

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**GEBE SIÇANLARA VERİLEN NİKOTİN VE ALKOLÜN YENİDOĞANLARIN
İNTERVERTEBRAL DİSK KONNEKTİF DOKULARI VE NUKLEUS
PULPOSUS ÜZERİNE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ**

TEZ DANIŞMANI
DOÇ.DR. KASIM ZAFER YÜKSEL

DR. İBRAHİM SERHAT KAYIRAN
UZMANLIK TEZİ

KAHRAMANMARAŞ/2010

TEŞEKKÜR

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Ana Bilim Dalı'nda yaptığım asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilimsel ve manevi desteğini gördüğüm ve bu tez çalışmamın oluşturulmasında büyük katkıları bulunan değerli hocam Beyin ve Sinir Cerrahisi Ana Bilim Dalı Başkanı Doç. Dr. K. Zafer YÜKSEL'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık eğitimim süresince desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, deneyimlerinden faydalandığım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Mehmet ŞENOĞLU'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Rotasyonlarımı yaptığım K.S.Ü Tıp Fakültesi Dekanı ve Genel Cerrahi A.D. başkanı Prof. Dr. İlhami Taner KALE'ye, Nöroloji A.D. başkanı Doç.Dr. Mustafa GÖKÇE'ye, Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D Başkanı Yrd. Doç.Dr. Hafize ÖKSÜZ'e, Patoloji A.D. Başkanı Doç.Dr. Sevgi BAKARIŞ'a ve Adana Numune Hastanesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği Klinik Şefi Doç.Dr. Aslan GÜZEL'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamdaki katkılarından dolayı Doç.Dr. Harun ÇIRALIK, Doç.Dr. Davut ÖZBAĞ ve tüm zorlukları birlikte aştığımız, iyi ve kötü günleri paylaştığımız ve tez çalışmam sırasında desteklerini esirgemeyen tüm asistan arkadaşlarıma, tüm hemşire, sağlık personeline ve poliklinik sekreterimize içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu zorlu süreçte bütün sıkıntılara ve sevinçlerime ortak olan, bu süreç içinde bana dünyanın en büyük mutluluğu kızım Serra'yı armağan eden eşim Esra KAYIRAN'a ve kendisine her baktığımda yaşama sevincimi bir kat daha arttıran biricik kızım Serra KAYIRAN'a bana ve mesleğime karşı gösterdikleri sabırdan ve olağanüstü fedakârlıklarından dolayı teşekkür ederim.

Dr. İbrahim Serhat Kayıran

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİLLER ve TABLOLAR DİZİNİ.....	v
RESİMLER DİZİNİ.....	vi
KISALTMA LİSTESİ.....	vii
ÖZET, ANAHTAR KELİMELER.....	1
ABSTRACT, KEYWORDS.....	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
2.GENEL BİLGİLER.....	7
2.1Tarihçe.....	7
2.2 Embriyoloji.....	8
2.3 İntervertebral disk anatomisi.....	9
2.3.1 Gross Anatomi.....	9
2.3.2 Kıkırdak Son Plaklar.....	10
2.3.3 Annulus Fibrosus.....	11
2.3.4 Nucleus Pulposus.....	12
2.3.5 Ekstraselüler matriks.....	13
2.3.6 İntervertebral Diskin hücreleri.....	15
2.3.7 İntervertebral Diskin Vaskülarizasyonu ve İnnervasyonu.....	15
2.3.8 Diskin Beslenmesi.....	17
2.3.9 İntervertebral Diskte Enzimatik Aktivite.....	18

2.3.10 İntervertebral Diskte Sitokinler.....	18
2.4 İntervertebral Diskin Biyomekaniği.....	20
2.5 İntervertebral Disk Dejenerasyonu.....	21
2.5.1 İntervertebral Disk Morfolojisindeki Değişiklikler.....	21
2.5.2 Disk Biyokimyasındaki Değişiklikler.....	23
2.5.3 Disk Dejenerasyonunun Etiyolojisi.....	25
2.5.3.1 Disk dejenerasyonuna yol açan nutrisyonel yollar.....	25
2.5.3.2 Mekanik Yüklenme ve Hasar.....	26
2.5.3.3 Genetik faktörler.....	26
2.5.4 Dejeneratif Değişikliklerin Disk fonksiyonu ve Patolojisine Etkileri.....	28
2.6 Nikotin.....	29
2.7 Alkol.....	31
2.8 Sıçanlar.....	34
3. MATERYAL- METOD.....	38
4. BULGULAR.....	44
5. TARTIŞMA.....	50
6.SONUÇ.....	56
7.KAYNAKLAR.....	57

ŞEKİLLER ve TABLOLAR DİZİNİ

Şekil 1: Sagital planda disk ve çevresindeki yapılar.....	9
Şekil 2: majör glikozaminoglikan tipleri.....	14
Şekil 3: intervertebral disk ve vertebranın posterior elemanlar kaldırılmış posterior oblik görüntüsü.....	16
Şekil 4: İntervertebral diskin İnnervasyonu.....	17
Şekil 5: Normal ve dejenere lomber intervertebral disk.....	23
Tablo 1: Çeşitli alkollü içeceklerin alkol düzeyleri.....	32
Tablo 2: Sıçanların Bazı Fizyolojik Verileri.....	36

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Deneklerin bulunduğu Kahramanmaraş Sütçüimam Üniversitesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında bulunan kafesler.....	36
Resim 2: Deneyde kullanılan Wistar Albino cinsi erişkin dişi sıçan.....	36
Resim 3: Nikotinin intraperitoneal olarak uygulanması.....	37
Resim 4: Doğan yavrular.....	37
Resim 5: Doğan yavrulardan birisinin Ketamin ile sakrifiye edilmesi.....	38
Resim 6: Diseksiyon sırasında iç organların çıkarılması sonrası vertebral kolon görülüyor.....	38
Resim 7: Vertebral kolon bir bütün halinde çıkarılmış.....	39
Resim 8: Hamileliğin 14. Gününden itibaren 2 mg/kg/gün 2 dozda nikotin verilen nikotin grubuna ait intervertebral disk mesafesi.....	40
Resim 9: Hamileliğin 14. gününden itibaren nikotin dozuna uygun serum fizyolojik intraperitoneal olarak verilen nikotin kontrol grubuna ait intervertebral disk mesafesi..	41
Resim 10: Hamileliğin 14. gününden itibaren 2 mg/kg/gün iki dozda nikotin intraperitoneal olarak, 6 mg/kg/gün etil alkol oral yolla verilen nikotin alkol grubuna ait intervertebral disk mesafesi.....	42
Resim 11: Hamileliğin 14. gününden itibaren nikotin dozuna uygun serum fizyolojik intraperitoneal olarak ve etil alkol dozuna uygun serum fizyolojik oral yolla verilen nikotin alkol kontrol grubuna ait intervertebral disk mesafesi.....	43
Resim 12: Hamileliğin 14. gününden itibaren 6 mg/kg/gün etil alkol oral yolla verilen alkol grubuna ait intervertebral disk mesafesi.....	44
Resim 13: Hamileliğin 14. gününden itibaren etil alkol dozuna uygun serum fizyolojik oral yolla verilen alkol kontrol grubuna ait intervertebral disk mesafesi.....	45

KISALTMA LİSTESİ

- AF:** Annulus Fibrosus
- NP:** Nucleus Pulposus
- MMP:** Matriks Metalloproteinaz
- MMP-1:** Matriks Metalloproteinaz -1
- MMP-2:** Matriks Metalloproteinaz -2
- MMP-3:** Matriks Metalloproteinaz -3
- TIMP:** Doku Metalloproteinaz İnhibitörü
- PDGF:** Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
- b-FGF:** Temel Fibroblast Büyüme Faktörü
- TGF- β :** Transforme Edici Büyüme Faktörü- β
- IGF-1:** İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
- IL-1:** İnterlökin 1
- IL-6:** İnterlökin 6
- TNF:** Tümör Nekroz Faktörü
- TNF- α :** Tümör Nekroz Faktörü - α
- FSU:** Fonksiyonel Spinal Ünite
- Ve ark. :** ve arkadaşları
- NO:** nitrik oksit
- BMP-2:** Bone Morfogenik Protein 2
- H+E:** Hematoksilen Eosin

ÖZET

Bel ve boyun ağrısı batılı endüstrileşmiş toplumlarda önemli bir halk sağlığı problemidir. Çeşitli çalışmalarda prevalansı %12-35 arasında oran verilmektedir ve bunun %10'u kronik rahatsızlıktan söz etmektedir. (1,2) Bel ağrısı çoğunlukla intervertebral disk dejenerasyonu ile birlikte bulunmaktadır. (1,3) Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar sigara içimi ve bel ağrısı arasında birliktelik olduğunu göstermiştir. Sigara içiminin bel ağrısı ile ilişkisi olduğunu gösteren patofizyolojik mekanizmalar ve patolojik özellikler henüz tam aydınlatılmamıştır. (3-11) Alkol kullanımının, intervertebral disk dejenerasyonu etiyolojisinde rol alıp almadığı birçok çalışmada tartışmalı bir durumdur. Birçok çalışma, alkol kullanımı ve lomber disk dejenerasyonu birlikteliğini belirlemiştir. (12-15). Biz bu çalışmamızda gebe sıçanlara nikotin ve alkol vererek, bunların yenidoğan yavruların intervertebral disk konnektif dokusu ve nukleus pulposusunda herhangi bir değişiklik yapıp yapmayacağını incelemeyi amaçladık. Bu yolla, halk sağlığı açısından önemli bir sorun olan, gebelikte anne adaylarının alkol ve/veya sigara kullanımının, doğurdukları bebeklerde çok erken dönemlerde disk yapısını histolojik olarak bozarak, ileriki yaşamları için dejeneratif disk hastalığına aday yapabileceği hipotezi üzerinde çalıştık.

Çalışmamız, ağırlıkları ortalama 150-200 gr olan, 12-24 aylık, 18 adet Wistar Albino cinsi erişkin dişi sıçanlar kullanılarak gerçekleştirildi. Sıçanlar hamile bırakıldıktan sonra 6 gruba ayrıldı. Her bir gruba 3 adet sıçan alındı. Birinci grup nikotin grubuna hamileliğin 14. gününden itibaren 2 mg/kg/gün iki dozda nikotin intraperitoneal olarak verildi. İkinci grup nikotin kontrol grubuna hamileliğin 14. gününden itibaren nikotin dozuna uygun serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi. Üçüncü grup nikotin-alkol grubuna hamileliğin 14. gününden itibaren 2 mg/kg/gün iki dozda nikotin intraperitoneal olarak, 6 g/kg/gün etil alkol oral yolla verildi. Dördüncü grup nikotin-alkol kontrol grubuna hamileliğin 14. gününden itibaren nikotin dozuna uygun serum fizyolojik intraperitoneal olarak ve etil alkol dozuna uygun serum fizyolojik oral yolla verildi. Beşinci grup alkol grubuna hamileliğin 14. gününden itibaren 6 g/kg/gün etil alkol oral yolla verildi. Altıncı grup alkol kontrol grubuna hamileliğin 14. gününden itibaren etil alkol dozuna uygun serum fizyolojik oral yolla verildi. (68,69,64). Doğumu takiben her bir sıçandan doğan yavrular doğar doğmaz sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen yavruların vertebral kolonları blok halinde çıkarılarak histopatolojik incelemeleri yapıldı.

Sonuç olarak tüm gruplar kendi kontrol grupları ile histopatolojik olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında herhangi bir histopatolojik değişiklik izlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Gebe sıçan, nikotin, alkol, yeni doğan, intervertebral disk

ABSTRACT

HISTOPATHOLOGICAL EFFECTS OF NICOTINE AND ALCOHOL THAT WAS GIVEN TO PREGNANT RATS ON CONNECTIVE TISSUES AND NUCLEOUSUS PULPOSUS IN INTERVERTEBRAL DISC OF NEWBORN RATS

Low back and neck pain are widespread community health issue in industrialized Western populations. The prevalence rate ranging between 12% and 35% has been reported in various studies and 10% of these suggest chronic disorder (1, 2). Low back pain is predominantly accompanied by intervertebral disc degeneration (1, 3). Recent epidemiologic studies demonstrated an association between low back pain and smoking. Pathophysiological mechanisms and pathological features that suggest a relationship between smoking and low back pain haven't been fully elucidated (3-11). In many studies, whether or not alcohol intake plays role in etiology of intervertebral disc degeneration is controversial. Association between alcohol intake and lumbar disc degeneration has been identified in a series of studies (12-15). In present study, we aimed to investigate the potential changes in connective tissue and nucleus pulposus of intervertebral disc of newborn puppies by giving alcohol and nicotine to pregnant rats. The hypothesis of this study was to investigate whether or not nicotine and/or alcohol consumption of pregnant women which is a common public health problem in industrialized communities, could make early histopathological changes in the disc tissue of their offsprings which would make them vulnerable to degenerative disc disease.

Study was performed by using 18 adult female Wistar Albino rats (150-200 grams) at 12-24 months age. After being pregnant, rats assigned to 6 groups as being 3 rats per group. In first group (nicotine group), totally 2 mg kg/day nicotine (divided in two dose) was given intraperitoneally by the day 14 of gestation. In second group (nicotine control group), normal saline consistent with nicotine dosage was given intraperitoneally by the day 14 of gestation. In third group (nicotine-alcohol group), totally 2 mg kg/day nicotine (divided in two dose) intraperitoneally was given, whereas 6 gram kg/ day ethyl alcohol was given by the day 14 of gestation. In fourth group (nicotine-alcohol control group), normal saline consistent with nicotine dosage and that consistent with ethyl alcohol were given by the day 14 of gestation. Fifth group (alcohol

group), 6 gram kg/day ethyl alcohol was given orally by the day 14 of gestation. In sixth group (alcohol control group), normal saline consistent with ethyl alcohol was given orally by the day 14 of gestation (64, 68, 69). Puppies have been sacrificed immediately after birth. Vertebral columns of sacrificed puppies removed en bloc; thereby, histopathologic examinations have been performed.

In conclusion, when all groups compared to their own controls in terms of histopathological changes, no significant difference was found between groups.

Keywords: pregnant rat, nicotine, alcohol, newborn, intervertebral disc

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Bel ve boyun ağrısı batılı endüstrileşmiş toplumlarda önemli bir halk sağlığı problemidir. Bu hastada ızdıraba, kendisi ve ailesinde strese neden olan bir durumdur. Çeşitli çalışmalarda prevalansı %12-35 arasında oran vermektedir ve bunun %10'u kronik rahatsızlıktan söz etmektedir. Bu çok ciddi iş kaybına yol açmaktadır ve İngiltere'de yıllık 12 milyar pound maliyetten söz edilmektedir (1,2).

Bel ağrısı çoğunlukla intervertebral disk dejenerasyonu ile birlikte bulunmaktadır. İntervertebral disk dejenerasyonu, çoğu vakada asemptomatik olsa da, siyatik, disk herniasyonu ve prolapsı ile birliktelik göstermektedir. İntervertebral disk dejenerasyonu disk yüksekliğini ve omurganın biyomekaniğini değiştirmektedir. İlerleyen zamanlarda yaşlılarda ağrının ve sakatlığın majör sebebi olan spinal stenoza sebep olmaktadır ve bunun insidansı demografik değişiklikler ile ve yaşlı nüfusun artması ile artış göstermektedir. Dejenerasyonun 11-16 yaşlarda başlayabildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (1,3).

Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar sigara içimi ve bel ağrısı arasında birliktelik olduğunu göstermiştir. Sigara içiminin bel ağrısı ile ilişkisini gösteren patofizyolojik mekanizmalar ve patolojik özellikler henüz tam aydınlatılmamıştır. Genç erişkinlerde sigara içiminin insidansı özellikle gelişmekte olan ülkelerde artmaktadır. İntervertebral disk dejenerasyonunun etiolojisinde nikotinin olabileceği birçok deneysel çalışmada gösterilmiştir (3-11).

Alkol kullanımının intervertebral disk dejenerasyonu etiolojisinde rol alıp almadığı birçok çalışmada tartışmalı bir durumdur. Birçok çalışma, alkol kullanımı ve lomber disk dejenerasyonu birlikteliğini belirlemiştir. Bir çalışmada bel ağrılı popülasyonda alkol bağımlıları oranı normal popülasyona göre daha fazla olduğu belirtilmiştir. Buna karşın alkol ile bel ağrısı arasında ilişki olmadığını destekleyen birçok çalışma vardır. Bir derlemede 1987 ve 1995 arasında yayınlanmış dokuz çalışmayı incelenmiştir ve hiçbir çalışmada, alkol kullanımı ve bel ağrısı arasında ilişki saptanmadığını yayınlamıştır (12-15).

Gebelik sırasında sigara ve alkol kullanımının yeni doğanlarda intervertebral disk dejenerasyonuna yol açıp amadığı ile ilgili literatürde çalışma bulunamamıştır. Biz ise bu çalışmamızda gebe sıçanlara nikotin ve alkol vererek yeni doğan yavruların intervertebral disk konnektif doku ve nukleus pulposusundaki olabilecek histopatolojik değişiklikleri incelemeyi amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Tarihçe:

Erken Mısır, Yunan, Roma ve Arap tıbbi metinlerine bakıldığında spinal hastalıkların tedavisi ile ilgilendikleri görülür. Hipokrat (460-370 M.Ö.) “sciatica” ve bel ağrısının tarifini yapmıştır. 4. Yüzyılda Caelius Aurelianus “sciatica” in ilk klinik tarifini yapmıştır. Andreas Vesalius (1514-1564) ilk kez intervertebral diski tanımlamıştır. Domenico Codugno (1736-1822) “sciatica” terimini klinik antite olarak kitabında yazmış ve bu uzun bir süre Codugno sendromu olarak bilinmiştir (16-20).

A.G Smith 1829 yılında ilk laminektomiye gerçekleştirmiştir. İntervertebral diskin travmatik rüptürünün ilk kez tarifi 1857 yılında Rudolf Virchow (1821-1902) tarafından yapılmıştır. Ernest Laseque (1816-1883) 1854 ‘te siyatik nöritli hastaların fizik bulgularını tanımlamıştır (16).

Fedor Krause 1909 yılında ilk kez rüptüre bir diski ekstradural olarak çıkarmış fakat bunu “encondroma” olarak tariflemiştir. Aynı yılda Alfred Taylor ilk kez unilateral laminektomiye yapmıştır (16).

Joel E. Goldhwaite (1866-1961) 1911’de ilk kez disk ve “siatica” arasındaki ilişkiyi tarif etmiştir. Sicard 1916’da “siatica”ın siyatik sinir köklerinden kaynaklandığını bildirmiştir (16).

1927-1931 yılları arasında Schmorl intervertebral disk anatomisi ve patolojisi üzerine geniş bir çalışma yapmıştır ve intervertebral diskin anlaşılmasında modern bir temel kurmuştur. (16-18)

Dandy 1929 yılında bel ve bacak ağrılı iki hastayı opere etmiş ve spinal kanal üzerine gevşekçe yayılmış kıkırdağa benzer fragman bulmuştur. Even Paul C. Bucy 1930 yılında disk probleminin “tipik kıkırdağa benzer neoplazm” ile ilgili olduğunu söylemiştir. (16)

Mixter ve Barr 1933 yılında “Annual Meeting of New England Surgical Society” de cerrahi bulgularını sunmuşlardır. Buna göre intervertebral diskin rüptürü semptomların sebebi olduğu, bu lezyonların kıkırdağa benzer neoplazmlar ile karıştırıldığı ve cerrahi dekompresyonun tedaviyi sağladığı anlaşılmıştır. Bu yayından

sonra lomber laminektomi operasyonu beyin cerrahları tarafından daha sıklıkla yapılar hale gelmiştir (16-18).

2.2 Embriyoloji:

Omurganın gelişimi, gastrulasyon devresi olarak adlandırılan gestasyonun 3. haftasında başlar. Bu faz ektoderm, mezoderm ve endodermin oluştuğu fazdır. Bu dokuların farklılaşması, hücrelerin proliferasyonu ve endodermden ayrılması ve notokord ve aksiyel iskeletin temelini oluşturan solid kord hücrelerinin formasyonu ile olur. Aynı zamanda, vertebral kolon ve intervertebral diskin diğer parçaları, notokordu çevreleyen mezenşim hücrelerinin toplanmasıyla oluşur. Bu süreç mezodermal parçaların ve sklerotomların migrasyonu ile ilgilidir. Bu mezenkimal kolon sonra sırasıyla vertebral cisim ve intervertebral diskleri oluşturacak açık ve koyu bantlardan oluşan segmentlere ayrılır (2).

