

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

**RADYOFREKANS UYGULANARAK YAPILMIŞ
DENEYSEL İNTERVERTEBRAL DİSK
DEJENERASYONU MODELİ**

DR. CEM HAKAN YURTSEVER

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2007

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

**RADYOFREKANS UYGULANARAK YAPILMIŞ
DENEYSEL İNTERVERTEBRAL DİSK
DEJENERASYONU MODELİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. CEM HAKAN YURTSEVER

İÇİNDEKİLER

ÖZET	1
İNGİLİZCE ÖZET	2
GİRİŞ VE AMAÇ	3
GENEL BİLGİLER	5
Dejeneratif Disk Hastalığının Tarihçesi	5
İntervertebral Diskin Anatomisi	6
İntervertebral Diskin Biyokimyası	9
İntervertebral Diskin Biyomekaniği	12
İntervertebral Diskin Diğer Komponentleri	14
Disk Dejenerasyonunun Etyolojisi	15
Dejenerasyonla Disk Biyokimyasındaki Değişiklikler	20
Dejeneratif Değişikliklerin Disk Dokusundaki Histopatolojik Etkileri 21	
Radyofrekans uygulama	23
GEREÇ ve YÖNTEMLER	26
BULGULAR	38
Nörolojik İzlem	38
Histopatolojik Değerlendirme	39
Biyokimyasal Değerlendirme	44
İstatistiksel Değerlendirme	46
TARTIŞMA	48
SONUÇ	52
KAYNAKLAR	53

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Tablo 1:	Kollajen Tipleri	11
Tablo2:	Dejenerasyon süreci içerisinde disklerdeki değişiklikler ve sonuçları.....	17
Tablo 3:	Modifiye Tarlov nörolojik bakı skalası	38
Tablo 4:	Kontrol grubundan elde edilen normal disk dokusunun biyokimyasal özellikleri.....	44
Tablo 5:	Grup 1 (İğne ile dejenerasyon) biyokimyasal sonuçları.....	44
Tablo 6:	Grup 2 (seviye 2 de RF uygulama) biyokimyasal sonuçları.....	45
Tablo 7:	Grup 3 (seviye 3’de RF uygulama) biyokimyasal sonuçları.....	45
Tablo 8:	Tüm gruplar için tanımlayıcı istatistiksel sonuçlar.....	46
Şekil 1:	Yaşa bağlı intervertebral diskte oluşan değişikliklerin olası şeması.....	19
Şekil 2:	Spinal iğnenin lateral ve ön arka görüntülerde mesafeye girişi.....	25
Şekil 3:	NPL Probuunun lateral ve ön arka görüntülerde mesafeye girişi.....	25

RESİM LİSTESİ

Resim 1: İntervertebral disk ve Spinal Segmentin şematik görüntüsü	7
Resim 2: Tavşanın lomber bölgesinin traş edilmesi.....	30
Resim 3: Povidin iodin ile boyandıktan sonra örtülmesi.....	30
Resim 4: Posterolateral vertikal 8cm lik insizyon.....	31
Resim 5: Mastoid ekartör yerleştirilmesi.....	31
Resim 6: Tavşan anatomisi,daire içinde yakın plan İVD yerleşimi gösterilmiştir.....	32
Resim 7: Disk mesafesinin ortaya konması.....	33
Resim 8: Disk mesafesinin ortaya konması (yakın plan).....	33
Resim 9: Servikal RF için kullanılan kılavuz iğne ve yakma ucu (prob)	34
Resim 10: NPL için kullanılan RF cihazı.....	34
Resim 11: NPL için kullanılan RF cihazının ayak ile kontrol paneli.....	34
Resim 12: NPL probunun kılavuz iğne içindeki pozisyonu.....	35
Resim 13: NPL kılavuz iğnesinin disk içine yerleştirilmesi.....	35
Resim 14: NPL probunun kılavuz iğne içinden disk mesafesine ilerletilmesi.....	36
Resim 15: Sakrifiyesdilen tavşanın vertebral kolunu blok şeklinde çıkartılmış.....	36
Resim 16: Künt diseksiyon ile vertebral kolandan ayrılmış İVD.....	37
Resim 17: Nukleus pulpozus (kontrol grubu).....	40
Resim 18: Anulus fibrozus (kontrol grubu).....	40
Resim 19: Anulus fibrosus (deney grubu 15. gün).....	41
Resim 20: Nukleus pulposus (deney grubu 15. gün).....	41
Resim 21: Disk dejenerasyonu (deney grubu 30. gün).....	42
Resim 22: İleri disk dejenerasyonu (deney grubu 30. gün).....	42
Resim 23: Neovaskülarizasyon (deney grubu 30. gün).....	43

