degeneration and low back pain, a narrative review. *J Biomech* 102:109573, 2019
36. Vadala G, Sowa G, Hubert M, Gilbertson LG, Denaro V, Kang JD: Mesenchymal stem cells injection in degenerated intervertebral disc: Cell leakage may induce osteophyte formation. *J Tissue Eng Regen Med* 6(5):348–355, 2012
37. Xia C, Zeng Z, Fang B, et al: Mesenchymal stemcell-derived exosomes ameliorate intervertebral disc degeneration via anti-oxidant and anti-inflammatory effects. *Free Radic Biol Med* 143:1-15, 2019