Disk dış annulus fibrosusunu (AF) oluşturacak koyu bantların dış mezenkimal hücreleri, kendilerini lameller tarzda düzenler ve fibroblastlara farklılaşır, daha sonra bu alanın selülaritesinin artmasına yol açacak kollagen tip I depolar. İç AF fibrokartilajenöz hale gelir ve yüksek hücre dansitesi tutar. Disk, tabakaların sayısında değişiklik olmadan lameller kalınlaşmanın artması ile büyür. AF'in bu değişen tabakalarında lameller lifler, çok yönlü stresleri disk üzerine sabit olarak dağıtmak üzere oblik açılarla yerleşir (2) .

Nukleus pulposus (NP), iç hücre kitlesinden, notokordun intervertebral genişlemesi ve primitif kırırdağın büyümesi ile oluşur. NP alanının genişlemesi sırasında, matriksin gevşekçe düzenlenmesi ile taban madde yumuşar ve notokordal hücrelerin kompakt kitleside “chorda reticulum” olarak adlandırılan yumuşak bağlantıda, hücresel kümelere ayrılması ile sonuçlanır. Embriyolojik notokordal hücreler ilk dekadın sonuna kadar aktif matriks üreticisi olarak kalır. Bu zamanda notocordal NP pek tanımlanamaz çünkü kollagen içeriği ve notokordal hücrelerin kaybı ya da metaplazisi artmıştır (2) .

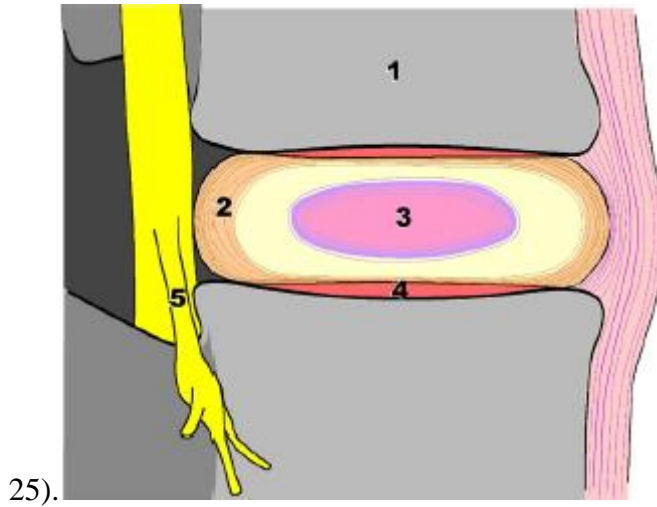
Vertebral kanalın çok hızlı gelişmesi 12.-32. haftalar arasında olur. Fetüsün bu zaman sürecinde düşük doğum ağırlığı, düşük plasenta ağırlığı ve gebelik süresince sigara içimi gibi nedenlerle zarar görmesi patolojilere sebep olabilir (2) .

2.3 İntervertebral disk anatomisi:

2.3.1 Gross Anatomi:

İntervertebral disk ikinci servikal vertebradan birinci sakral vertebraya kadar vertebra korpuslarını birbirine bağlayan amfiartrodiyal (yarı oynar) bir yapıdır. Diskler eklem boşluğu, sinovyal membran ve gelişimini tamamladıktan sonra damar ve sinir içermezler. Bu nedenle hastalıklarında sinovyal eklemlerden farklıdır. Spinal kord boyunca toplam olarak 23 adet disk bulunur. Tüm disklerin yüksekliği (yaklaşık 8-10 mm yükseklik ve 4 cm çap) düşünüldüğünde vertebral kolonun toplam yüksekliğinin %25'ini oluştururlar. Yaşlılıkta disklerin yassılaşmasına bağlı olarak bu oran değişir ve sonuçta kişilerin boyu biraz kısalmır (2,21-25) .

Santral yerleşimli nukleus pulposus (NP), annulus fibrosus (AF)'u oluşturan aynı merkezli düzenlenmiş kollagen fibriller tarafından sarılmıştır. Bu vertebral cisme yapışmış iki adet kırıldak son plak arasına sandviç şeklinde yerleşmiştir ve beraber intervertebral diski oluştururlar. Diskler kırıldak son plaklar boyunca vertebral cisme yukarıdan ve aşağıdan yapışmıştır (Şekil1) (2,21-



Şekil 1: Sagittal planda disk ve çevresindeki yapılar **1.** Vertebral cisim, **2.** Annulus fibrosus **3.** Nukleus pulposus **4.** Son plak **5.** Spinal sinir kökü (21)

Bununla beraber birinci ve ikinci servikal vertebralar arasında ve sacrum ile coccy's'te disk bulunmamaktadır. Diğer servikal, torakal, lomber vertebralar arasında intervertebral diskler bulunmaktadır. Disklerin kalınlığı ve yüzey alanı, lomber

seviyelerde fazla, servikal seviyelerde en azdır. Değişik vertebral seviyelerde vertebral cisimlerin boyutları karşılaştırıldığında boyut ve şekillerinde diğer varyasyonlar bulunabilir. Yeni doğan bebeklerde bütün disklerin biçim ve boyutları birbirine benzer. İntervertebral diskler omurga boyunca düzen ve fonksiyonda dikkat çekici şekilde benzerdir. Bunlar vertebranın vücut ağırlığından, baş ve ekstremitelerin kas aktivitelerinden kaynaklanan kuvvetlere, omurganın izin vermesi için mekanik yastık, destek ve fleksibilite üretirler. Diskler kemik anatomisinin uygun uzaysal oryantasyonunu sağlanmasında vertebral cisim ve faset bileşkeleri gibi anahtar role sahiptir ve nöral köklerin geçişi için yeterli oda oluşturur (21,2,22-25) .

2.3.2 Kıkırdak Son Plaklar:

İntervertebral disklerin üst ve alt yüzleri tamamıyla kıkırdak son plaklardan oluşmaktadır. Çocuklarda bu kıkırdak tabakası kemik kenarlarında taşarak vertebra cisimlerini takke gibi örter. Kıkırdak plağın kenar kısımları 10-13 yaşları arasında, uzun kemiklerdeki epifiz plağına benzer bir halka oluşturur. Tepsinin kabarık kenarlarını oluşturan bu halka daha sonra, encondral kemikleşme yolu ile tamamen kemikleşir, alttaki kemik ile kaynaşır, böylece vertebral cisimlerin alt ve üst yüzlerinde sıg kenarlı bir kemik tepsisi oluşur. Bu tepsinin tabanında bulunan hiyalin kıkırdak tabakası, yaşam boyu kemikleşmeden kalır (25).

Annulus ve vertebral cisim arasında morfolojik ve fonksiyonel belirgin bileşke olarak bulunan hiyalin kıkırdak tabaka horizontalde 1 mm kalınlıkta bulunmaktadır. Son plağın düzeni, annulusa bitişik alanda hafifçe değişir. Burada, disk boyunca devam eden, vertebral cisme doğru paralel ve horizontal yayılan kollagen liflerin, primer düzeni vardır. Bununla birlikte osseoz vertebral cisme bitişik alanda primer hiyalin kıkırdaktan oluşmuştur ve daha az yapışkan ve travma sırasında yırtılmaya daha meyillidir. Kıkırdak son plaklar komşu kemik yapıya ve komşu dış annulusa göre daha fazla kollagen ve daha az proteoglikan ve su içerir. Yaşamın erken yıllarında son plaklar damar yapısı olarak zengindir. Ancak ilk yıl içerisinde damarlanma oranı dramatik olarak azalır ve üçüncü dekada gelindiğinde hiç damar bulunmaz ve buda dejenerasyona eğilimi arttırır (21,2,24) .

2.3.3 Annulus Fibrosus:

Annulus fibrosus histolojik olarak; kollajenöz fibroz doku ve fibroz kıkırdaktan ibarettir (25) . Annulus, kollajenin 15-25 adet lamel ya da konsantr dairesel şekilde düzenlenmesinden oluşmuştur. Bütün lamellerde kollagen lifler paralel ve vertikal aksta yaklaşık 60 derece yönelmiş şekilde yerleşmiştir. Her bir bitişik lameller lif, vertikal aksta kendi yönü ile ilişkili olarak sağa ve sola doğru birbirini izler. Annulus'un en dıştaki tabakası, çok yoğun bir yapıdadır ve tensil kuvvetlere dirençlidir. Bu tabakada çoğunlukla tip 1 kollagen bulunur ve vertebral cisim içerisine doğru giren lifleri mevcuttur (sharpey lifleri) (21,2,26,27,28) . Bu tabaka son plak ve vertebral cisimle birleşiktir ve anterior ve posterior longitudinal ligamentler tarafından güçlendirilmişlerdir. Bu lifler posterior ve anterior longitudinal ligamanlara yakın olduğu için anterior ve postero-lateralde daha sağlamdır. Annulus'un bu en dış tabakası duysal sınırlar içerir (21) .

Lameller arasındaki alan elastin ile doldurulmuştur. Bu diske fleksiyon ve ekstansiyon sonrasında normal pozisyonuna dönme imkânı verir. Elastin lifler bir lamelden diğerine radial olarak yayılır ve lamellerin birbirine bağlanmasında rol alırlar (21,26) .

Annulus içerisindeki hücreler kollagen liflere paralel dizilirler. Bunlar, özellikle dış yoğun alanda ince, uzun ve fibroblast benzeri olmaya eğilimlidirler. Annuler hücreler nukleus pulposus içerisine doğru girdiği iç bölgelerde daha ovaldirler ve kollagen lifler daha az yoğun ve daha gevşek organize olmuşlardır (21) . Burada kollagen genellikle tip 2' dir. Annulusun iç bölgeleri yüksek oranda proteoglikan içerir (2) . Transitional zone olarak bilinen ince fibroz bir doku bandı nukleus pulposusu sarmıştır. İnce geniş sitoplazmik oluşumlar (bazıları 30 mm'den daha büyük) tüm annulus fibrosus ve nukleus pulposus hücreleri içerisinde bulunabilir. Bu yapı intervertebral disk için özeldir ve diğer eklem kıkırdaklarında bulunmaz. Bunların fonksiyonu tam olarak anlaşılmamıştır. Mekanik zorlamanın iletiminde rol aldıkları hipotezi ileri sürülmüştür (21.29.30) . Su içeriği nukleustan daha düşük %60-70 kadardır. Kuru ağırlığının yaklaşık olarak %60'ı kollagen, %20'si proteoglikandır (25) .

Normal koşullarda nukleusu hapseden annulus fibrosus ve kırkırdak son plak büyük yüklenmeler sonucunda bile onun kaçışını engelleyecek güçtedir. Buna rağmen bütün disklerde potansiyel olarak iki zayıf nokta bulunur: 1) Kırkırdak son plak, 2) Annulusun arka segmenti. Kırkırdak son plak sağlam kemik tarafından değil oldukça dayanıksız süngerimsi bir kemik doku tarafından desteklenir. Annulusun ise arka tarafı ön tarafına göre daha incedir ve kemiklere daha zayıf yapışıdır. Disk genelde bu iki yerden fitiklaşır (31) .

2.3.4 Nukleus Pulposus:

Nukleus pulposus büyük oranda notokordal kaynaklıdır. Çocuklarda erişkinlere göre daha yumuşak, çok daha akışkan ve oransal olarak daha büyüktür (25) . nukleus pulposus (NP), annulustan daha az yoğunlukta ve jel kıvamında olması ile ayrılır. Gevşekçe organize olmuş ince tip 2 kollagenin ve irregüler ve radial olarak organize olan elastinin oluşturduğu daha katı santral alan içerir. Bu alan proteoglikan (hidrofilik chondroitin, keratin sülfat) içeren jel benzeri alana destek verir. Bu gilikoaminoglikan yapı su molekülleri tutar ve nukleusa kendi kıvamını devam ettirebilmesi için daha yüksek su içeriği sağlar (21) . Yapısının %70-90'ını su oluşturur ve yaş ilerledikçe su içeriği azalır (32) . Diğer proteoglikanlar versycan, biglycan, decorin, fibromodulin ve lumican'dır. Bunlar ekstraselüler matriks onarımı ile ilgilidir (21). Kuru ağırlığının %65'ini proteoglikanlar, %20'sini kollagenler ve kalan kısmını elastin ve diğer komponentler oluşturur (25) .

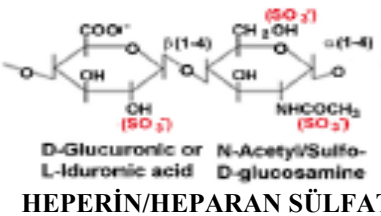
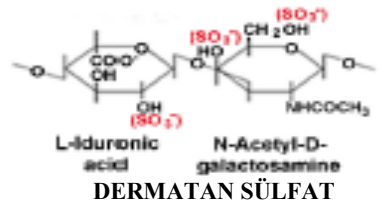
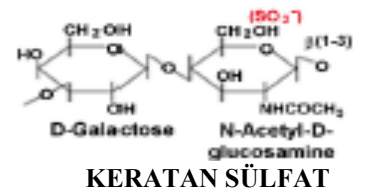
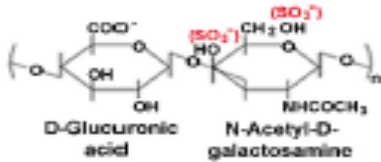
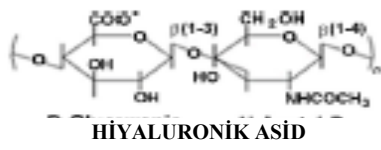
NP'da erken yaşamda iki farklı hücre popülasyonu bulunur. Birincisi kondrosite benzeyen küçük yuvarlak hücredir. İkincisi vakuole görünümlü geniş hücrelerdir ve virchow tarafından "physoliferous" (ya da "bubble-bearing") olarak tanımlanmıştır. Bu hücreler adolosan dönemde kaybolur ve yerlerini kırkırdak son plaktan migrate olan kondrositik hücrelere terk ederler (2) .

nukleus pulposus omurgaya dikey olarak yansıyan kuvvetleri yatay hale getirir ve annulusa iletir. Bu şekilde omurganın fleksiyonu nukleusun önden basılıp arkaya doğru hareket etmesine, ekstansiyonu ise bunun tersine neden olur (33) . nukleus pulposus kendisini saran fibroz kılıfın kesilmesi ve yırtılması sonucu kabarak dışarı fırlama özelliği vardır. Bu özellik en iyi şişme (turgesens) terimi ile tanımlanabilir. Bu nedenle canlılarda, yük altında bulunan nukleus, sürekli olarak bulunduğu yerden dışarı doğru çıkmaya çalışır (31) .

2.3.5 Ekstraselüler matriks:

Ekstraselüler matriks primer olarak kollagen ve agregandan oluşur. Diskin kollagen yapısı, vertebral cisimlere yapışarak ve diskın gerilim kuvvetini sağlayarak, diske dayanak yapı olarak görev alır (21) . kollagen diskte annulus fibrosus'un kuru ağırlığının %50- 70'ini, nukleus pulposusun kuru ağırlığının %20- 30'unu, kıkırdak son plağın ise %50-70'ini oluşturur. Annulusun tip I ve tip II kollagen lifleri, fibroblast benzeri hücreler tarafından üretilir (21,2,34-37) . Annulus hücrelerinin çoğu Tip I ve Tip II kollagen yaparken, Nukleus hücreleri yalnızca Tip II kollagen sentez eder. Annulus fibrosus'da yoğun olarak tip I, II ve bununla beraber III ve V (%3), VI (%10), IX (%1-2), XI ve XII (%3); nukleusta ise yoğun olarak tip II bulunur ve bununla beraber VI (%15-20), IX (%1-2), XI (%3) kollagen bulunmaktadır (21,2,34-37) . Annuler kollagen ağının bütünlüğü intervertebral diskın normal işlevini sürdürmesinde önemli rol oynar. Annulustaki kollajenin %65'i tip II, kalanı ise tip I'dir. Tip II kollagen hidrofilitik özelliğinden dolayı kompresif kuvvetleri soğurmaya Tip I kollagen ise gerilme stresine karşı koymaya daha uygundur. Yüksek hidrate proteoglikanlar, diskın sertliğini, kompresyona direncini ve viskoelastisitesini verir (21,2,34,36) . Nukleusun ve son plakların matriksi, kollagen II (kondrositler tarafından üretilir), proteoglikan ve nonkollajen proteinlerden oluşur. Proteoglikanlar hyaluronik asit, kollagen II ve kollagen IX tarafından aggregate edilir (21) .

Yüksek anyonik glikozaminoglikan içeren agregan, diskın majör proteoglikanıdır (21,34) . Annulus fibrozis ve nukleus pulposusta en azından 5 farklı proteoglikan bulunur. Bunların başlıcaları kondroidin sülfat, keratan sülfat, hyaluronik asit ve dermatan sülfattır. Diskte ise yoğun olarak ilk ikisi bulunur (37) . Glikozaminoglikanlar negatif yüklüdürler. Bu nedenle agregan diskın majör proteoglikanı olarak su tutma özelliği ile diskın ozmotik basıncından sorumludur. nukleus, annulusa göre daha yüksek konsantrasyonda proteoglikana sahiptir (21,34) . Keratan sülfat / Kondroidin sülfat oranı nukleusta yüksekken, annulusta bunun tam tersidir (34) . nukleus pulposusun kuru ağırlığının %50'sini oluştururlar (2) . Eklem kıkırdağındaki agregan, daha az oranda keratan sülfat içermesine rağmen, diskteki agregan daha fazla içerir. Ek olarak, disk agreganı kendi yapısında daha fazla oranda varyasyon gösterir (daha küçük daha az derecede aggregate olmuş moleküller.) (21) .



Daha düşük molekül ağırlıklı proteoglikanlar ise versikain, decorin, biglikan, fibromodulin ve lumican'dır. Bunların işlevleri tam olarak bilinmemekle beraber, decorin' in fibriler kollagenin üzerine oturarak onların çaplarını kontrol ettiği, biglikan ise yine decorinle birlikte ekstraselüler matrikste büyüme faktörlerine etki yaptığı sanılmaktadır (21.2.35.37) .

Matriks dinamik bir yapıya sahiptir ve sürekli akışkan durumdadır. Bileşimi, disk hücreleri tarafından sentezlenen, matriks metalloproteinaz ve agreganaz gibi proteinazlar tarafından sürekli yıkılır. Diskin mekanik özelliği matriksin kalitesi ve bütünlüğü ile belirlenir. Diskin homeostazı, kollagen ve proteoglikanlar gibi ekstraselüler komponentlerin sentezi ve geri dönüşümünün düzenlenmesini sağlayan hücresel süreçler ile sürdürülür (21) .

Şekil 2: majör glikozaminoglikan tipleri (34)

2.3.6 İntervertebral Diskin hücreleri:

İntervertebral disk hücreden fakir bir dokudur. Hücreler hacminin % 1-5 kadarını işgal eder. Hücre sayısı kıkırdak son plaktan nukleusa doğru azalır. Son plağın hücreleri tipik kondrositlerdir. Annulusun dış tabakasındaki hücreler iğsi biçimli ve fibroblast karakterde iken, iç tarafındakiler yuvarlak ve kondrosit niteliğindedir ve nukleus fibrosusun hücrelerine benzer (31) .