KISALTMALAR

As	:	Agregenazlar
ALL	:	Anterior Longitudinal Ligaman
AF	:	Anulus Fibrozus
DDH	:	Dejeneratif Disk Hastalığı
FSU	:	Fonksiyonel spinal Ünite
GAG	:	Glikozaminoglikan
GAG	:	Glikozaminoglikan
İVD	:	İntervertebral disk
İVDD	:	İntervertebral disk dejenerasyonu
KeS	:	Keratan sülfat
KoS	:	Kondroidin sülfat
KSP	:	Kıkırdak Son Plak
MRG	:	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MMPs	:	Metalloproteinaz
mg	:	Miligram
mM	:	Milimol
NP	:	Nükleuspulpozus
NPL	:	Nükleoplasti
PLL	:	Posterior ongitudinal ligaman
PG	:	Proteoglikan
RF	:	Radiofrekans
sGAG	:	Sülfatlanmış glikozaminoglikan

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, çağdaş, bilimsel ve teknik olanaklarla donatılmış bir klinikte çalışma koşullarını sağlayan, maddi ve manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim, başta Anabilim Dalı Başkanım Prof. Dr. M. Nuri ARDA olmak üzere, değerli hocalarım Prof. Dr. Ümit D. ACAR, Prof. Dr. E. Metin GÜNER, Prof. Dr. Tansu MERTOL'a, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli tez hocam sayın Doç. Dr. Kemal YÜCESOY'a, ağabeylerim Doç. Dr. Nurullah YÜCEER, Doç. Dr. Serhat ERBAYRAKTAR, Yrd. Doç. Dr. Ercan ÖZER'e ; birlikte geçirdiğimiz eğitim süresi boyunca gösterdikleri sevgi ve saygı için tüm asistan arkadaşlarıma, tez çalışmamda yardımlarını benden hiç esirgemeyen Histoloji Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Güven ERBİL'e, Biyokimya Anabilim dalından Yrd. Doç. Dr. Pınar AKAN'a, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. A. Necati Gökmen ve Dr. Can Canatan'a, Multidisipliner Laboratuvarı araştırma görevlisi Durdane Kaya, tüm ameliyathane ve servis hemşireleri personelleri ile her konuda desteklerini gördüğüm bölüm sekreterimiz Esra GÜNESEN, servis sekreterimiz Seher BALCI'ya ameliyathanede yeri hepimiz için ayrı olan sevgili abimiz Hüseyin VARLI'ya, yoğun iş hayatımda beni anlayışla karşılayıp her zaman desteğini ve sevgisini hissettiren sevgili eşim Binnur YURTSEVER'e teşekkür ederim.

Dr. Cem Hakan YURTSEVER

İzmir – 2007

RADYOFREKANS UYGULANARAK YAPILMIŞ DENEYSEL İNTERVERTEBRAL DİSK DEJENERASYONU MODELİ

Dr. Cem Hakan YURTSEVER, DEÜ Tıp Fakültesi

DEÜ Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroşirurji AD 35330 İnciraltı / İZMİR

ÖZET

AMAÇ: Tavşanlarda radyofrekans (RF) uygulanarak oluşturulan disk dejenerasyonu modeli ile biyokimyasal ve histopatolojik değişikliklerin gösterildiği standart bir hayvan modeli oluşturmak.

YÖNTEM: Bu çalışmada 18 adet tavşan kullanıldı. İki tavşanın kontrol grubu olarak alındı. Kalan tavşanların tümünde L4-5 disk mesafesine 19g iğne ile girilmesi, L3-4 disk mesafesine seviye 3 (42 derece) ve L2-3 disk mesafesine seviye 2 (52 derece) RF uygulaması yapıldı. Altı tavşanın İVD'leri 15. günde histopatolojik incelemeye alındı. Kalan 10 tavşan ise 30. günde sakrifiye edilerek İVD'ler histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelendi. Histopatolojik olarak kollajen (K) yapısı, neovaskülarizasyon ve kondrositler incelenirken, biyokimyasal olarak Nükleus pulpozus (NP) su içeriği, tip II kollajen miktarı ve sülfatlanmış glikozaminoglikan içeriği araştırıldı. Sonuçlar Kruskal – Wallis varyans analizi ve Mann – Whitney – U testi ile karşılaştırıldı.

BULGULAR: 15. günde altı tavşanın histopatolojik incelemesinde: üç işlemde yapıldığı İVD'lerin tümünde belirgin fark olmaksızın anulus fibrozus (AF)'un devamlılığının bozulduğu ve homojenizasyonun kaybolduğu gözlenirken, NP'da kondrositlerin gruplar şeklinde ortaya çıktığı ve düzensiz yerleşimli K demetleri ile karakterize fibröz bantlar izlendi. Üç işlemde 15.günde histopatolojik olarak disk dejenerasyonunu desteklemekteydi. 30.gündeki İVD'lerin histopatolojik incelemelerinde benzer bulgular saptanırken, farklı olarak RF uygulanan disklerde neovaskülarizasyon izlendi. Biyokimyasal olarak İVD'lerin tümünde olmakla birlikte istatistiksel anlamlı olarak grup 3'te nükleus su içeriğinin azaldığı, grup 2'de tip II K miktarının düştüğü saptanırken sGAG oranlarında değişim saptanmadı.

SONUÇ: Biyokimyasal ve histopatolojik bulgular ışığında RF ile standart, güvenilir ve kolay uygulanabilir bir hayvan modeli oluşturulmuştur.

ANAHTAR KELİMELELER: İntervertebral disk dejenerasyonu, radyofrekans, hayvan modeli.

EXPERIMENTAL DISK DEGENERATION MODEL USING RADIOFREQUENCY APPLICATION

PURPOSE: To create a standard animal model in which radiofrequency is applied to rabbits to demonstrate the biochemical and histopathological features of disk degeneration.

METHODS: 18 rabbits were used in this study. The control group consisted of two rabbits and remaining 16 rabbits constituted the study group. The L4-5 level was punctured with a 19g needle and RF energy was applied to L3-4 (level 3), and L2-3 (level 2) levels to the intervertebral disks in the study group. Six rabbits were sacrificed on the 15.day and the intervertebral disks were taken for histopathological examination. The remaining 10 rabbits in the study group were sacrificed on the 30.day and the histopathological and biochemical examinations were performed. Histopathologically collagen structure, neovascularization and chondrocytes were examined, and biochemically water content of the nucleus pulposus, amount of type II collagen and sulfated glycosaminoglycans were measured. The results were compared using Kruskal – Wallis variance analysis and Mann – Whitney – U test.

RESULTS: The histopathological examination of the six rabbits that were sacrificed on the 15.day revealed that the permanence of the annulus fibrosis was interrupted and the homogenous structure was lost. At the same time the chondrocytes were observed to appear in groups and fibrous bands which consisted of irregular collagen fibers developed in the NP. All three procedures applied supported disk degeneration. The histopathological examination of the intervertebral disks of the rabbits that were sacrificed on the 30th day revealed similar results while neovascularization was observed in the RF applied intervertebral disks. Biochemically all three groups demonstrated decrease in water content (statistically significant in group three) and type II collagen (statistically significant in group two) in the NP. There were no changes in the amount of sGAG.

CONCLUSION: In the guidance of biochemical and histopathological findings; a standard, acceptable and easily applicable animal model was created.