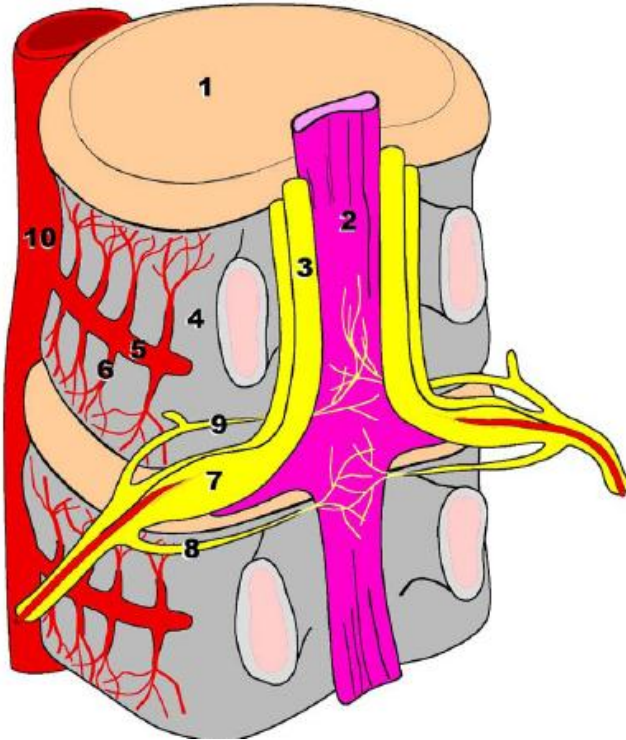
Diskin kondrositik hücreleri morfolojik olarak sinovyal eklemlerin kıkırdak hücrelerinden farklı değildir. Fakat miktarları yerleşim yerine göre değişen, kıkırdak dokusuna özgü, matriks proteinleri sentez ederler. Annulus hücreleri eklem ve büyüme kıkırdağı kondrositlerinden farklı diferansiyasyon evresinde olan kondrositik hücrelerdir. nukleus hücrelerinin fenotipi henüz belli değildir. Tarayıcı elektron mikroskopunda bütün disk hücrelerinin çok sayıda sitoplazmik çıkıntı içerdiği ortaya konulmuştur. İşlevi henüz bilinmeyen bu uzantıların diskin mekanik direncine katkısı olabileceği öne sürülmüştür (31) .

Hücreleri çevreleyen ve disk dokusunun mekanik özelliklerini, biçimini ve sağlamlığını sağlayan ekstraselüler matriks su ve makromoleküllerden oluşur. Normalde disk dokusunun %80'ini oluşturan su, disk komponentleri arasında heterojen bir dağılım gösterir. Suyun matriks molekülleri olan ilişkisi dokunun mekanik özelliklerini belirler. Suyun disk içine ve dışına doğru hareketi, hücreler için gerekli metabolitlerin taşınmasını ve katabolik ürünlerin dışarı atılmasını sağlar. Ekstraselüler matrikste agregre olan büyük moleküllü proteoglikanlar üstün durumdadır. Diskin hidrasyon oranı, proteoglikanların hidrofilik özelliklerine bağlı su çekme çabası ile proteoglikanları saran kollagen liflerin şişmeyi sınırlandırmaya çalışan güçleri arasındaki dengeye bağlıdır (31) .

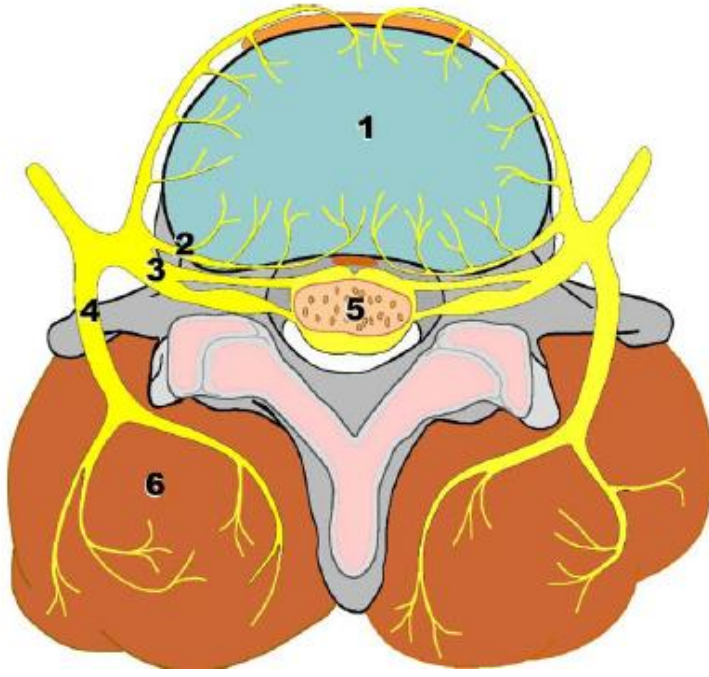
2.3.7 İntervertebral Diskin Vaskülarizasyonu ve İnnervasyonu:

Spinal arterin dalları, kıkırdak son plaklarda yaşamın ilk yılında görülürler. Daha sonra sadece longitudinal ligamanlarda diskin herhangi bir tarafında, nadir olarak da annulusun dış kısmında bulunur. Segmental arterin dalları ise vertebral cismi ve diskin son plaklarını besler. Damarlara eşlik eden sinirler diske yakın yerden başlar ve bunlar

rekürren sino-vertebral sinirin (von Luschka'nın sinovertebral siniri) dallarıdır. Bu sinir dorsal root ganglionundan çıkar ve foramen içerisine girer. Foramen içerisinde büyük çıkan ve küçük inen dallara ayrılır. Dorsal root gangliyonu ile bağlantılı olan gri raminin de, diskin innervasyonunda önemli katkısı vardır. Annulusta mekanoreseptörler ve serbest sinir sonlanmaları bulunur. Dorsal root gangliyonu, anterior longitudinal ligamana afferent innervasyon veren dallar verir. Posterior longitudinal ligaman ve annulusun dış tabakası sinovertebral sinirin çıkan dalından kaynaklanan noziseptif lifler içerir. Schwann hücreleri ise dejenerasyon diskte nöral ve vasküler proliferasyonda rol oynar. İkinci ve üçüncü dekat boyunca, sağlıklı erişkin diskinde, dış annulusda ağrı kaynağı olabilecek sınırlı bir innervasyon bulunmaktadır. Erişkin diskinin, herhangi bir seviyede dejenerasyon olmadığı durumlarda, çok az bir vaskuleritesinin olması ise normaldir. Genç erişkinlerde son plaklarda kan damarları ve sinir bulunmaz. Nükleus pulposusun innervasyonu yoktur (21,2,38-40) .



Şekil 3: intervertebral disk ve vertebranın posterior elemanlar kaldırılmış posterior oblik görüntüsü. 1. İntervertebral disk, 2. Posterior longitudinal ligament, 3. Spinal sinir kökü, 4. Vertebral cisim, 5. Segmental arter, 6. İnterosseoz arter, 7. Dorsal root ganglion, 8. Sinovertebral sinirin inen dalı, 9. Sinovertebral sinirin çıkan dalı, 10. Aorta (21)



Şekil 4: İntervertebral diskin innervasyonu: 1. İntervertebral disk, 2. Rekürren sinovertebral sinir, 3. Spinal sinir, 4. Spinal sinirin posterior dalı, 5. Tekal sak, 6. Paraspinal kaslar (21)

2.3.8 Diskin Beslenmesi:

Laktat gibi son yıkım ürünlerinin uzaklaştırılması için gerekli besin ve oksijenin düzenli temini için, kollagen ve proteoglikan sentezi için ihtiyaç duyulan aerobik metabolizmanın desteği gerekir. Diskin kan akımı annulusun dış tabakası tarafından çoğunlukla sınırlanmıştır. Bu göz önüne alınırsa, erişkin diskinin kan kaynağının büyük bir kısmı vertebral cismin subkondral bölümünde lokalizedir. Bu zayıf kan akımı nedeniyle disk, geniş moleküllerin transportu için toplu yüklü sıvı hareketine ve oksijen ve glikoz gibi küçük moleküllerin diskin dışına transportu için difüzyona ihtiyacı vardır. Bu moleküllerin önünde kanın kaynağından diskin merkezine kadar 20 mm'lik bir engel vardır. Moleküllerin transportu için kapillerlerden subkondral kemiğe geçmesi, son plağı geçmesi ve ardından diskin merkezine ulaşmak için ekstraselüler matriksi geçmesi gerekir. Bu serüvenin, metabolik artıkların atılması için tekrarlanması gerekir. Diskte besinlerin ve atıkların yer değiştirmeleri difüzyon yoluyla ya da toplu sıvı akımı ile olur (21,41) .

Elektrokimyasal olaylar yanı sıra mekanik bariyerler diskin doku-sıvı değişimini etkiler. Mekanik bariyerler diskin yakınındaki veya bitişiğindeki fibroz dokudur ve bununla beraber kırıldak son plaklardır. Su çekmek için proteoglikanlar tarafından

kullanılan negatif şarjlar elektrokimyasal kuvvetin bir tipidir. İndüklenmiş proteoglikan su tutulumunu artırır ve buda diskin kompresif kuvvetini geliştirir (21) .

2.3.9 İntervertebral Diskte Enzimatik Aktivite:

Disk metabolizması ile ilgili proteinazlar arasında metalloproteinazlar öne çıkmış durumdadır. Etkin olabilmeleri için kalsiyum ve çinko iyonlarına ihtiyaç duymaları nedeniyle bu adla anılan 3 farklı metalloproteinaz bulunmaktadır: Kollajenaz (matriks metalloproteinaz-1; MMP-1), gelatinaz (matriks metalloproteinaz-2; MMP-2), stromelizin (matriks metalloproteinaz-3; MMP-3) (42) .

Metalloproteinazlar inaktif durumda matrikse salınmakta, orada aktive olmakta ve matrikste bulunan kollagen ve proteoglikanları degrade etmektedir. MMP-1 temel olarak tip II ve X, MMP-2 tip IV ve V, MMP-3 ise daha geniş bir etki alanına sahip olup büyük matriks proteoglikanlarının çekirdek proteinini, tip V ve IX kollagenleri degrade etmektedir. Aktive olmuş enzimler diskin kondrositik hücrelerinden salınan doku metalloproteinaz inhibitörü (TIMP), sitokinler (interlökin-1) ve büyüme faktörleri gibi spesifik inhibitörler ile kontrol edilir (42) .

Omurganın değişik bölgelerine ait dejenere veya herniye olmuş disk dokularında immunhistokimyasal, hücre kültürü veya doku ekstralarının biyokimyasal analizi gibi farklı yöntemlerle yapılan çalışmalarda, MMP-1 ve MMP-3 düzeylerinde anlamlı derecede artma saptanmıştır. Bu sonuçlar disk dejenerasyonunun MMP'lar ve bunların inhibitörleri arasındaki dengede bozulma sonucu olabileceğini düşündürmektedir (42) .

2.3.10 İntervertebral Diskte Sitokinler:

Kıkırdak metabolizmasında rol alan belli başlı sitokinler: trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), temel fibroblast büyüme faktörü (b-FGF), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), interlökinler (IL1 ve IL-6) ve tümör nekroz faktörüdür (TNF). PDGF mitojeniktir. b-FGF

kondrositlerde DNA sentezini uyarır ve doku onarımını hızlandırır. TGF- β lokal olarak proteoglikan sentezini artırır fakat tip II kollagen sentezini azaltır. Ayrıca MMP-3'ün degradatif gücünü ortadan kaldıran TIMP'in oluşumunu stimüle eder. IGF-1 ise DNA sentezini artırarak hücre çoğalması ve matriks yapımını uyarır. IL-1 ve IL-6 MMP yapımını artırarak matriks yıkımını hızlandırır (43) .

Nagano ve ark sığanlardaki deneysel disk dejenerasyonunda annulusun normalde iğ biçiminde olan hücrelerinin yuvarlak kondrositik hücrelere değiştiğini, iğsi hücrelerde bulunmayan b-FGF benzeri immun reaksiyon ve FGF reseptör mRNA'nın yuvarlak hücrelerde görüldüğünü ve kondrositik hücre proliferasyonunun normaldeki iğsi annuler hücrelerin sayılarını aştığını ortaya koymuştur. İnsanlarda servikal lomber fitiklaşmış disk dokularından hazırlanan hücre kültürleri ile yapılan iki çalışmada, kültür ortamında MMP-1, nitrik oksit, prostaglandin E2 ve IL-6 aktiviteleri yüksek bulunmuştur. Ortamda IL-1 α , IL-1 β , TNF ve IL-1 reseptör antagonisti proteine rastlanmamıştır. Spontan olarak artış gösteren maddelerin disk dejenerasyonunun biyokimyası ve radikülopatinin fizyopatolojisi ile yakından ilişkisi olabileceği öne sürülmüştür. Bir deneysel çalışmada IL-1 β 'nin, annulus hücrelerinin proteoglikan sentezini azalttığı, prostaglandin E2 yapımını artırarak hücrelerde Tip II fosfolipaz A2 salgısına neden olduğu ortaya konulmuş ve annulus fibrosis hücrelerinin IL-1 β tarafından lokal degradatif ve enflamatuar süreçlere katkıda bulunan faktörler üretmek üzere uyarılabildikleri sonucuna varılmıştır (43) .

Dejeneratif disk dokusunda görülebilen diğer bir enflamatuar medyatör ise fosfolipazlardır. Fosfolipaz A2 disk dokusu içerisinde dejenerasyon sürecinde aktive olması ile prostaglandin ve MMP'ları aktive etmektedir (44) .

Epidermal ve transforming büyüme faktörleri (epidermal ve transforming growth factor) en etkili olan büyüme faktörleri gibi gözükmektedir. Epidermal gelişme faktörü özellikle nukleusun iç bölgelerinde matriks sentezini %300, hücre mitozunu %180 arttırmaktadır. Transforming gelişme faktörünün ise hücre kültürlerinde %500'e varan sentez etkinliği bulunmaktadır. Bu son iki faktörün birlikte kullanımı belkide gelecekte dejeneratif disk hastalığında kullanılacak matriks ve hücre sentez tetikleyicileri olacaktır (44) .

2.4 İntervertebral Diskin Biyomekaniği:

Kompresyon testlerinde diskin düşük yüklerde fleksibl olduğu ancak büyük yük değerlerinde stabiliteyi arttırmak için katı şekilde davrandığı görülür. Bu nedenle günlük aktivite sırasında kompresif yükler altında kalan normal bir elastik özelliğini koruyan nukleus pulposusun fitiklaşmaya eğilimi daha az olmaktadır (45) . Fonksiyonel spinal ünite (FSU) üzerinde yapılan statik kompresif yüklere dayanım deneyinde ise kıkırdak son plakta disk dokusundan önce hasar oluştuğu görülmüştür (46) . Bu nedenle kıkırdak son plak kırıklarının olduğu yerlerden nukleus pulposus vertebral cisim içerisine doğru yer değiştirerek Schmorl nodüllerini oluşturabilir.

Günlük aktivite sırasında nukleus pulposusun tensil yüklerine maruz kalması nadirdir. Buna karşın annulus pulposus tensil yüklerine daha sık maruz kalmaktadır. Örneğin spinal fleksiyonda diskin arka tarafındaki annulus lifleri tensil yüke maruz kalmaktadır. Bunun tam tersi spinal ekstansiyonda görülmektedir. Lateral bending hareketinde konveks taraftaki annulus liflerinde tensil yüklenme olurken aksiyel rotasyonda disk eksenine 45 derecelik açı ile annulus fibrosus liflerinde tensil yüklenme olmaktadır. Vertebra-disk-vertebra modelinde yapılan aksiyel tensil yükleme testinde, annulus fibrosusun ön ve arka kısımlarda en sağlam olduğu, dış-yan ve orta bölgelerde ise en zayıf olduğu bulunmuştur. Bu yapıda tensil yüklemeye en dayanıksız olan bölge ise nukleustur (46) . Bunun yanı sıra kendi doğrultusunda bulunan annulus fibrosus lifleri, (30 derecede) aksiyel tensil yüklerine horizontal liflerden daha dayanıklıdır. Eğilme testlerinde ise diskin (-8) derecelik eğilmede yapısının bozulmadığı, 15 dereceden sonra ise yapısında hasar oluştuğu bilinmektedir. İntervertebral disk yüklenmelerinde 260 N/mm den sonra yetersizlikler başlamaktadır (46-48) . Torsiyonel (rotasyonel) yükleme testlerinde normal yapıdaki disk dokusunda 20 derecelik bir tork açısında hasar oluşurken dejenere yapıdaki bir diskte daha düşük değerlerde yapı hasarı oluşmaktadır (46) . Disk dokusunun hasarı sonrasında rejenerasyon ve tamir potansiyeli düşüktür. Bu nedenle siklik yüklemeler ile yapılan yorulma deneylerinde (fatigue tolerance) 1000 siklustan sonra tamamıyla hasarlanma olduğu ve yorulma ömrünün düşük olduğunu söyleyebiliriz (46) .

Disk dokusunun içindeki basıncın ne olduğunun bilinmesi için ilk yapılan invivo deneylerde disk içerisine basınç transduseri yerleştirilmiştir. L3-4 mesafesindeki disk basıncının otururken öne 20 derece fleksiyon yapıldığında ve 20 kg'lık yük taşındığında

normale göre %300 arttığı bulunmuştur (49) . Disk içerisindeki basınç değişik vücut pozisyonlarında farklı olmaktadır. Yatarken 154 kPa, ayakta 550 kPa, otururken 700 kPa'dır. Bunun yanı sıra disk dejenerasyonu ile disk içi basıncın arttığı bilinmektedir (52) .

Önceleri disk dokusunda oluşan hasarın diskin mekanik özelliklerini bozmadığı iddia edilse de bugün artık disk hasarının diskin mekanik özelliklerini bozduğu kanıtlanmıştır (50,51) . Fonksiyonel spinal ünite modelinde yapılan posterolateral annulus fibrosus eksizyonu ve bu eksizyon yerinden nukleus pulposus çıkartılması sonrasında yapılan deneylerde; kompresyon ve torsiyonda çok fazla etkilenme olmazken fleksiyon, lateral bending ve traksiyonda çok daha büyük etkilenmeler olmaktadır (51) .

2.5 İntervertebral Disk Dejenerasyonu:

2.5.1 İntervertebral Disk Morfolojisindeki Değişiklikler:

Büyüme ve iskelet maturasyonu sırasında annulus ve nukleus arasındaki sınır daha az bellidir ve yaş ilerlemesi ile nukleus daha fibrotik ve daha az jel benzeri hale gelir. Yaş artması ve dejenerasyon ile disk morfolojisinde değişiklikler oluşur ve daha fazla disorganize olur. Sıklıkla annuler lameller irregüle olur ve çatallanır. kollagen ve elastin ağ aynı zamanda daha disorganize görülür (1) .

Burada sıklıkla disk içerisinde özellikle nukleusta yarık ve çatlak oluşumu vardır (1) . Nukleus içindeki matriks yapısında miksomatöz dejenerasyon ve normal kollagen liflerinde bozulmalar gelişir. annulus lamelleri sayısında azalma olurken toplam kalınlıklarında artmalar oluşur. kollagen lifleri de etkilendiğinden annulusta yırtıklar ilerlemeye başlar. Nukleus son plak komşuluğundaki yarıklar orta hattan başlayarak arka bölüme doğru ilerler. Nukleus içerisinde granüler materyal birikmeye başlar. Kıkırdak son plakta subkondral sklerozis yerleşir. Son plak hyalin kıkırdaktaki kalsifikasyonlar nedeni ile son plak porositesi bozulur ve disk dokusu beslenememeye başlar. Bunlar intervertebral diskte makroskopik morfolojik değişikliklere neden olmaktadır (53,44,54) .

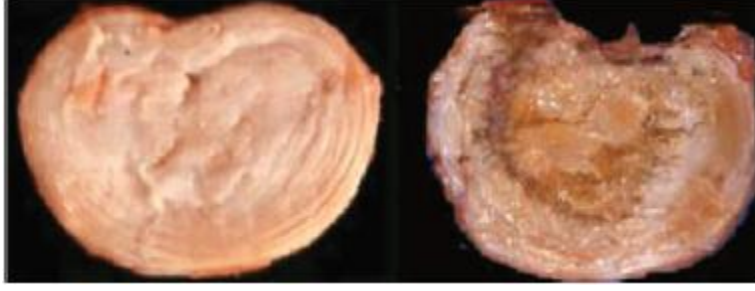
Sinirler ve damarlar dejenerasyonla birlikte daha fazla görülürler. Hücre proliferasyonu özellikle nukleusta oluşur. Aynı zamanda hücre ölümü hücrelerin nekrotik ve apopitotik görünümde olması ile oluşur. Bu mekanizmalar görünüşe göre çok yaygındır; erişkin diskinde % 50'den fazla hücrenin nekrotik olduğu yayınlanmıştır. Disk dejenerasyonu ile birlikte bulunan morfolojik değişiklikler, daha önce morfolojide yaş ile birlikteki değişiklikleri gösteren Broos ve ark. tarafından kapsamlı şekilde incelenmiştir. Bu çalışmada iki yaşından küçük bireylerin disklerinde nukleusta hafif yarık ve granüler değişiklikler saptanmıştır. Yaşın ilerlemesi ile hücre ölümü, hücre proliferasyonu, müköz dejenerasyon, granüler değişiklik ve konsantrik yırtık içeren dejeneratif değişikliklerin insidansının arttığı görülür (1,34).