KEY WORDS: Intervertebral disk degeneration, radiofrequency, animal model

GİRİŞ ve AMAC

İnsan ömrünün giderek artması ve yaşam kalitesi kavramının gündeme gelmesi günümüzde omurga problemlerine daha fazla dikkat çekilmesine neden olmuştur. Dejeneratif disk hastalığı (DDH): disk dokusunun morfolojik ve biyokimyasal yapısındaki değişikliklerin klinik olarak ağrı oluşturmaları ile karakterize olan bir hastalıktır. DDH'nin ilerleyen yaş ile doğal yaşlanma sürecinin bir sonucu olarak ortaya çıkma olasılığı yüksek olmasına karşın genç erişkin yaş grubunda da ortaya çıkabilir. Bunun sebebi olarak intervertebral disk biyomekaniğine uygun olmayan ergonomik koşullar, fiziksel etkenler (sigara, vibrasyon) ve genetik şartlardan İVD'in kötü yönde etkilenmesi gösterilmiştir (15,95,110,111,136,146).

Batılı endüstrileşmiş ülkelerde bel ağrısı önemli bir halk sağlığı problemidir. Erişkin popülasyonun yaklaşık % 90'ı hayatlarının belli bir döneminde bel ağrısından yakınmaktadırlar. Toplumun önemli bir kesimini etkileyen bu problemin prevalansı yapılan bir çok çalışmada % 12-35 arasında bulunmuştur (103). Bel ağrısı aynı zamanda ekonomik kayıplara neden olmaktadır. İngiltere'de teşhis ve tedavi için yıllık harcanan para 12 milyon paund'u bulmaktadır ki bu da Hollanda'nın yıllık gelirin yaklaşık % 1,7'sini oluşturmaktadır (103, 170). Bel ağrısı Amerika Birleşik Devletleri'nde poliklinik vizitleri sıklığında üst solunum yolu problemlerinin ardından ikinci sırada bulunmaktadır (7). Çoğu hasta istirahat, ağrı kesiciler, kas gevşeticiler gibi konservatif yöntemlerle tedavi edilmekte ve sadece bu yöntemlerle %90 oranında başarı elde edilmektedir (89). Bu tedavilerin başarılı olmadığı durumlarda kronik ağrı, hatta bazı durumlarda kronik sakatlık meydana gelmektedir (89). Bu hastalarda ağrılı atak sonrası takip eden 12. ayda yapılan görüntüleme tekniklerinde intervertebral diskte NP'un siyahlaşması, anterior veya posterior bulging ile kendini gösteren intervertebral disk dejenerasyonu (İVDD) izlenmektedir (79).

Bel ağrısı İVDD ile yakın ilişkilidir (6). Disk dejenerasyonu birçok vakada asemptomatik izlenmesine rağmen (21); siyatit, disk herniasyonu veya prolapsus ile ilişkilidir. İntervertebral diskler özellikle NP kısmındaki yüksek su içeriği nedeni ile yerçekimine karşı olan (eksenel-aksiyal) yüklenmelerde esneyerek yükün omurga kemik yapısına azalarak geçişini sağlar (60,128,174). Gerek anormal yüklenmeler gerekse de İVD'lerin zayıf kanlanma özelliğinden dolayı diğer omurga yapılarına göre daha erken

dejenere olması disk dokusunda dejenerasyon ve buna bağlı klinik semptomların genç yaşlarda izlenmesine yol açar (24,101).

Dejeneratif disk hastalığının etiyoloji ve patofizyolojisi hala tartışmalıdır. Başlatıcı faktörün ne olduğu tam olarak bilinmemekle beraber NP'un biyolojik ve biyomekanik faktörlerce etkilenmesi sonucu ana proteoglikanı (PG) olan agreganda azalma, anüler bütünlüğün kaybı, disk hücresinin nütrisyonunun bozulması, anaerobik metabolizma, laktat artışı ve pH düşmesi, hücre ölümünün hızlanması, dejeneratif enzimlerin aktivite artışı, nükleusda K Tip 1' in artışı, Tip II K'nin azalması, su miktarında azalma (177,6,12,18,59,125,101) gibi histopatolojik ve biyokimyasal değişiklikler sonucu ortaya çıktığına inanılmaktadır. Tüm bunlar NP hücrelerindeki normal anabolik ve katabolik fonksiyonların dengesinin bozulması, sentezin azalması veya yıkımın artması anlamına gelir. Proteoglikan içeriğinin giderek azalması dehidratasyona yol açarak hidrostatik ve biyomekanik özelliklerinde bozulmasına neden olur (177).