Kirkildy-Willis dejenerasyonu üç safhada incelemiştir;

1. Disfonksiyon safhası: Disk dejenerasyonunun başlaması ile su içeriğinde azalma başlar. Su tutan proteinlerin biyokimyasal yapılarında bozulma olur. Radyolojik olarak disk kararmaya başlar. Faset eklemlerinde eklem sıvısının miktar ve yapısı azalır. Kapsüller ligament ve diğer ligamentlerin yapılarında bozulma, kollagen muhtevalarında değişme ve gevşeme olmaya başlar (44).

2. İnstabilite safhası: Disfonksiyon döneminde bozulmaya başlayan dengenin daha ilerlemiş halidir. Disk içindeki sıvı muhtevanın önemli miktarını kaybetmiş, yüksekliği ve tonusu azalmış ve bulging teşekkül etmiştir. Annulus tabakalarında yırtıklar oluşmuş çoğunlukla nukleus materyali buralara ve kırıkda son plakların zedelenmiş noktalarını doldurmaya çalışmaktadır. Son plaklarda belirgin bozulma başlamış olup, komşu vertebrada yağlı dejenerasyon başlamıştır. Son plaklarda osteofit formasyonları bu dönemde görülmektedir. Faset eklemlerinde tropizm, eksen yüzlerinde doku kaybı ve ayrılma ve değişen kollagen yapı itibariyle kapsüller ligament dahil tüm ligament yapılarında gevşeme ön plandadır. Bu dönemde vertebralar birbirleri üzerinden 3-5 mm öne veya arkaya kayabilir yani dejeneratif antero veya retrolistesis gelişir. Çekilen dinamik X ray grafiğinde bu hareketlilik ortaya konabilir. Omurga özellikle segmental olarak mobildir ve instabildir. Ağrı daha ön planda olup, sinir kökü irritasyon bulguları mevcut ağrıya eklenebilir ve bu tür irritasyon ağrılarını hasta pozisyonunu ayarlayarak azaltabilir (44).

3. Restabilizasyon safhası: Bu safhada osteofitler birbirine ulaşarak fonksiyonel hareket segmentlerini hareketsiz hale getirir. Disk dokusu tamamıyla ortadan kalkıp, son plaklar bir biri üzerine oturabilir. Faset eklemleri fibrotik ve ligamentler kalsifiedir (44).



Şekil 5: Normal ve dejenere lomber intervertebral disk. Solda normal intervertebral disk görülmektedir. Yumuşak nukleus pulposusu çevreleyen annulus lamelleri açıkça seçilmektedir. Sağda yüksek derecede dejenere olmuş disk görülmektedir. Nukleus kurumuş ve annulus disorganize görülmektedir. (1)

2.5.2 Disk Biyokimyasındaki Değişiklikler:

Disk dejenerasyonunun oluşumundaki en önemli biyokimyasal değişiklik proteoglikan kaybıdır. Agregan dokudan süzüleebilecek proteolitik enzimler ve serbest oksijen radikallerin etkisi ile daha küçük parçalara indirgenir. Bu proteoglikan kaybı olarak sonuçlanır. Bunun sonucu da disk matriksinin ozmotik basıncının kaybı, bunun sonucu da hidrasyonun kaybı olur. Proteoglikanların yaşlandıkça molekül boyutu azalır. Kondroidin sülfat/ keratan sülfat oranı ve glukozamin/ galaktozamin oranı oksijen azalması nedeniyle düşer. Bundan başka yaş ile kondroidin sülfat zincir boyutu azalır (1,34) .

Dejenere disklerde bile, disk hücreleri intakt hiyaluronan alan içeren büyük agregan molekülleri sentezlemeye devam ederler. Dejenerasyonda küçük moleküllerin ne gibi değişikliğe uğradığı daha az bilinir. Ancak decorin biglycanın dejenere insan diskinde arttığına dair kanıtlar bulunmuştur (1) .

Diskin kollagen popülasyonu, matriksin dejenerasyonu ile aynı zamanda değişmesine rağmen değişiklikler proteoglikanlar kadar olmaz. Kollajenin saf niceliği çok az değişir ama kollajenin tipi ve dağılımı değişebilir. Örneğin kollagen tiplerinin oranında ve matriks içindeki görünen dağılımında kayma olabilir. Ek olarak tip 2 kollagen gibi fibriller kollagenler enzimatik aktiviteden dolayı daha fazla denatüre

olurlar. Proteoglikanlar gibi, kollajenin üçlü heliks yapısı daha fazla denatüre ve rüptüre olur. Denatüre kollagen tip 2 miktarı dejenerasyonla birlikte artar. Ancak kollagen kros-link çalışmaları yeni kollagen moleküllerinin proteoglikanlar gibi en azından dejenerasyonun erken safhasında sentezlenebileceğini göstermiştir. kollagen tip 10 dejenerasyonun histomorfolojik işaretleri (yırtık ve fraktür) ve son plak kalsifikasyonu ile beraberdir (1,34) .

Disk dejenerasyonunda diğer unsurların miktar ve dağılımında değişiklikler olabilir. Örneğin fibronektin içeriği disk dejenerasyonu arttıkça artar ve daha fazla parçalanmış olur. Fibronektinin bu artmış düzeyi hücrelerin değişen ortama verdikleri yanıtı yansıtabilir. Sebep ne olursa olsun, fibronektin parçalarının oluşumu, sonra dejeneratif kaskat içerisinde beslenebilir çünkü bunların agregan sentezini downregüle ettiği gösterilmiş ama in-vitro sistemlerde bazı MMP (matriks metalloproteinaz)'lerin üretimini upregüle ettikleri gösterilmiştir (1) .

Disk dejenerasyonunun biyokimyası kollagen, proteoglikan ve fibronektin parçalarının artırması ile enzimatik aktivitenin bu sürece katkısını gösterir. Bazı enzim aileleri (katepsin, MMP, agreganaz, lizozim gibi), diskin çeşitli matriks moleküllerini yıkar. Katepsin asidik koşullarda etkisini maksimum gösterir. Buna karşı MMP ve agreganaz aşağı yukarı nötral pH isterler. Bu enzimlerin çoğu diskte yüksek düzeylerde bulunur. Örneğin MMP dejenere diskte daha fazladır. Katepsin D ve L, MMP'nin çeşitli tipleri (MMP-1, -2, -3, -7, -8, -9 ve -13) insan diskinde bulunurlar; bunlar disk hücrelerinin kendisi tarafından üretilir. Agreganaz da insan diski tarafından üretilir ama bunun aktivitesi görünüşe göre daha azdır ve en azından disk dejenerasyonun da daha fazla ilerlemiştir (1,2,22) .

Matriks dönüşümünün yaş ile ilişkili 3 fazı tanımlanmıştır: 1. Büyüme (0-15 yaş): agregan ve prokollagen tip1 ve 2'nin aktif sentezi. 2. Matürasyon (15-40 yaş): matriks içeriğinin sentezinin azalması, özellikle prokollajen tip 1. 3. Dejenerasyon ve fibrosis (>40 yaş): kollagen tip 2 denatürasyonu ve prokollajen tip sentez seviyelerinin artması (34) .

2.5.3 Disk Dejenerasyonunun Etiyolojisi:

2.5.3.1 Disk dejenerasyonuna yol açan nutrisyonel yollar:

Disk dejenerasyonunun primer nedenlerinden biri disk hücrelerine besin kaynağının yetersizliği olarak düşünülmektedir. Bütün hücreler gibi disk hücrelerinin de oksijen glikoz gibi besinlere, hayatta kalabilmek için ihtiyacı vardır. İn vitro olarak disk hücrelerinin aktivitesi ekstraselüler oksijen ve pH'a oldukça duyarlıdır. Matriks sentez hızı asidik pH'da ve düşük oksijen konsantrasyonlarında düşer. Hücreler düşük glukoz ve pH düzeylerine çok fazla dayanamaz. Oksijen ve pH'nın azalmasına yol açan besin kaynağının azalması, disk hücrelerinin matriks yapma yeteneğini etkileyebilir ve böylece disk dejenerasyonuna neden olabilir (1) .

Disk geniş ve avaskülerdir ve hücreler besin almak ve metabolik artıklarını atmak için kendi çevrelerinde kan damarlarına ihtiyaç duyarlar. Kan kaynağından nukleus hücrelerine yol güvenilmezdir çünkü bu hücreler tamamıyla vertebral cisimden gelen, subkondral plağı penetre eden ve kıkırdak son plağın hemen üzerinde sonlanan kapillerler tarafından beslenirler. Besinler daha sonra kapillerlerden son plak ve nukleusun matriksi boyunca hücrelere doğru difüze olması gerekir (1) .

Nukleus hücrelerine doğru besin sağlanması çeşitli noktalarda aksayabilir. Vertebral cismin kan tedarikini etkileyen ateroskleroz, orak hücreli anemi, Gaucher hastalığı gibi faktörlerin hepsi disk dejenerasyonunu önemli derecede artırıyor görülmektedir (1) . Kauppila ve ark 606 kişiyi 25 yıl takibe alarak yaptığı çalışmada ilerlemiş aort aterosklerozunun disk dejenerasyonu gelişme riskini artırdığını ve bel ağrısı ile birlikte bulunabileceğini bulmuşlar (7) . Uzun süreli egzersiz veya bunun hiç olmaması, disk içerisine besin hareketi ve böylece bunların doku konsantrasyonları üzerine etkisi olduğu görülmektedir. Bu mekanizma çok iyi bilinmez ama egzersizin disk kemik arasındaki kapiller yatağın yapısına etkisi olduğu öne sürülmektedir. Sonuç olarak kan akımı düzenli kalsa bile besinler kıkırdak son plak kalsifiye olduğunda disk hücrelerine ulaşamaz; skolyotik disklerde görülen son plak kalsifikasyonu buna örnek gösterilebilir. Besin tedarikinde bozukluğun disk içine ve dışarısına oksijen ve laktik asid transportunu etkilediği deneysel olarak ve hastalarda gösterilmiştir (1) .

Disk yapılarına besin tedariki ile ilgili çok az bilgi olduğu halde, skolyotik disklerde hücre kaybı ve besin tedariki azalması arasında ilişki bulunmuştur. Burada bir de in vivo olarak disk dejenerasyonunda besin etkilendiğine dair kanıt bulunmaktadır ve maddelerin kemikten diske transportunun in vitro ölçümü dejenere disklerde normal disklere göre önemli derecede az olduğu gösterilmiştir. Böylece burada şimdiye kadar az kanıt olmasına rağmen günümüzde besin tedarikinin azalmasının disk dejenerasyonuna yol açacağına aşikâr olduğu görülmektedir (1) .

2.5.3.2 Mekanik Yüklenme ve Hasar:

Anormal mekanik yüklenmelerin de disk dejenerasyonuna yol açtığı düşünülmektedir. Yıllar boyunca bel problemlerine, iş ile ilişkili yapısal bozukluğa yol açan hasarın majör neden olduğu düşünülmüştür. Böyle bir hasarın, disk hasarına ve sonuç olarak klinik semptomlar ve bel ağrısına neden olacak yolu başlattığına inanılmıştır. Hayvan modelleri de bu bulguları desteklemektedir. Ters olarak yoğun egzersizin disklere etki etmediği görülmesine ve disklerin uzun süreli yükleme testlerine proteoglikan seviyelerini yükselterek yanıt verdiği yayınlanmış olmasına rağmen disklere deneysel yükleme ve hasar dejeneratif değişiklikleri indükler. Disk dejenerasyonunda anormal mekanik kuvvetlerin rolü için daha ileri dayanak, füzyon olmuş segmente bitişik disk seviyelerinin dejenere olmasına dair bulgulardan gelmektedir (1) .

Bu hasar modelini, çevresel faktörler ile disk dejenerasyonu arasındaki birlikteliği gösteren epidemiyolojik çalışmalar desteklemektedir. Bel ağrısı ve dejenerasyona ağır fiziksel çalışma, ağır kaldırma, kamyon şoförlüğü, obesite ve sigara içimi majör risk faktörleri olarak bulunmuştur (1) .

2.5.3.3 Genetik faktörler:

En yeni çalışmalarda, disk dejenerasyonuna yol açan faktörlerin önemli genetik faktörleri vardır. Birkaç çalışmada disk dejenerasyonu için yüksek ailesel yatkınlık bildirmiştir. Geçtiğimiz on yılda yayınlanan iki farklı ikiz çalışmalarında %60'ı aşan kalıtsallık olduğu gösterilmiştir. Sigara ya da ağır çalışma gibi majör risk faktörleri

bulunmayan tek yumurta ikizlerinin manyetik rezonans görüntülerinde omurga yapısı ve disk dejenerasyonu ile ilgili birçok benzerlik vardır (1) .

Genetik eğilim, disk dejenerasyonu ve matriks makromoleküllerinin gen polimorfizmi arasında birliktelik bulan yeni çalışmalar ile desteklenmektedir. Günümüzdeki yaklaşım, ekstraselüler matriks genlerinin ana odak alınması ile aday genler için arama yoludur. Disk dejenerasyonu diskin majör kollagenlerinin gen polimorfizmi arasında ilişki olmamasına rağmen kollagen tip 1, kollagen tip 2, iki kollagen tip 9 geninin mutasyonu (COL9A2 ve COL9A3), Fin popülasyonunda lomber disk dejenerasyonu ve siyatik ile yüksek oranda birliktelik göstermektedir. COL9A2 polimorfizmi Fin popülasyonunda çok az görülür ama bu allelin bulunduğu bütün bireylerde dejeneratif disk hastalığı bulunmuştur ve bunun dominant kalıtsal hastalıkla birlikte olduğu izlenimini uyandırmıştır (1,34) . COL1A1 geninin transkripsiyon faktörünün bağlayıcı yerinde bir G/T polimorfizmi intervertebral disk dejenerasyonu ile birlikte olduğu gösterilmiştir (34) . Bütün bu mutasyonlarda triptofan (normalde herhangi bir kollagen alanında bulunmayan hidrofobik bir aminoasit) diğer aminoasitlerin yerini alır ve potansiyel olarak matriks yapısını etkiler (1,34) .

Disk genetiği ile ilgili diğer genlerde tanımlanmıştır. Bir Japon çalışmasında, agreganda polimorfizm bulunan bireylerin erken disk dejenerasyonu riski altında oldukları bulunmuştur. Bu mutasyon, bu şiddetli disk dejenerasyonu arasında sadece az sayıda kondroidin sülfat bağlayabilen core proteinlerin aşırı temsili ile farklı uzunluklarda agregan core proteinlerine yol açar. Muhtemelen bu bireyler normale göre daha düşük kondroidin sülfat içeriğine sahiptir ve bunlar diğer mekanizmalar tarafından proteoglikan kaybına uğratılan dejeneratif diskler gibi davranırlar. Transgenik farelerde yapılan çalışmalar agregan, kollagen 2, kollagen 9 gibi yapısal matriks proteinlerinin mutasyonlarını göstermiştir. MMP-3 geni promoter alanındaki polimorfizm Japon popülasyonunda hızlı disk dejenerasyonuna sebep olduğu gösterilmiştir (1,34) .

2.5.4 Dejeneratif Değişikliklerin Disk fonksiyonu ve Patolojisine Etkileri:

Dejenere disklerde proteoglikan kaybı diskin yük taşıma hareketi üzerine majör etkilidir. Proteoglikanların kaybı ile diskin ozmotik basıncı düşer ve disk yük altında hidrasyonunu daha az devam ettirebilir. Dejenere disklerin normal disklere göre daha az su içeriği vardır ve yük altında yüksekliklerini ve sıvı içeriklerini hızlıca kaybederler ve şişmeye eğilimli olurlar. Yükleme böylece son plak ya da annulus üzerine uygun olmayan stres konsantrasyonuna yol açar (1) .

Disk hareketinde bu gibi majör değişiklikler, diğer spinal yapılar üzerine oldukça etkilidir ve bunarın fonksiyonunu etkiler ve hasara yatkınlık kazandırır. Örneğin, dejenere disklerde, yük altında, disklerin hızlı yükseklik kaybının sonucu olarak, bu gibi disklere bitişik apophyseal bileşkeler anormal yüklere maruz kalabilir ve osteoartritik değişiklikler geliştirebilir. Disk yüksekliğinin kaybı da diğer yapıları etkileyebilir. Bu ligamentum flavum üzerine tensil kuvvetleri azaltır ve şeklinin değişmesine ve kalınlaşmasına neden olur. Elastikliğinin kaybı sonucu ile ligament spinal kanal içerisine doğru şişer ve spinal stenoza neden olur (1) .

Proteoglikanların kaybı da disk içerisine ve dışarısına moleküllerin hareketini etkiler. Agregan konsantrasyonunun azalması küçük fakat ozmotik olarak aktif agregan parçalarının diskten kaybını kolaylaştırır. Ek olarak agregan kaybı growth faktör kompleksleri ve sitokinler gibi büyük moleküllerin disk içerisine penetrasyonunu arttırır ve bu hücrel davranışı etkiler ve dejenerasyonun ilerlemesine katkıda bulunur. Dejenere disklerde vasküler ve nöral proliferasyon artması proteoglikan kaybı iledir çünkü agreganın nöral proliferasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir (1) .

2.6 Nikotin

Nikotin ($C_{10}H_{14}N_2$, 1-methyl-2-(3pyridyl)pyrrolidine) Nikotina Tabacum bitkisinin yapraklarından elde edilen bir alkaloiddir (55,8) . İlk zamanlarda Amerika kıtasında yetiştirilen bu bitki 16. yüzyılda Avrupa'ya getirilmiş ve buradan bütün dünyaya yayılmıştır. Kurutulmuş tütün yaprağında %0.5-8 oranında bulunur ve toplam alkaloidin %95'ini oluşturur; diğer alkaloidler nornikotin, anabazin, kotinin, nikotin N-oksit'dir. Sigara yapmak için kullanılan nikotinin yüzdesi genellikle 0,5-3 arasındadır. Kimyasal yapısı bakımından, bir piridin halkası ile N-metil pirolidin halkasının kombinasyonundan ibaret bir tersiyer amindir. Suda fazla çözünür. Ancak beyne çok hızlı geçebilecek kadar lipofiliktir. Tütün yaprağında etkin (S)- izomeri şeklinde bulunur (55) . Nikotinin molekül ağırlığı 162'dir (5) .

Nikotin santral sinir sistemi, otonom sinir sistemi ve nöromusküler bileşkede bulunan nikotinic reseptörlerin prototipik agonistidir (55) . Otonomik gangliyonlarda nikotinic reseptörlerin stimülasyonuna sekonder postgangliyonik lifleri uyarması ile etkisini gösterir. Nikotin özellikle periferel sinirlerin sempatik ve parasempatik gangliyonları ve de santral sinir sisteminin uyarılmasını indükler (55,8) . Nikotin özellikle sistemik sirkülasyona geçer ve kapillerlerden ekstrasvasküler alanlara doğru serbestçe difüze olur ve serbest formu karaciğer, böbrek, kas, yağ gibi vücut dokularına hızlıca yayılır ve yüksek oranda bulunur. Santral sinir sistemi etkilerini göstermek için kan beyin bariyerini serbestçe geçer. Yarılanma ömrü yaklaşık dokuz saattir ve çok sayıda araştırmacı nikotinin sigara içenlerin vücut sıvılarına yerleştiğini düşünmektedir ve sigara içenlerde plazma konsantrasyonlarını tanımlamayı başarmışlardır. Sigara içenlerde ölçülebilir düzeylerde bulunur. Nikotinin plazma seviyesi düzenli sigara içenlerde 50-300 nmol/L arasındadır (8) .

Nikotinin büyük kısmı karaciğerde kotinine metabolize olur (yaklaşık %80). Kalan kısmı ise akciğerler tarafından metabolize olur veya idrar ile değişmeden atılır. Molekül ağırlığı glukozdan daha azdır (162), %5'den daha azı plazma proteinlerine bağlıdır. Nikotin intervertebral disk içerisine periferel kapillerleri kullanarak girer ve molekül ağırlığının az olmasını kullanarak nukleus pulposusa doğru difüze olur (8,5,10) .

Khan et al. nikotinin vertebral kondrositlerde kötü morfolojik etkilerini göstermiştir. Daha yeni çalışmalarda nikotinin domuz nazal kıkırdağında

glikozaminoglikan sentezini azalttığı bulunmuştur. Nikotinin kemik ve osteoblast üzerine olan etkisini gösteren birçok çalışma yayınlanmıştır (8) .

Nikotin intervertebral diskler çevresinde vasküler konstrüksiyonu indüklemektedir. Disk çevresindeki vasküler ağın sürekli konstrüksiyonu diskteki hücre aktivitesini azaltmaktadır ve dejenerasyona yol açmaktadır. Ishihara et al çalışmasında sigara içiminin intervertebral disk çevresindeki kan akımının volümünü azalttığı ve bununda disk içerisindeki oksijen azalmasına yol açtığını yayınlamıştır (5,9) . Oksijen azalması nedeniyle diskteki kollagen ve proteoglikan sentezi azalmaktadır. Tavşanlarda yapılan bir çalışmaya göre nikotin vasküler lümen çevresindeki endotel hücrelerde genişleme yaptığı ve kırmızı kan hücreleri sayısında azalma yaptığı gösterilmiştir. Ek olarak genişleyen endotel hücrelerinde vakuolizasyon ve perisitlerin genişlemesi saptanmıştır (10) . Holme ve Nachemson çalışmasında domuzlarda sigaraya maruz kalmanın vasküler yatakta konstrüksiyona yol açtığını göstermiştir (10,4) .

H Oda ve ark. sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarda yaptığı çalışmada 4 haftadan fazla sigara dumanına maruz kalan sıçanlarda annulus fibrosusun hasar gördüğünü göstermiştir. 8 hafta maruz kalanlarda daha ileri parçalanma gösterilmiştir. Hasarlı annulus fibrosus tabakalarındaki kondrositler genişleme ve daire şekline gelme eğiliminde olduğu gösterilmiştir. Bu da değişmiş kondrositlerin intervertebral disk dejenerasyonuna yol açan süreçlerde ana rollerden birini oynadığını düşündürmektedir (4) . Annulus fibrosustaki değişikliklerin irreversibl olduğu gösterilmiştir (9) . Bu çalışmada nukleus pulposus dejenerasyonu gösterilmemiş ancak nukleus pulposustaki proteoglikan seviyesindeki düşme sigara içiminin somut etkisi olarak gösterilmiştir (4,9) .

Günümüzdeki çalışmalar nikotinin sitotoksik etkilerini göstermiştir. Disk dejenerasyonuna nikotinin bu sitotoksik etkisinin de yol açtığı söylenmektedir. (10) IL-1 beta, prostaglandin E1, matriks metalloproteinaz 3, NO ve diğer maddeleri disk içerisine sokar. Bunlar disk dejenerasyonuna yol açan maddelerdir. IL-1 beta seviyelerinin sigara içenlerde yüksek olduğu tespit edilmiştir (4) . K.S Kim et al çalışmalarında nikotinin bone morfogenezik protein 2 (BMP-2) etkisini antagonize ederek disk dejenerasyonuna neden olduğunu yayınlamıştır (56) .

2.7 Alkol:

Alkoller; üç bağı doymuş bir karbon atomuna, bir hidroksil (OH) grubunun bağlanmasıyla oluşan bileşiklerdir. Renksiz, özel kokusu ve tadı olan uçucu bir maddedir. Gündelik yaşantımızda sıkça karşılaştığımız alkol çeşitleri şunlardır:

a)Etanol (etil alkol; CH_3CH_2OH): İçkilerde kullanılan alkoldür. Alkol denince İlk olarak akla etanol gelir.

b)Propanol (izopropil alkol; $(CH_3)_2CHOH$): Antibakteriyel olarak kullanılmakta olup, merkezi sinir sistemi üzerine etanolun iki katı kadar deprese edici özelliğe sahiptir.

c)Metanol (Metil alkol; CH_3OH): Körlük yapma etkisi ile bilinir (57) .

Alkol; meyve suları, yaş ve kurutulmuş meyveler, patates ve hububat taneleri içinde bulunan polisakkaritlerin fermantasyonu yolu ile elde edilir. Alkol konsantrasyonu yaklaşık %12-14'e eristiğinde veya ortamdaki karbonhidratlar tükendiğinde fermantasyon durur. Şarap, vermut ve bira doğrudan fermantasyon suretiyle üretilir. Yüksek konsantrasyonda alkol içeren içkiler; ya şaraba saf alkol katılmasıyla ya da fermantasyona uğramış sıvının distilasyonu ile hazırlanırlar. Rakı, votka, kanyak ve viski distile edilmiş içkilere örnek teşkil ederler. Rakının distilasyonu ortama anason tohumları katılarak yapılır. Votka ve kanyak gibi distillenmiş içkilere ve vermut ile likör gibi distillenmemiş içkilere genellikle bitkisel kaynaklı aromatik maddeler katılır (58) .Tablo 1' de, çeşitli içeceklerin alkol oranları belirtilmiştir.

Alkol; ağız, yemek borusu, mide ve ince bağırsak mukozasından kolayca absorbe edilerek kana geçer ve bütün vücuda dağılır. Alkol; doğrudan mide duvarından emilerek, kana karışabilen az sayıdaki maddelerden biridir. Oral alınan alkolün; 30 dakika gibi çok kısa bir sürede, kanda en yüksek düzeye çıktığı tespit edilmiştir (59) .

Alkollü bir içki alındığında, alınan içkideki alkol yoğunluğuna, midenin başka yiyeceklerle doluluk durumuna göre değişmek üzere, genellikle bunun % 20'si mideden, geri kalan % 80'i ince bağırsaklardan kana emilir. Alkolün mideden emilimi, normalde bağırsaklardan emiliminden daha yavaş olduğundan, mide boşken bu süreç daha da hızlanır. Etanolla beraber alınan yağlı, karbonhidratlı ve proteinli besinler alkolün ince bağırsaktan emilimini azaltır. Yüksek alkol konsantrasyonlu içkiler ise pilorospazm, gastrik atoni ve gastrik dilatasyon yaparak alkol emilim hızını azaltırlar. Oral yolla

alınan alkol, kolona erişmeden mide ve ince bağırsaktan emilir. Rektal yolla uygulandığında kolon mukozasından kolaylıkla absorbe edilir. Alkol ve alkollü sıvılar koklandığında, akciğer alveollerinden az da olsa absorbe edilirler (60) .

<u>ıcki</u>	<u>% Alkol</u>	<u>ıcki</u>	<u>% Alkol</u>
Bira	4,5	Vermut	17
Şarap (3 çeşit)		Tekel Kanyağı	41
1-Sofra	12 - 13	Rakı	45
2-Çerez	15 - 16	Viski	45 - 50
3-Likör	23	Votka	45

Tablo1. Çeşitli alkollü içeceklerin alkol yüzdeleri (Kayaalp S.O, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 2000, s.922)

Alkol bağırsaklardan emildikten sonra önce portal dolaşıma, oradan da sistemik dolaşıma geçer. Hızlı bir şekilde kapiller damarlara, ektraselüler ve intraselüler bütün vücut sıvılarına dağılır. Plazma proteinlerine bağlanmaz. Böbrek, karaciğer, akciğer ve beyin gibi organlar, hızlı kan akışı nedeni ile kan-alkol düzeyi yüksek organlardır. Sonuç olarak alkol hücre membranlarından basit difüzyonla kolaylıkla geçer. Alkol anne sütüne, plasentaya, fetal dolaşıma, amniyonik sıvıya, vitreous humora, serebrospinal sıvıya, safraya, tükürüğe ve ekspirasyon havasına geçer (60) .

Gebelikte kullanılan alkol abortus (düşük), ölü doğum, bebekte gelişme geriliği, çeşitli baş-yüz gelişim kusurları ve zekâ geriliği gibi istenmeyen durumların oluşmasına neden olabilmektedir. Gebelik döneminde kullanılan alkolün bebekte istenmeyen durumlar oluşturması alınan alkol miktarı ile doğru orantılıdır. Alkol anne kanından plasenta yoluyla direkt bebeğin kanına geçer ve anne kanındaki miktarla eşitlenir. Gebeliğin erken dönemlerinde alınan alkol direkt olarak embriyo üzerine olan etkisiyle düşüğe, organ gelişimi döneminde hücreler üzerindeki etkileriyle çeşitli organlarda gelişim kusurlarına, gebeliğin ikinci trimestirinden itibaren hücre çoğalmasının hızlı olduğu dönemde hücrelerdeki toksik (zehirli) etkisiyle santral sinir sistemi hasarlarına neden olabilmektedir (61,66,62,63) .

Avasküler intervertebral diskin besin kaynağı diskin üzerindeki ve altındaki vertebral cisim içerisindeki damarlardan son plak boyunca besinlerin difüze olmasıdır. 25 yıl izlemli bir çalışmada ileri aterosklerozun disk dejenerasyonuna yol açtığı ve bel ağrısı ile birlikte olduğu bulunmuştur. Bu duruma göre aortun posterior duvarının kalsifikasyonu lumbar vertebranın besleyici damarlarının tıkanmasına neden olur ve bu da disk dejenerasyonu ve uzun süreli bel ağrılarına neden olur. Son dönemlerdeki çalışmalar orta derece alkol kullanımının kardiyovasküler riski artırdığını söylemektedir (5,7).

İL-1 ve TNF- α 'nın matriks dejenerasyonu ile ilişkili olduğuna dair sağlam kanıtlar vardır. TNF- α 'nın matriks metalloproteinaz ve agreganaz-1 'in salınımını artırır ve İL-1' de matriks yıkımına aracılık eder. Son çalışmalar alkol alımının anti-enflamatuar etkisi olduğu düşünülmektedir. Mandrekar enflamatuar sitokinler İL-1 ve TNF- α üreten monositlerde önemli derecede azalma bulmuştur. Ve çalışmalar ılımlı alkol kullanımının potansiyel anti-enflamatuar etkisi bulunduğunu ve bu etkinin ateroprotektif etkiyi açıkladığını bulmuştur. Böylece alkol anti-enflamatuar özelliğinden dolayı intervertebral disk dejenerasyonunun inhibisyonunda önemli rol oynayabilmektedir (5).

Alkol alımının kemik üzerine patolojik etkisi olması ve osteoporoz ve fraktür gelişimindeki önemli etkisine rağmen çeşitli klinik araştırmalar alkol alımının disk dejenerasyonuna yol açmadığını söylemektedir. İki deneysel araştırmada Hoffman ve Kulyk, alkol alımının, tip 2 kollagen ve agregan için mRNA sentezini artıran DNA içeriğini artırdığını ve bununda matriks glukoaminoglikan içeriğini artırıcı etkisi olduğunu buldu (5).

2.8 Sıçanlar:

En çok kullanılan laboratuvar sıçanları, Norveç sıçanlarından türetilmiştir. Yaygın olarak kullanılan sıçan türleri Wistar albino, Sprague Dawley ve Long Evans'tır. Sıçan yüksek uyum gücü, çok geniş alanlardaki yabani iklim koşulları arasında yaşayabilme ve çoğalabilme yeteneğinde bir hayvandır. Gruplar halinde veya tek olarak yaşarlar. Yem kıtlığı ve aşırı kalabalık onları saldırgan yapar. Koku ve işitme duyuları iyi gelişmiştir. Görüşleri zayıftır. Başta bıyık etrafında, kuyrukta ve pençelerdeki dokunma alıcıları iyi gelişmiştir. Yerde duruş için ve atlamada dengeyi kurmak için, güçlü bir kuyruk vardır. Çekingen ve tehlikeden kaçınan, sessiz, akıllı, kolay eğitilebilir bir hayvandır. Sıçanlar yem tüketimlerini kontrol etme yeteneğine sahiptirler, kendilerine sunulan yemin fazlasını yemeden bırakırlar. Yem ve yer olanaklarının sınırlı olduğu koşullarda, metal kurşun gibi metal tabakaları bile kemirerek kesici dişlerini kuvvetlendirirler. Geceleri aktiftirler, gündüz ise dinlenirler. Genellikle çöplük veya lağımlarda yaşamasına rağmen, tükürüğü ile pençelerini ıslatarak kürkünü yıkar ve düzeltir. Tahrik edilmedikleri sürece, çok nadir ısırırlar. Bunlarda sekum iyi gelişmiş olup selülozun sindiriminde önemli rol oynar. Sıçanlar da kısıtlı yemleme ömrü birkaç ay uzatırken, aşırı yemleme azaltmaktadır (70,71).

Üreme;

Sıçanlar poliöstrik hayvanlar olup, 4-5 günde bir düzenli olarak kızgınlık göstermektedirler. Cinsel olgunluğa 6,5-7,5 haftalıkken ulaşırlar ve ilk çiftleşme yaşları da 80-90. günlerdir. Bir doğumdaki yavru sayısı ırka, soya ve yaşa göre farklılık göstermekle birlikte 6-12 arasında değişir. Gebelik süreleri 20-21 gün ve laktasyon süreleri de ortalama 21 gündür. Nazlıgül'ün yaptığı çalışmada, 3,5 aylıkken çiftleştirilen sıçanların ilk 5 doğumundaki yavru sayısı ortalama 9.45 ± 0.34 süt kesimi yavru sayısı 7.95 ± 0.46 ve ölüm oranı ise %15,4 olarak bildirilmektedir (73).

Sıçanlar puberte başlangıcından yaşlılığa kadar siklik aktive gösteren ve mevsime bağlı olmayan poliöstrik hayvanlardır. Sıçanlarda vajina epiteli proöstrus döneminde 2- 8, östrus döneminde 7-11, metaöstrus döneminde 5-9 hücre katı içerir, diöstrus döneminde ise katların sayısı yeniden 10' a yükselir. Proöstrus başlangıcında. vajinal sitolojide en baskın hücre tipi intermediyer hücredir. Süperfisial ve parabazal hücreler az sayıdadır. Kornifiye epitel hücreleri ender olarak görülür. Süperfisial hücreler. dönemin sonunda baskın görünüme ulaşacak olan kornufiye hücrelerle yer

değiştirene kadar artar. Geç proöstrusta smear'de karyopiknotik ve kornifiye hücreler baskındır (72).

Sitolojik olarak östrus evresi, nukleuslu epitel hücreleriyle kornifiye epitel hücrelerin bulunması ve lökosit sayısının göreceli varlığına göre tanımlanır. Östrus başlangıcında, smear'de kornifiye olmuş hücreler artış gösterir. Lökositler bu dönemde görülebilir. Artan östrojen düzeyine karşı oluşan cevap, kornifiye hücrelerin sayısında artış biçiminde kendini gösterdiğinden, bu dönemde süperfisial hücrelerin diğer epitelyum hücrelere oranı saptanabilir. Östrojenin etkisinde intermediyer hücreler prekornifikasyona uğrar; bu durumda süperfisial hücre karakteri, sitoplazmanın eozinofilik hale gelmesi ve nukleusun büzüşmesi ile kendini belli eder. Dönemin ortalarında, % 75 oranında çekirdekli, %25 oranında ise kornifiye hücre bulunur. Metaöstrusta smear'de büyük düz çekirdekli hücrelerin tekrar ortaya çıkışı görülür. Östrusta vajinal epitelin süperfisial tabakasında kornifiye hücreler mevcut iken, bunların dökülmesi ile metaöstrusta lökositlerin yayılımı görülür. Tüm kornifiye hücreler döküldükçe, derin tabakalardan gelen epitel hücreler görülür ve polimorf nükleer lökositler smear'de fark edilir. Ovaryum steroidlerinin yarattığı etkinin hızla düşmesi nedeni ile smear tipik olarak atrofik hale gelir, epitel hücre popülasyonu parabazal tipe dönüşür ve zeminde değişken miktarda mukus meydana gelir (72).

Gebe hayvanlarda ve progesteron enjekte edilmiş steril sıçanlarda smear'de belirgin bir zemin oluşturan polimorf nükleer lökositler ve mukus gözlenir. Gebelikte intermediyer hücrelerin bulunmasının karakteristik bir örnek olduğu açıklanmıştır. Metaöstrus ve diöstrusta vajina duvarı nemlidir. Gebelik ya da yalancı gebelik sırasında smear'de lökosit invazyonu tipiktir. Ejekulyondan 10 dakika sonra spermanın bir bölümü, 40 dakika sonra tamamı koagüle olarak vajinal plak oluşumu gerçekleşir (72).

Bir dişinin doğurganlığı, düzenli östrus siklusu ile belirlenir. Doğuma birkaç gün kala gebe hayvan yataklıkları toplayarak veya kâğıtları yırtarak, yuva yapar. Anne sıçan doğum bittikten sonra, doğanları temizler ve ölüleri uzaklaştırır. Yavrular ilk üç saat içinde süt emmeye başlar. Yavrular kılızsız, kör ve dişsiz olarak doğarlar. Canlı ağırlıkları 5 gün içinde doğum ağırlığının 2 katına çıkar, yavrular 9. gün de ince bir tüy tabakası ile kaplanırlar, 11-12 gün sonra da katı yem yiyebilirler (70,71).

Yetiştirme; Sıçanlar, ya telden yapılmış metal kutularda ya da plastikten veya paslanmaz çelikten yapılmış ayakkabı kutularına benzeyen kutularda yaşarlar. Suluklar,

hafif ve kırılmaz olduğu için plastikten yapılması tavsiye edilmektedir. Sıçanlar, geceyi sevdiklerinden laboratuarda aydınlatma, bir makine ile ayarlanır. Günde 12-14 saat aydınlık yeterlidir. Eğer günlük ışık sağlanamazsa, sıçanların verecekleri dengesiz hareketlerle deney sonuçları etkilenebilir. Sıçanlar için gerekli sıcaklık 21-23,5 C°, nemlilik % 30-70 arasındadır. Her saatte 10-15 kere odanın havası değişecek şekilde havalandırma yeterlidir. En uygun yataklık talaş, parçalanmış kağıt, yumuşak mukavva, selüloz lifler, kurutma kağıdı, saman ve kuru ottur (70,71).

Sıçanlar, omnivordur. Belli diyet karıřımlarıyla beslenmelidirler. Bunlar, ticari olarak hazırlanıp, paketlenebilir. Diyette protein, yađ ve selüloz oranları dűřürűlműřtür. Yemde yüksek oranda sindirilmemiş selüloz bulunursa sert ve büyük dıřkı oluřur. Su gereksinimleri yemin su içeriđine, çevre sıcaklıđına ve neme göre deđiřir. Genellikle çeřme suyu iđerler (70,71).

Tablo 2: Sıçanların Bazı Fizyolojik Verileri (70,71):

Canlı Ağırlık

Erkek.....450-520 gr.

Dişi..... 250-300 gr.

Doğum Ağırlığı..... 5-6 gr.

Yaşam Süresi..... 2,5-3,5 yıl

Yem Tüketimi..... 10gr/100gr/gűn

Su Tüketimi..... 10-12 ml/100gr/gűn

Siklus Uzunluđu..... 4-5 gűn

Gebelik Periyodu..... 21-23 gűn

Sűt Bileřimi

Protein.....%9.7
Yağ.....%13
Laktoz.....%3.2
Sütten Kesim Yaşı.....3-4 hafta

Hematokrit.....%36-48

Hemoglobin.....11-18gr/100 ml

Alyuvar..... 7.0-10 x10⁶/mm³

Akyuvar.....6-17x10³ /mm

Nötrofil..... % 9-34

Lenfosit..... % 65-85

Eozinofil.....% 0-6

Monosit.....% 0-5

Bazofil.....% 0-1.5

Solunum Sayısı..... 70-115/dak.

Kalp Atım Sayısı..... 250-450/dak

Kan Basıncı.....84-134 / 60 mmHg

Kan Hacmi.....54-70 ml/kg

Beden Isısı.....35.9-37.5 °C

Kullanım amacı; Sıçanların uyum yeteneği ve dayanıklılığı, farklı araştırma tipleri için uygun model oluşturmalarını sağlar. Fare ve sıçan birlikte, diğer hayvanların tam 14 katı kadar çok sayıda araştırmada kullanılmıştır. Sıçanlar biyolojik araştırmalar da insan ile benzerlikleri nedeniyle, diğer türlere göre daha çok tercih edilir (70,71).

3. MATERYAL- METOD

Çalışmamız, ağırlıkları ortalama 150-200 gr olan, 12-24 aylık, 18 adet Wistar Albino cinsi erişkin dişi sıçanlar kullanılarak gerçekleştirildi. Denekler, Kahramanmaraş Sütçüimam Üniversitesi Deneysel Araştırma Laboratuvarından sağlandı. Denekler deney süresince Kahramanmaraş Sütçüimam Üniversitesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında 22 °C oda ısısında ve % 45-75 nemde, 12 saat aydınlık ve karanlık dönemlerle, serbest su ve gıda sağlanarak araştırmaya alındı. Yem ve su günlük olarak değiştirildi. Çalışma süresince hayvanlar, kenarları sert plastik ve üstünde çelik ızgara bulunan deney grubuna göre işaretlenmiş 19x12x12 cm ölçülerindeki kafeslerde tutuldu. Estrus siklusunun belirlenmesi için günlük vajinal smearler alındı. Sıçanlar proestrus dönemi tespit edilen 3 dişiye 1 fertil erkek olacak şekilde çiftleştirildi ve çiftleşme sonrası, vajinal smearında sperm hücreleri görülenler gebe kabul edildi.

Bu deneysel çalışmanın protokolü Kahramanmaraş Sütçüimam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulu tarafından değerlendirildi ve çalışma için gerekli onay verildi.

Sıçanlar hamile bırakıldıktan sonra 6 gruba ayrıldı. Her bir gruba 3 adet sıçan alındı.

1. NİKOTİN GRUBU: Hamileliğin 14. gününden itibaren 2 mg/kg/gün iki dozda nikotin intraperitoneal olarak verildi.
2. NİKOTİN KONTROL GRUBU: Hamileliğin 14. gününden itibaren nikotin dozuna uygun serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi.
3. NİKOTİN-ALKOL GRUBU: Hamileliğin 14. gününden itibaren 2 mg/kg/gün iki dozda nikotin intraperitoneal olarak, 6 g/kg/gün etil alkol oral yolla verildi.
4. NİKOTİN-ALKOL KONTROL GRUBU: Hamileliğin 14. gününden itibaren nikotin dozuna uygun serum fizyolojik intraperitoneal olarak ve etil alkol dozuna uygun serum fizyolojik oral yolla verildi.
5. ALKOL GRUBU: Hamileliğin 14. gününden itibaren 6 g/kg/gün etil alkol oral yolla verildi.
6. ALKOL KONTROL GRUBU: Hamileliğin 14. gününden itibaren etil alkol dozuna uygun serum fizyolojik oral yolla verildi.

Deneyde nikotin hidrojen tartarat tuzu (Sigma, Amerika) 2 mg/kg/gün iki dozda (08.30 ve 17.30) intraperitoneal olarak verildi (68) . %47,5 etil alkol 6 g/kg/gün dozda hayvanların içme suyuna katılarak verildi (69,64) . Kontrol nikotin gruplarına eş zamanlı olarak aynı miktarda serum fizyolojik verildi.

Deneklerden ölen olmadı. Bazı deneklerde nikotin verilmesinden sonra konvulzyonlar görüldü. Bu konvulzyonlar yaklaşık 1 dakika sürdüğü gözlemlendi ve yaklaşık 5 dakikalık sedatif dönemden sonra normale döndükleri gözlemlendi. 1. Gruptan toplam 10 adet yavru; 2. Gruptan toplam 14 adet yavru; 3. Gruptan toplam 17 adet yavru; 4. Gruptan toplam 17 adet yavru; 5. Gruptan toplam 16 adet yavru; 6. Gruptan toplam 11 adet yavru doğdu ve deneye alındı. Doğumu takiben her bir sıçandan doğan yavrular doğar doğmaz Kahramanmaraş Sütçüimam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında 60 mg/kg Ketalar (ketamin HCl) ve 5 mg/kg Rompun (xylazin HCl) anestezisi ile sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen yavruların vertebral kolonları blok halinde çıkarılarak histopatolojik inceleme yapmak için % 10'luk tamponlanmış formaldehit solüsyonunda bırakıldı.

Histopatolojik inceleme için ayrılan vertebral kolonlar Kahramanmaraş Sütçüimam Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalında değerlendirilmeye alındı. Vertebral kolonlar dekalsifikasyon için 2 gün kemik asit işlemine alındı. Çeşme suyunda yıkandıktan sonra tekrar % 10'luk tamponlanmış formaldehit solüsyonunda 3 saat tutuldu. Her bir doku ayrı ayrı kasetlendi ve otomatik doku takibine alındı, daha sonra dokular parafine gömüldü. Parafin bloklardan 4 mikronluk kesitler alındı, 60 derecelik etüvde deparafinize edildi, boyama işlemine alınarak hematoksilin eosin (H+E) ile boyandı. Işık mikroskopunda intervertebral mesafe konnektif dokuları ve nukleus pulposustaki değişiklikler incelendi.



Resim 1: Deneklerin bulunduğu Kahramanmaraş Sütçüimam Üniversitesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında bulunan kafesler



Resim 2: Deneyde kullanılan Wistar Albino cinsi erişkin dişi sıçan



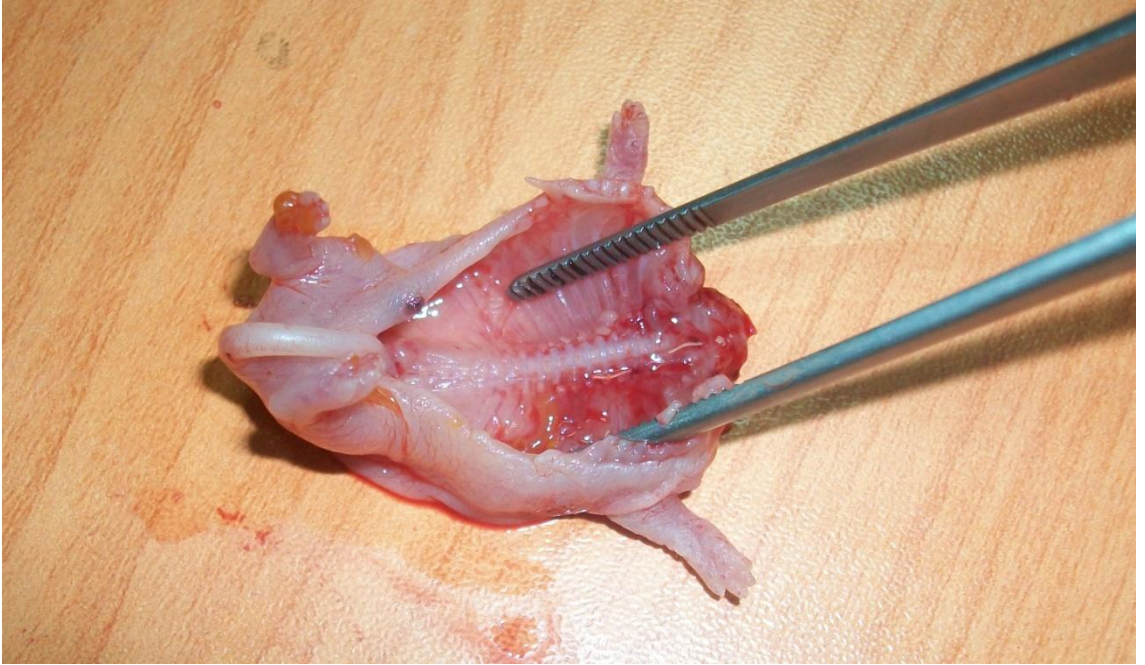
Resim 3: Nikotinin intraperitoneal olarak uygulanması



Resim 4: Doğan yavrular



Resim 5: Doğan yavrulardan birisinin Ketamin ile sakrifiye edilmesi



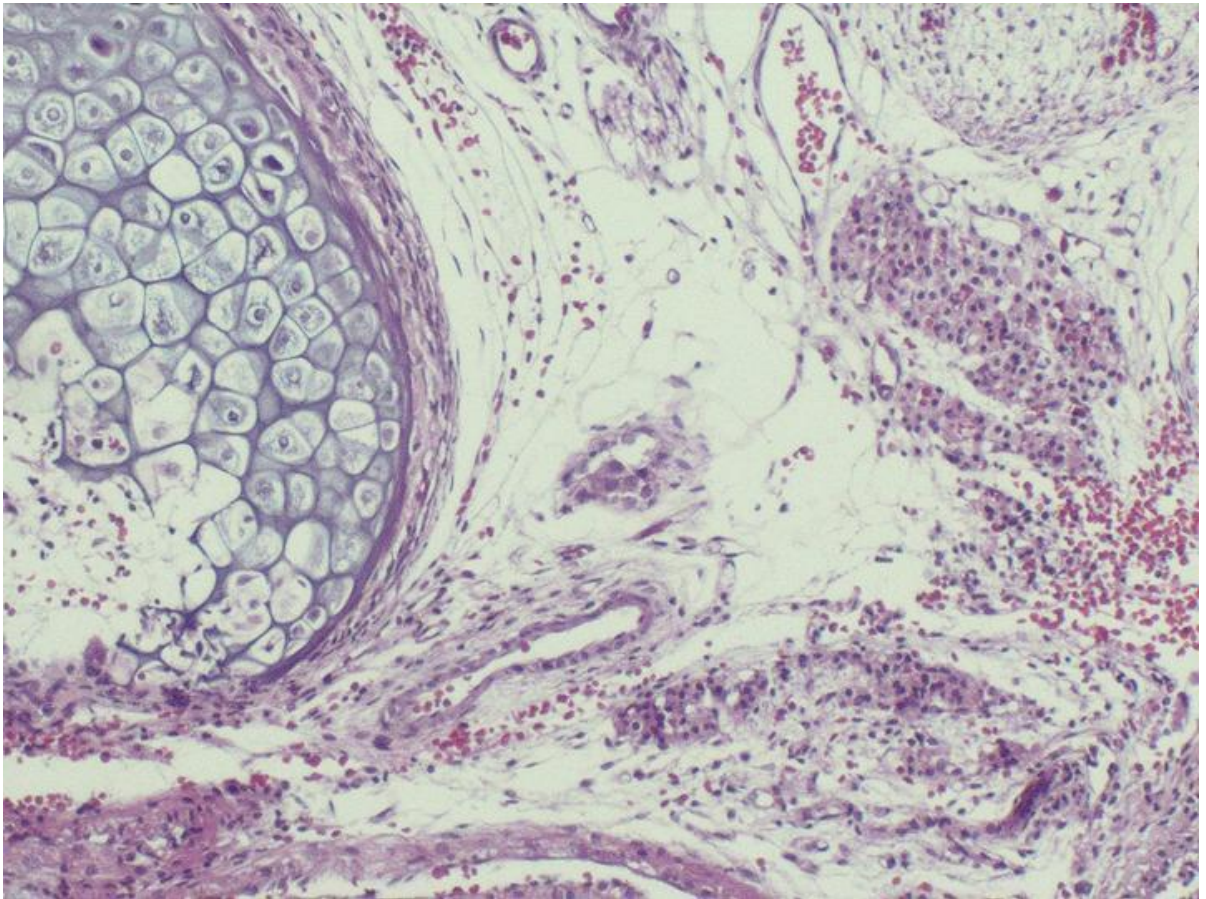
Resim 6: Diseksiyon sırasında iç organların çıkarılması sonrası vertebral kolon görülüyor



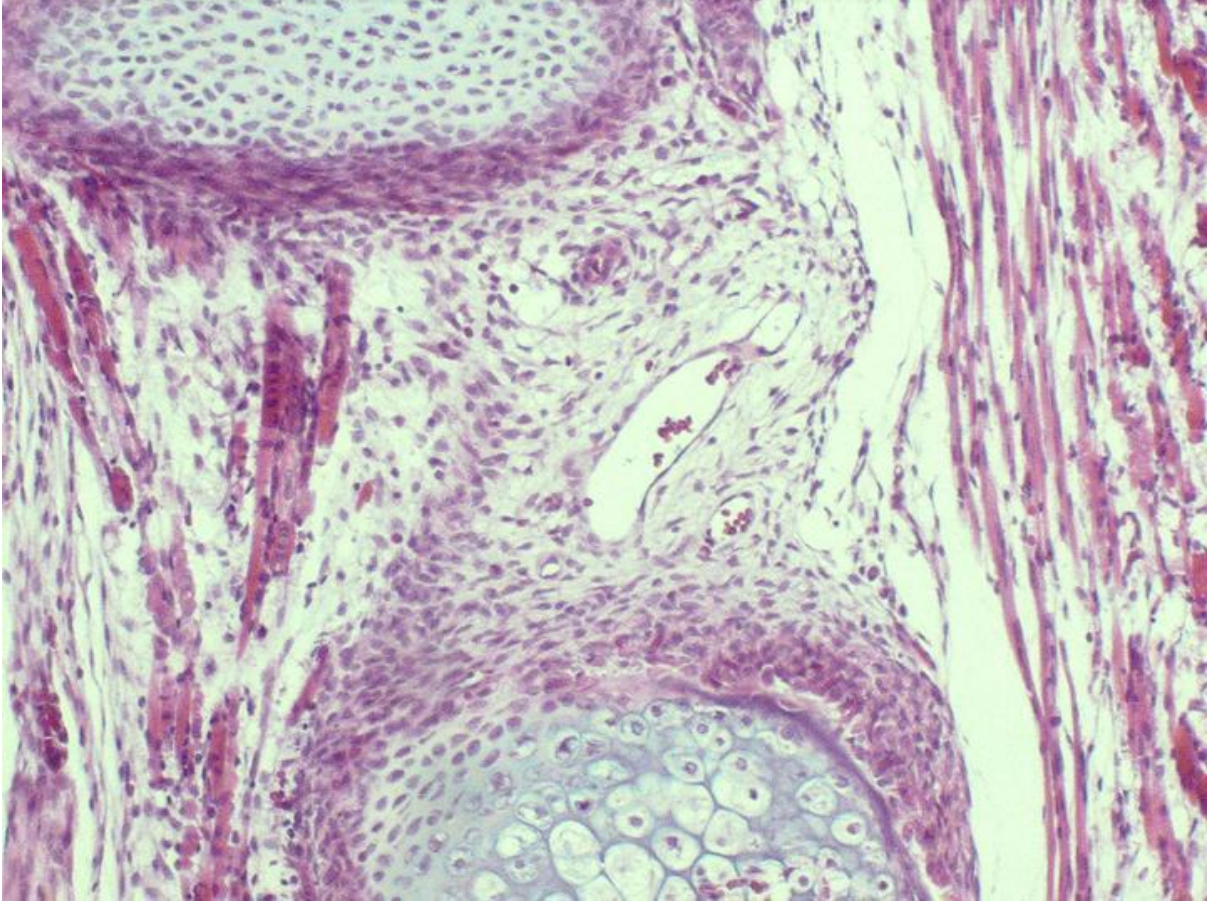
Resim 7: Vertebral kolon bir bütün halinde çıkarılmış

4. BULGULAR

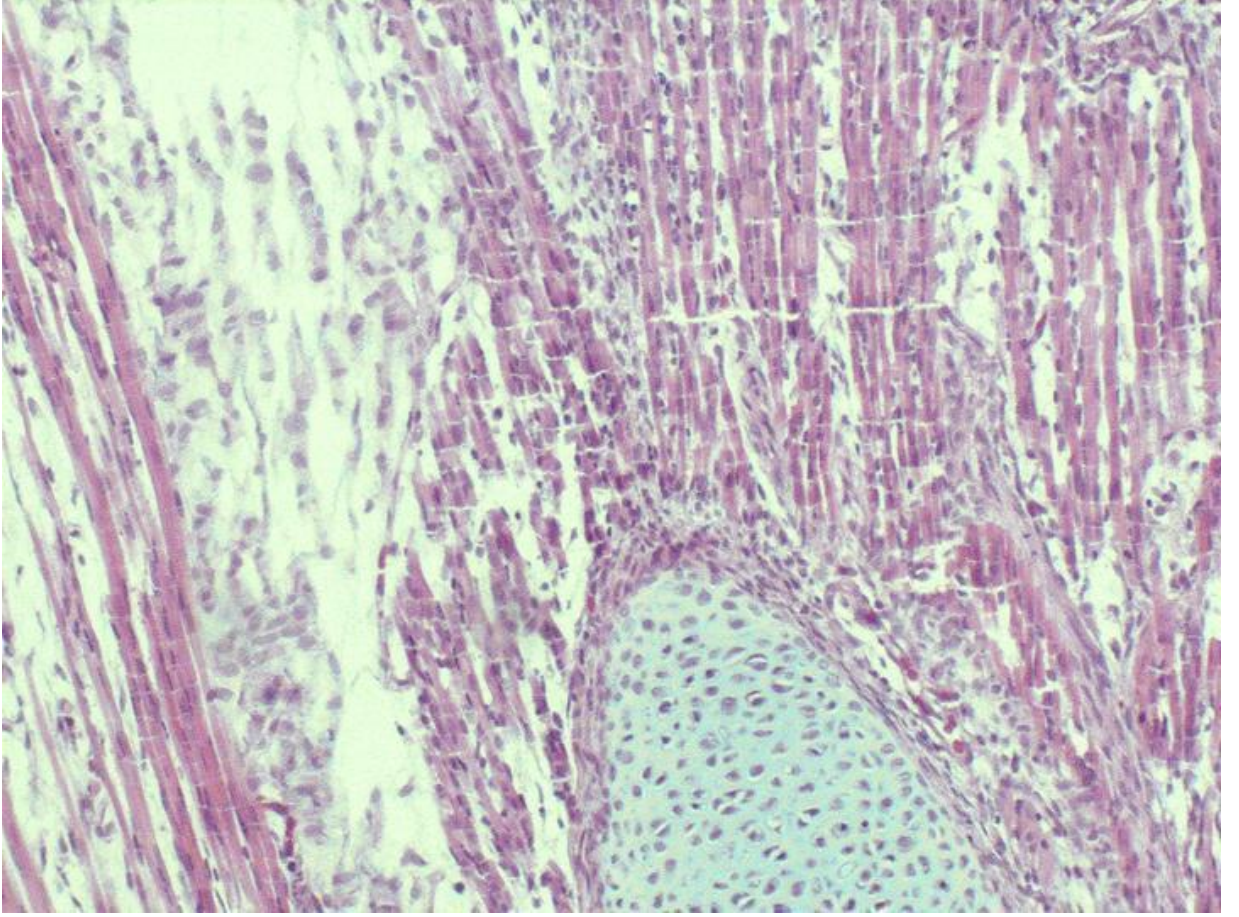
Usulüne uygun hazırlanan kesitlerin intervertebral aralık konnektif dokuları ve intervertebral disk nukleus pulposusu ışık mikroskopunda incelendi. Tüm gruplar kendi kontrol grupları ile karşılaştırıldı. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında bütün gruplarda herhangi bir histopatolojik değişiklik izlenmedi. annulus fibrosus tüm guruplarda düzenli olarak görüldü. Annulus fibrosus ve nukleus pulposus arasındaki duvar düzenli olarak görüldü. Kondrositler küçük, basık ve katmanlı olarak gözlemlendi. Nukleus pulposusun ekstraselüler matriksinin yapısında herhangi bir bozukluk izlenmedi.



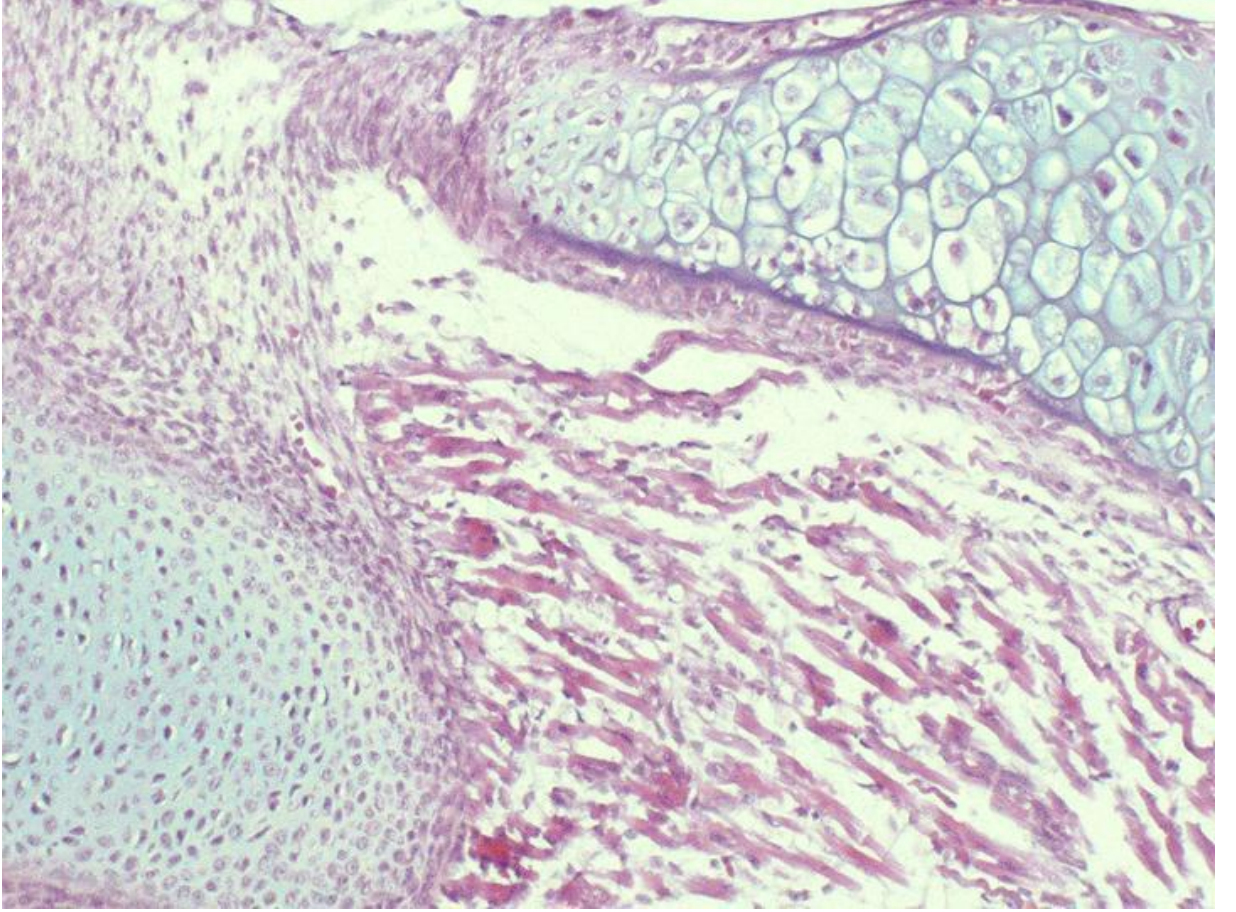
Resim 8: Hamileliğin 14. Gününden itibaren 2 mg/kg/gün 2 dozda nikotin verilen nikotin grubuna ait intervertebral disk mesafesini gösteriyor. Hematoksilen eosin ile boyanmış 100 büyütmede çekilmiş.



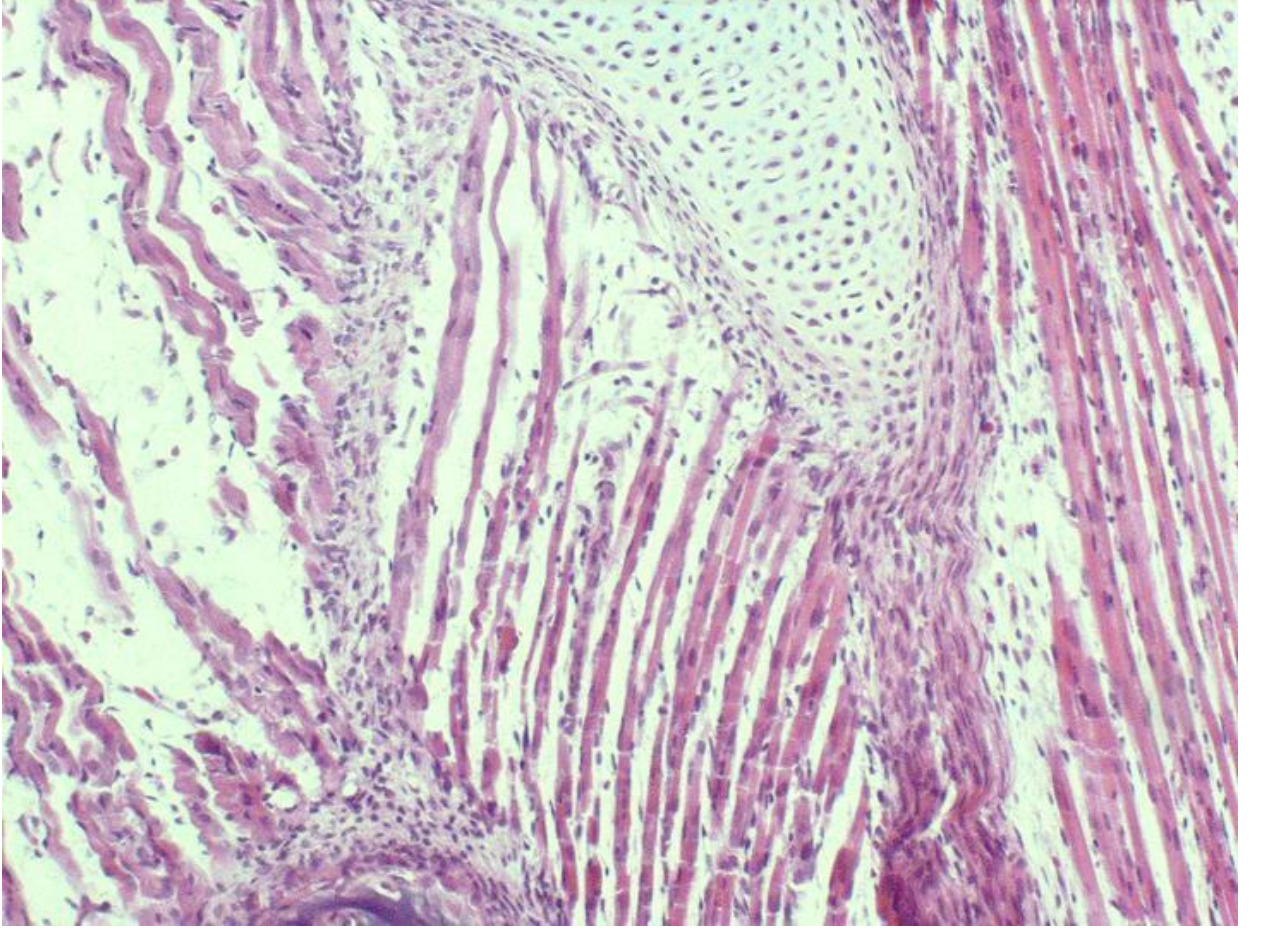
Resim 9: Hamileliğin 14. gününden itibaren nikotin dozuna uygun serum fizyolojik intraperitoneal olarak verilen nikotin kontrol grubuna ait intervertebral disk mesafesini gösteriyor. Hematoksilen eosin ile boyanmış 100 büyütmede çekilmiş.



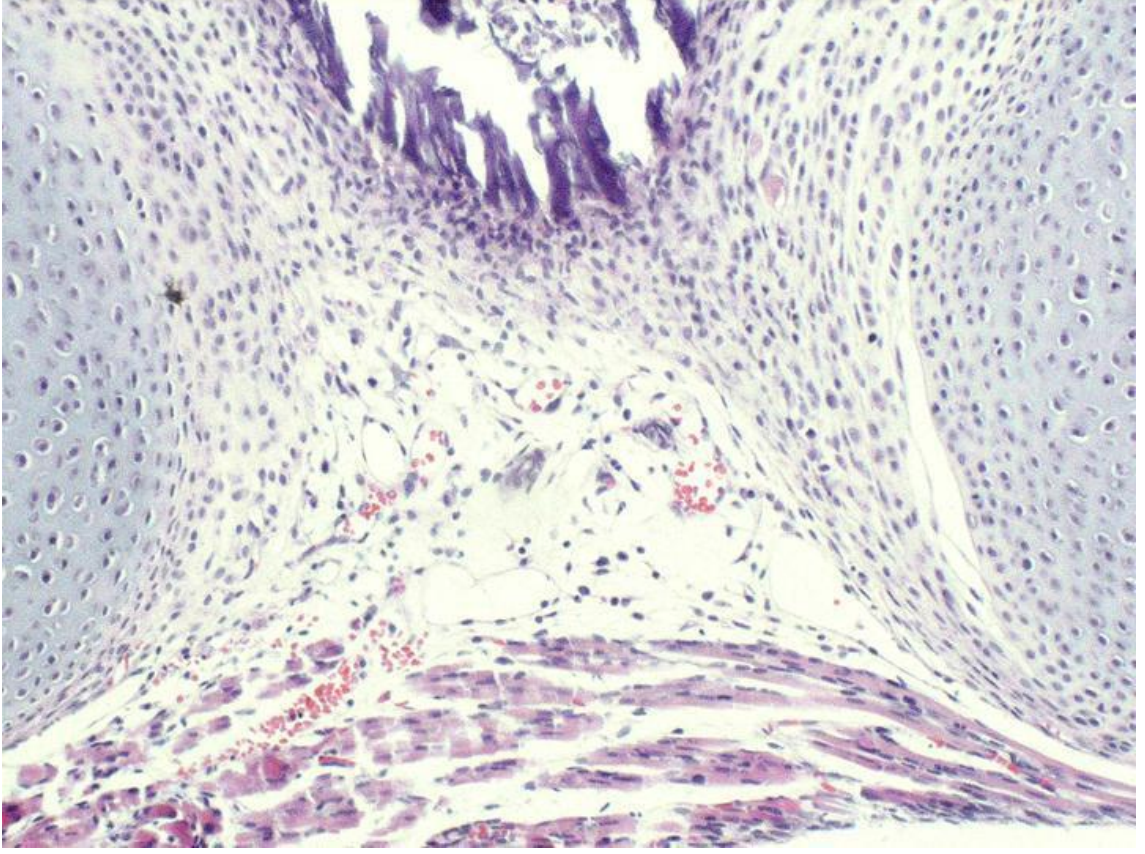
Resim 10: Hamileliğin 14. gününden itibaren 2 mg/kg/gün iki dozda nikotin intraperitoneal olarak, 6 mg/kg/gün etil alkol oral yolla verilen nikotin alkol grubuna ait intervertebral disk mesafesini gösteriyor. Hematoksilen eosin ile boyanmış 100 büyütmede çekilmiş.



Resim 11: Hamileliğin 14. gününden itibaren nikotin dozuna uygun serum fizyolojik intraperitoneal olarak ve etil alkol dozuna uygun serum fizyolojik oral yolla verilen nikotin alkol kontrol grubuna ait intervertebral disk mesafesini gösteriyor. Hematoksilen eosin ile boyanmış 100 büyütmede çekilmiş.



Resim 12: Hamileliğin 14. gününden itibaren 6 mg/kg/gün etil alkol oral yolla verilen alkol grubuna ait intervertebral disk mesafesini gösteriyor. Hematoksilen eosin ile boyanmış 100 büyütmede çekilmiş.



Resim 13: Hamileliğin 14. gününden itibaren etil alkol dozuna uygun serum fizyolojik oral yolla verilen alkol kontrol grubuna ait intervertebral disk mesafesini gösteriyor. Hematoksilen eosin ile boyanmış 100 büyütmede çekilmiş.

5. TARTIŞMA

Dejeneratif disk hastalığı, disk dokusunun morfolojik ve biyokimyasal yapısındaki değişikliklerin klinik olarak ağrı oluşturmaları ile karakterize olan bir hastalıktır. Dejeneratif Disk Hastalığı'nın sadece yaşlı bireylerde değil aynı zamanda genç erişkin grupta da ortaya çıkması mümkündür. Bunun en önemli sebebi intervertebral diskin, fiziksel zorlanmalar (sigara, vibrasyon) ve genetik şartlardan kötü yönde etkilenmesi gösterilebilir (12,2,65,44) . İnsanların %90'nı erişkin yaşamlarında en az bir kez bel ağrısı çekmektedir ve bel ağrısının en önemli kaynağı Dejeneratif Disk Hastalığı'dır. Bel ağrısı poliklinik muayene sıklığında üst solunum yolu problemlerinin ardından ikinci sırada bulunmaktadır. Disk dejenerasyonu birçok vakada asemptomatik olmakla birlikte, semptomatik hale gelerek siyatalji ve disk herniasyonu ile ilişkili olabilmektedir. Ciddi iş kaybı ve sağlık giderine yol açan dejeneratif disk hastalığının önlenmesi ve tedavi stratejilerinin belirlenmesi giderek önem kazanmaktadır (2,3,65) .

Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar sigara içimi ve bel ağrısı arasında birliktelik olduğunu göstermiştir. Sigara içiminin bel ağrısı ile ilişkisini gösteren patofizyolojik mekanizmalar ve patolojik özellikler henüz tam aydınlatılmamıştır. Genç erişkinlerde sigara içiminin insidansı özellikle gelişmekte olan ülkelerde artmaktadır (3,4) .

Sigara içiminin intervertebral disk üzerine akut etkisi üzerine yapılan bir çalışmada Holm ve Nachemson sigara dumanına maruz kalan domuzların vasküler yataklarında akut kontraksiyon görüldüğünü ve bunun da intervertebral disk dejenerasyonuna sebep olduğunu bulmuştur. Bu çalışmada dejenerasyonun nedeninin bölgesel vasküler konstrüksiyondan kaynaklandığı ileri sürülmüştür (4,5,10) .

İshihara ve ark çalışmasında sigara içiminin intervertebral disk çevresindeki kan akımının volümünü azalttığı ve bununda disk içerisindeki oksijen azalmasına yol açtığını yayınlamıştır (4,5) .

Uemetsu ve ark tavşan intervertebral diskleri üzerine nikotinin histolojik ve fonksiyonel etkisini araştırmışlar. Tavşanlara subkutan mini pompalar yerleştirmişler ve tavşanların dört ve sekiz hafta nikotine maruz kalmasını sağlamışlar. Nikotinin

tavşanlarda intervertebral diskin nukleus pulposusunda nekroza ve fibrosise sebep olduğunu yayınlamışlardır. 4 ve 8 hafta tedavi edilen tavşanlarda proteoglikan ve kollajenin azaldığını bulmuştur. Sonuçta bunun sebebininse nikotinin direkt ya da indirekt etkisi ile intervertebral disk çevresindeki damarların vazokonstruksiyonu olduğunu göstermişlerdir (4,5) .

Iwahashi ve ark yaptıkları çalışmalarında tavşanlarda, intervertebral disklere nikotinin etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmalarında deri altına bir nikotin solüsyonu ile dolu bir pompa yerleştirilerek sekiz hafta nikotine maruz bırakmışlardır. Nikotin tedavisi sonrasında tüm tavşanların nukleus pulposusunda nekroz ve hyalinizasyon tespit edilmiştir. Annulus fibrosuslarının, laminalarında üst üste gelme, yırtık ve parçalanma şeklinde bozulduğu gösterilmiştir. Nikotin tedavisi vasküler duvarlarda hipertrofi, endotelial hücrelerde nekrotik değişiklikler ve vasküler lümende daralma ile sonuçlanmıştır. Buna göre vasküler yatakların dansitesinde azalma ve vasküler lümende daralma, oksijen azalmasına, bunun da proteoglikan ve kollagen azalmasına yol açtığı ve böylece disk dejenerasyonunun kolaylaştığı belirtilmiştir (10) .

Hiroshi Oda ve ark yaptıkları çalışmada sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarda ilk iki hafta içerisinde histopatolojik değişiklik saptamamıştır. Çalışmada sekiz hafta sigara dumanına maruz kalan sıçanlarda düzensiz annulus fibrosus tabakaları içerisindeki kondrositlerin normal kondrositlere göre daha geniş ve yuvarlak olduğu tespit edilmiştir. Sekiz hafta sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarda interlökin 1 β seviyelerinin normale göre yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Sigara dumanı inhalasyonunun enflamatuvar sitokinlerin lokal üretimini ve salınımını artırdığı ve kondrosit aktivitesinde bozulmayla sonuçlandığı belirtilmiştir (4) .

Akmal ve ark. intervertebral disk nukleus pulposus in vitro hücre kültürlerine nikotinin etkisi üzerine bir deneysel çalışma yapmıştır. Burada nikotine doz ve zaman bağımlı bir yanıt vardı. Düşük nikotin konsantrasyonu bulunan kültürlerde DNA glikozaminoglikan ve kollagen içeriğinde erken artma gösterildi. Yüksek konsantrasyondaki kültürlerde geç azalma gösterilmiştir. Nikotinin 25 nmol/l dozunda yedinci günde kontrollere göre kıyaslandığında bu parametrelerde önemli derecede artma görülmüştür. Yüksek dozlarda bu parametrelerde, kontroller ile kıyaslandığında önemli doz bağımlı azalma gösterilmiştir. Histolojide buna zıt morfolojik değişiklikler görülmüştür. Bunlar hücre proliferasyonunda azalma, hücre ve ekstraselüler matriks

yapısında parçalanma olarak belirtilmiştir. Buna göre bu çalışmada nikotinin hücre proliferasyonu ve ekstraselüler matriks sentezi üzerine önemli inhibisyonu olduğu tespit edilmiştir. Sigara dumanı içerisindeki nikotinin disk dejenerasyonu patogenezinde rolü olabileceği belirtilmiştir (8) .

Nemoto ve ark tarafından yapılan çalışmada, sıçanlar intervertebral disk dejenerasyonunu indüklemek için sekiz haftalık pasif sigara dumanına maruz bırakılmıştır. Sekiz hafta sonunda intervertebral disklerde çatlak, yırtık ve annulus fibrosusta düzensizlik görülmüştür. Ek olarak intervertebral disklerdeki interlökin 1 β seviyelerinin sigara dumanına maruz kalmayanlara göre yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Sigara dumanının kesilmesinden sonra dejenerasyonun progresyonu durmuştur ve nukleus pulposusun matriksi ve annulus fibrosusta fibroz konnektif doku ve proteoglikanda artış gözlenmiştir. Ancak annulus fibrosus düzensizliğinde değişiklik olmamıştır. İnterlökin 1 β seviyeleri kesilmeden sekiz hafta sonra önemli derecede yüksek kalmıştır. Sonuçta sigara içimine bağlı annulus fibrosus dejenerasyonu kısmen irreversibl olduğu tespit edilmiştir. Nukleus pulposus ve annulus fibrosis proteoglikan içeriğinin artmaya meyilli olduğu gösterilmiştir (9) .

Ogawa ve ark. sıçanlarda intervertebral disk dejenerasyonunun moleküler mekanizmasını incelemek üzere bir pasif sigara içimi modeli geliştirmiştir. Dört ve sekiz hafta sigara dumanına maruz bırakılan sıçanların lomber intervertebral disklerinin annulus fibrosis ve nukleus pulposusundan alınan total RNA örnekleri incelenmiş. Sonuçlarda stres-responsive protein, heat shock protein 70, sekiz hafta sigara dumanına maruz kalanlarda upregüle olduğu görülmüştür. Tirozin fosfataz protein geni annulus fibrosusta daha fazla olmak üzere upregüle olduğu görüldü. Bu sonuçlara göre pasif sigara içiminin heat shock protein 70 ve Tirozin fosfataz protein gibi stres-responsive protein genlerini indüklediği görülmüştür (11) .

K.S. Kim ve ark, sıçanlar üzerinde yaptığı deneyde nikotinin proteoglikan sentezini ve kollagen tip 2 gen ekspresyonunu direkt inhibe ederek nukleus pulposus hücrelerine karşıt etki yapabileceği hipotezini test etmiştir. Bu çalışmanın sonucunda nikotinin intervertebral disk dejenerasyonuna BMP-2 (bone morphogenetic protein 2)'yi antagonize ederek nukleus pulposus hücrelerini direkt etki ederek katılmaktadır (56) .

Alkolizmin çeşitli sağlık ve sosyal problemlere neden olduğunu ileri süren araştırmacılar, gebelikte alkol tüketiminin fötal alkol sendromuna neden olduğu

belirtilmektedir. Bundan dolayı, alkol gebeler için teratojen bir madde olarak tanımlanmıştır. Alkolün hem embriyo gelişimine etki ettiği, hem de özellikle ilk trimestir ile ikinci trimestir ortalarına kadar olan dönemde fetüs ve anne için ciddi bir risk taşıdığı literatürde bildirilmektedir (6) .

Birçok çalışma, alkol kullanımı ve lomber disk dejenerasyonu birlikteliğini belirlemiştir. Bir çalışmada bel ağrılı popülasyonda alkol bağımlıları oranı normal popülasyona göre daha fazla olduğu belirtilmiştir. Khatun ve ark alkol kullanımının adolosan ve genç erişkinlerde bel ağrısı üzerine kötü etkisi olduğunu belirtmiştir. Aynı zamanda Kovacs ve ark adolosanlarda böyle bir etki olmadığını savunmuştur (12-14) .

Bununla beraber alkol ile bel ağrısı arasında ilişki olmadığını destekleyen birçok çalışma vardır. Lebouf- Y'de 1987 ve 1995 arasında yayınlanmış dokuz çalışmayı topladı. Hiçbir çalışmada, alkol kullanımı ve bel ağrısı arasında ilişki saptanmadığını yayınladı. Bir retrospektif çalışmada, bireysel ve genetik faktörlerin göreceli rolleri araştırılmıştır. Bu çalışmaya göre alkol bağımlılığının, bel ağrısı risk faktörü olabileceğine ait bir kanıt bulunamamıştır (12,14,15) .

Avasküler intervertebral diskin besin kaynağı diskin üzerindeki ve altındaki vertebral cisim içerisindeki damarlardan son plak boyunca besinlerin difüze olmasıdır. 25 yıl izlemli bir çalışmada ileri aterosklerozun disk dejenerasyonuna yol açtığı ve bel ağrısı ile birlikte olduğu bulunmuştur. Bu duruma göre aortun posterior duvarının kalsifikasyonu lomber vertebranın besleyici damarlarının tıkanmasına neden olur ve bu da disk dejenerasyonu ve uzun süreli bel ağrılarına neden olur. Son dönemlerdeki çalışmalar orta derece alkol kullanımının bu kardiyovasküler riski artırdığını söylemektedir (12,7) .

İL-1 ve TNF- α 'nın matriks dejenerasyonu ile ilişkili olduğuna dair sağlam kanıtlar vardır. TNF- α 'nın matriks metalloproteinaz ve agreganaz-1 'in salınımını artırır ve İL-1' de matriks yıkımına aracılık eder. Son çalışmalar alkol alımının anti-enflamatuar etkisi olduğu düşünülmektedir. Mandrekar enflamatuar sitokinler İL-1 ve TNF- α üreten monositlerde önemli derecede azalma bulmuştur. Ve çalışmalar ılımlı alkol kullanımının potansiyel anti-enflamatuar etkisi bulunduğunu ve bu etkinin ateroprotektif etkiyi açıkladığını bulmuştur. Böylece alkol anti-enflamatuar özelliğinden dolayı intervertebral disk dejenerasyonunun inhibisyonunda önemli rol oynayabilmektedir (7) .

Biz çalışmamızda gebe bırakılan sıçanların gebelik süresince maternal nikotin ve alkole maruz bırakıldı ve yeni doğan sıçanların intervertebral disk konnektif yapıları ve nukleus pulposus üzerine histopatolojik etkilerini incelendi. Çalışmamızda gebe sıçanlara nikotin ve alkol gebeliğin başlamasından sonraki 14. ve 21. günleri yani üçüncü trimestr' de verildi. Gestasyonun üçüncü trimestr' in seçilmesinin sebebi fetal büyümenin %75'inin bu dönemde olmasıdır. Bu zamanda artmış uterin ve plasental kan akımı nedeniyle en yüksek etki sağlanmaktadır. (67) Kullanılan nikotin dozu daha önceki deneysel çalışmalarda kullanılan 0.25 – 4 mg/kg/gün dozu ile benzerdir ve gebelik sırasında verilen nikotin modellerine uygundur. (68) Çalışmamızda kullanılan alkol dozu daha önceki çalışmalarda kullanılan 6-12 g/kg/ gün dozu ile uyumludur (69,64) .

Literatürü incelediğimizde çalışmaların genel olarak erişkin sıçanlarda yapıldığı görülmektedir. Maternal nikotin ve alkol kullanımının yeni doğanların intervertebral disk konnektif yapıları ve nukleus pulposus üzerine histopatolojik etkilerini inceleyen çalışma görülmemektedir. Bizim çalışmamızın bu konuda ilk olduğu görülmektedir.

Dejeneratif disk hastalığının etiyopatogenezinde genetik faktörlerden söz edilirken annenin hamileliği boyunca maruz kalabildiği sigara alkol gibi etkenlerin doğumdan sonra bebeklerin disk dokusunda dejenerasyona yatkınlık oluşturup oluşturmadığı daha önce çalışılmamıştır. Bizim tez çalışmamız bu konunun araştırılmasında bir ön çalışma olarak planlanmıştır.

Çalışmamızda nikotin, nikotin-alkol ve alkol gruplarında kontrol grupları ile karşılaştırıldığında histopatolojik değişiklik izlenmedi. Annulus fibrosus tüm guruplarda düzenli olarak görüldü. Annulus fibrosus ve nukleus pulposus arasındaki duvar düzenli olarak görüldü. Kondrositler küçük, basık ve katmanlı olarak gözlemlendi. Nukleus pulposusun ekstraselüler matriksinin yapısında herhangi bir bozukluk izlenmedi.

Nikotin gruplarında histopatolojik değişiklik görülmemesinin sebebi kısa süreli nikotin maruziyetine kalınmış olmasından olabilir. Daha önceki erişkin sıçanlarda yapılan çalışmalarda nikotine en az dört hafta maruz kalan sıçanların intervertebral disklerinde dejeneratif değişiklikler tespit edildiği görülmektedir (4,5,9) .

Alkol gruplarında histopatolojik değişiklik görölmemesi daha önceki alkol bağımlılığının intervertebral disk dejenerasyonu patogeneğinde rolü olmadığını savunan çalışmaları desteklediği görölmektedir (12-15) .

6.SONUÇ

Sıçanlar üzerinde yaptığımız bu deneysel çalışmada, hamile sıçanlara nikotin ve alkol verilmiş ve bunun yeni doğan yavruların intervertebral disk mesafe konnektif dokuları ve nukleus pulposusa histopatolojik etkileri araştırılmıştır. Çalışmamızda tüm gruplar kontrol grupları ile kıyaslandığında herhangi bir histopatolojik değişiklik saptanamamıştır. Gebeliğin ilk trimestirinden itibaren, daha çok sayıda hayvanın kullanıldığı çalışmalarla nikotin ve alkol verilerek veya ayrı bir grup olarak yavruların emme döneminde de emziren deney hayvanına yukarıda bahsedilen ajanları vermeye devam ederek yavruların intervertebral disklerinin incelenmesi, bu konu hakkında daha kesin sonuçlara varmamızı sağlayabilecektir.

7.KAYNAKLAR

- 1) Urban Jill PG, Roberts S. Degeneration of the intervertebral disc. *Arthritis Research & Therapy* Vol 5 No 3 Urban and Roberts
- 2) Walker MH, Anderson DG. Molecular basis of intervertebral disc degeneration. *The Spine Journal* 4 (2004) 158S–166S
- 3) Mikkonen P, Leino-Arjas P, Remes J, P Zitting P et al. Is Smoking a Risk Factor for Low Back Pain in Adolescents? A Prospective Cohort Study. *SPINE* Volume 33, Number 5, pp 527–532
- 4) Oda H, Matsuzaki H, Tokuhashi Y, Wakabayashi K, Uematsu Y, Iwahashi M. Degeneration of intervertebral discs due to smoking: experimental assessment in a rat-smoking model. *J Orthop Sci* (2004) 9:135–141
- 5) Uematsu Y, Matuzaki H, Iwahashi M. Effects of nicotine on the intervertebral disc: an experimental study in rabbits. *J Orthop Sci* (2001) 6:177–182
- 6) Gerald G, Briggs RK, Freeman SJ, Yaffe A. Reference guide to fetal and neonatal risk drugs in pregnancy and lactation. Baltimore 1998; 5: 401-549.
- 7) Kauppila LI, McAlindon T, Evans S, Wilson PW, Kiel D, Felson DT. Disc degeneration/back pain and calcification of the abdominal aorta. A 25-year follow-up study in Framingham. *Spine* 1997;22(14):1642–7.
- 8) Akmal M, Kesani A, Anand B, Singh A, Wiseman M, GoodshipA. Effect of Nicotine on Spinal Disc Cells:A Cellular Mechanism for Disc Degeneration. *SPINE* Volume 29, Number 5, pp 568–575
- 9) Nemoto Y, Matsuzaki H, Tokuhasi Y, Okawa A, Uematu Y, Nishimura T at al. Histological changes in intervertebral discs after smoking and cessation: experimental study using a rat passive smoking model. *J Orthop Sci* (2006) 11:191–197
- 10) Iwahashi M, Matsuzaki H, Tokuhashi Y, Wakabayashi K et al. Mechanism of Intervertebral Disc Degeneration Caused by Nicotine in Rabbits to Explicate Intervertebral Disc Disorders Caused by Smoking. *SPINE* Volume 27, Number 13, pp 1396–1401

- 11) Ogawa T, Matsuzaki H, Uei H, Nakajima S, Tokuhashi Y, Esumi M. Alteration of gene expression in intervertebral disc degeneration of passive cigarette- smoking rats: separate quantitation in separated nucleus pulposus and annulus fibrosus. *Pathobiology*. 2005;72(3):146-51.
- 12) Zhang N, Yin Y, Chen W, Xu S. Moderate alcohol consumption may decrease risk of intervertebral disc degeneration. *Medical Hypotheses* (2008) 71, 501–504
- 13) Khatun M, Ahlgren C, Hammarström A. The influence of factors identified in adolescence and early adulthood on social class inequities of musculoskeletal disorders at age 30: a prospective population-based cohort study. *International Journal of Epidemiology* 2004;33:1353–1360
- 14) Gorman DM, Potamianos G, Williams KA, Frank AO, Duffy SW, Peters TJ. Relationship between alcohol abuse and low back pain. *Alcohol Alcohol*. 1987;22(1):61-3.
- 15) Leboeuf-Yde C. Alcohol and low-back pain: a systematic literature review. *J Manipulative Physiol Ther*. 2000 Jun;23(5):343-6.
- 16) Castro I, Dos Santos DP. The history of spinal surgery for disc disease. *Arq Neuropsiquiatr* 2005;63(3-A):701-706
- 17) Stafford MA, Peng P, Hill DA. Sciatica: a review of history, epidemiology, pathogenesis, and the role of epidural steroid injection in management. *Br J Anaesth* 2007; 99: 461–73
- 18) Wiltse LL. The history of spinal disorders in: Frymoyer JW (ed): *The adult spine. Principles and practice*. Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997, Pp 3-40
- 19) Abdullah A, Ditto EW: Extremite-Lateral lumbar disc herniations. *J Neurosurg* , 1974 41: 229-234
- 20) Sonntag VKH. History of spinal disorders. In: Menezes AH and Sonntag VKH(ed.s): *Principles of spinal surgery*. McGraw-Hill, Newyork, 1996,Pp 3-23
- 21) Shankar H, Scarlett JA, Abram SE. Anatomy and pathophysiology of intervertebral disc disease. *Techniques in Regional Anesthesia and Pain Management* (2009) 13, 67-75

- 22) Martin MD, Boxell CM, Malone DG. Pathophysiology of lumbar disc degeneration: a review of the literature. *Neurosurg Focus* 13 (2):Article 1, 2002
- 23) Twomey LT, Taylor JR: Age changes in lumbar vertebrae and intervertebral discs. *Clin Orthop* 1987, (224):97-104
- 24) Roberts S, Menage J, Urban JP: Biochemical and structural properties of the cartilage end-plate and its relation to the intervertebral disc. *Spine* 1989, 14:166-174
- 25) Zileli M, Özer F. Omurilik ve omurga cerrahisi. 2002 cilt 1 s537
- 26) Yu J, Winlove CP, Roberts S, Urban JP. Elastic fibre organization in the intervertebral discs of the bovine tail. *J Anat* 2002;201:465-75
- 27) Marchand F, Ahmed AM. Investigation of the laminate structure of lumbar disc anulus fibrosus. *Spine* 1990;15:402-10
- 28) Dillin W, Booth R, Cuckler J: Cervical radikulopathy, a reievew. *Spine* , 1986 11:988
- 29) Errington RJ, Puustjarvi K, White IR, Roberts S, Urban JP: Characterisation of cytoplasm-filled processes in cells of the ntervertebral disc. *J Anat* 1998, 192:369-378
- 30) Bruehlmann SB, Rattner JB, Matyas JR, Duncan NA: Regional variations in the cellular matrix of the annulus fibrosus of the intervertebral disc. *J Anat* 2002,201:159-171
- 31) Zileli M, Özer F. Omurilik ve omurga cerrahisi. 2002 cilt 1 s538
- 32) Panagiotacopulos ND, Pope MH, Block R ve ark. Water content in human intervertebral discs. Part II. Viscoelastic behaviour. *Spine*, 1987 12: 918
- 33) Panjabi MM, Pelker RR; White AA: Biomechanics of the spine. *Neurosurg, Mc Graw Hill* 1985
- 34) Colombini A, Lombardi G, Corsi MM, Banfi G. Pathophysiology of the human intervertebral disc. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 40 (2008) 837–842
- 35) Bayyliss MT, Jhonestone B, O'Brein JP: Proteoglycan synthesis in the intervertebral disc: Variation with age, region and pathology. *Spine* , 1998 13:972-981

- 36) Nerlich A.G., Schleicher E.D., Boos N.:1997 Volva Award Winner in basic Science Studies, Immunohistologic markers for age-related changes of human lumbar intervertebral discs. *Spine*, 1997 22(24), 2781-2795
- 37) Zileli M, Özer F. Omurilik ve omurga cerrahisi. 2002 cilt 1 s539
- 38) Bogduk N: The anatomy of the lumbar intervertebral disc syndrome *Med J Aust*,1976 1: 878–881
- 39) Morinaga T, Takahashi K, Yamagata M, et al: Sensory innervation to the anterior portion of lumbar intervertebral disc. *Spine* , 1996 21:1848–1851
- 40) Kojima Y, Maeda T, Arai R, et al: Nerve supply to the posterior longitudinal ligament and the intervertebral disc of the rat vertebral column as studied by acetylcholinesterase histochemistry. I. Distribution in the lumbar region. *J Anat* , 1990 169:237–246
- 41) Urban JPG, Smith S, Jeremy CT. Nutrition of the Intervertebral Disc. *Spine* Volume 29, Number 23, pp 2700–2709
- 42) Zileli M, Özer F. Omurilik ve omurga cerrahisi. 2002 cilt 1 s540
- 43) Zileli M, Özer F. Omurilik ve omurga cerrahisi. 2002 cilt 1 s541
- 44) Bozkuş H. Baş, Boyun, Bel Ağrıları Sempozyum Dizisi. No: 30 Mart 2002;s. 191-214
- 45) Virgin W. Experimental investigations into physical properties of intervertebral disc. *J Bone Joint Surg [Br]* , 1951 33: 607
- 46) Brown T, Hansen RJ, Yorra AJ Some mechanical tests on the lumbosacral spine with particular reference to the intervertebral discs; a preliminary report. *J Bone Joint Surg Am*. 1957 Oct;39-A(5):1135-64
- 47) Galante JO. Tensile properties of the human, Lumbar anulus fibrosus. *Acta Orthop. Scand.*, suppl. 1967 100:1, 91-98
- 48) Ferguson SJ, Steffen T. Biomechanics of the aging spine. *Eur Spine J*. 2003;12(suppl 2):S97-S103
- 49) Nachemson A. The load on lumbar discs in different positions of the body. *Clin Orthop*, 1966 45: 107
- 50) Panjabi MM, Krag MH, Chung CL: Effects of disc injury on the mechanical behavior of the human spine. *Spine*, 1984 9:707-713

- 51) Goel VK, Nishiyama K, Weinstein JN, et al. Mechanical properties of lumbar spinal motion segments as affected by partial disc removal. *Spine*, 1986. 11 (10):1008
- 52) Panjabi MM, Brown M, Lindahl S, et al. Intrinsic disc pressure as a measure of integrity of the lumbar spine. *Spine*, 1988 13 (8): 913
- 53) Gries NC, Berlemann U, Moore RJ, Vernon-Roberts B. Early histologic changes in lower lumbar discs and facet joints and their correlation. *Eur Spine J*. 2000 Feb;9(1):23-9.
- 54) Boos N, Weissbach S, Rohrbach H, Weiler C , Spratt KF, Nerlich AG. Classification of age-related changes in lumbar intervertebral discs: 2002 Volvo Award in basic science. *Spine* 2002, 27:2631-2644
- 55) Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, yedinci baskı 1997, üçüncü cilt 2293-2297
- 56) Kim KS, Yoon ST, Park JS, Li J, Park MS, Hutton WC Inhibition of proteoglycan and type II collagen synthesis of disc nucleus cells by nicotine. *J Neurosurg*. 2003 Oct;99(3 Suppl):291-7.
- 57) Atkins R C, Carey F A. *Organic Chemistry: A Brief Course* 1997; 2: 68-71,257-67
- 58) Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 2000; 2: 921.
- 59) Katzung BG. *Basic Clinical Pharmacology*, 2001; 8: 382-94.
- 60) Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 2000; 2:921-2
- 61) Dangata Y Y, Kaufman M H. Morphometric analysis of the postnatal mouse optic nerve following prenatal exposure to alcohol. *J. Anat.* (1997) 191, pp. 49±56
- 62) Stromland K, Pinazo-Duran MD. Optic nerve hypoplasia: comparative effects in children and rats exposed to alcohol during pregnancy. *Teratology* 1994; 50:100-111
- 63) Yıldırım BD, İşcan C. Alkol bağımlılığı. *Türkiye Klinikleri Psikiyatri Dergisi* 1996; 4: 6-10
- 64) Xie N, Yang Q, Chappell TD, Li CX, Waters RS. Prenatal alcohol exposure reduces the size of the forelimb representation in motor cortex in rat: an intracortical microstimulation (ICMS) mapping study. *Alcohol*. 2010 Jan 16.

- 65) Kuslich SD, Danielson G, Dowdle J D, Sherman J. Four-Year Follow-up Results of Lumbar Spine Arthrodesis Using the Bagby and Kuslich Lumbar Fusion Cage. *SPINE* Volume 25, Number 20, pp 2656–2662
- 66) Gerald G, Briggs RK, Freeman SJ, Yaffe A. Reference guide to fetal and neonatal risk drugs in pregnancy and lactation. Baltimore 1998; 5: 401-549.
- 67) Indermaur MD, Martino MA, Fiorica JV, Roberts WS, Hoffman MS. Upper vaginectomy for the treatment of vaginal intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 2005 Aug;193(2):577-80; discussion 580-1.
- 68) Özkan KU, Özokutan BH, İnanç F, Boran Ç. Does maternal nicotine exposure during gestation increase the injury severity of small intestine in the newborn rats subjected to experimental necrotizing enterocolitis. *Journal of Pediatric Surgery* (2005) 40, 484– 488
- 69) Bosch EP, Pelham RW, Rasool CG, Chatterjee A, Lash RW, Brown L, Munsat TL, Bradley WG. Animal models of alcoholic neuropathy: morphologic, electrophysiologic, and biochemical findings. *Muscle Nerve.* 1979 Mar-Apr;2(2):133-44.
- 70) Konuk, T. Pratik Fizyoloji, Ankara Üniversitesi Vet. Fak. Yayın: 314, Ders Kitabı: 215, Ankara Üniv. Basımevi, Ankara, 1975, 76 - 80
- 71) Öznur Poyraz. Laboratuvar Hayvanları Yetiştiriciliği, Ankara, 1995
- 72) Oba G., Aslan S, Kaymaz M. Gebelik ve siklus dönemlerinin belirlenmesi amacıyla ratlarda vaginal sitolojinin kullanılması *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 48, 51-57. 2001
- 73) Rışvanlı A., Aydın M. Ratlarda levamizol'ün gebe kalma oranı, yavru sayısı, cinsiyeti, yaşama oranı ve laktasyon süresine etkisi. *F.Ü.Sağlık Bil. Dergisi* 2003, 17 (1), 45-47