Günümüzde disk dejenerasyonu ile ilgili tedavi yöntemleri ağrı kontrolü sağlamak ve yaşam kalitesini arttırmak üzerine odaklanmıştır. Bu amaçla yatak istirahatı analjezik ve antiinflamatuvar tedaviler, fizik tedavi yöntemleri, akupunktur gibi değişik konservatif tedavi yöntemleri, algolojik blokaj uygulamaları ve dekompresyon, stabilizasyon (anterior interbody füzyon, anterior+posterior füzyon), disk protezleri , nükleoplasti gibi cerrahi tedavi yöntemleri uygulanmaktadır (92,94,99,165,183,187).

Fizyolojik sürecin pahalı ve morbidite riski olan yöntemlerle çözümlenmesi, özellikle doğal yapıyı korumaya yönelik girişimlerin öne çıktığı bu yıllarda bilimsel yeni arayışlara gidilmesini gerektirmiştir. Bu konuda son yıllarda dejenerasyonu durdurmaya yönelik hücre nakillerini de içeren biyolojik tedavi yöntemleri giderek daha fazla araştırılmaya başlanmıştır (5). Bu nedenle yoğun olarak laboratuvar bazlı çalışmalar başlatılmış ve deneysel hayvan modelleri üzerinde çalışılmıştır. Bu alışmalar için oluşturulan disk dejenerasyonu modellerinde çok çeşitli araçlar kullanılmasına rağmen (intervertebral disk içine iğne sokulması, bisturi sokulması, kemopapain enjeksiyonu, camptotekin enjeksiyonu vs.) bu çalışmalarla ilgili standart bir model oluşturulamamıştır. İğnenin kalınlığı, iğne veya bistürinin uygulama kuvvetinin elden ele farklı olması, kemopapain ve camptotekin'in verilme miktarları ve uygulama sırasında disk içine yine iğne sokulmuş olması bu yöntemlerin başlıca handikaplarıdır (175,155,123). Tüm bu nedenlerle

standart olan sabit bir enerji ve sabit bir ısının kullanıldığı radyo frekans kullanılarak standart, etkin, kolay uygulanabilir, güvenli bir hayvan modeli oluşturulmaya çalışılmıştır.

GENEL BİLGİLER

Dejeneratif Disk Hastalığının Tarihçesi

Dejeneratif disk hastalığı ve siyatik ağrısının geçmişi çok eskiye dayanmaktadır. Bu konuda ilk ip uçlarını Hipokrat'ta görmek mümkündür. Hipokrat (MÖ 460-377) sakrumdan başlayan ve kalçada lokalize olan, uyluğa yayılan bir ağrıyı ilk tanımlayan hekimdir. Hipokrat siyatikalji için sıcak kompres ve banyo önermiştir (182).

Antik dönemdeki yazılara bakıldığında ise isim vermeden siyatikaljiyi tanımlamasına rağmen, siyatikalji terimini ilk kullananın kim olduğu belirsizdir. Sciatica terimini ilk kullananlardan biri Shakespear' dir (154).

Vesalius 1543' de İVD'nin anatomisini, Sydenham ise 17. yüzyılda Lumbagoyu tanımlamış ve tedavisinde anti-emetikleri önermiştir. 1764'te Contugno yayınladığı İschiaide Nervosa Commentarius adlı yapıtında siyatikaljiyi detaylı olarak tanımlamıştır. 1852'de Valleix siyatik sinir seyri boyunca trigger noktaları tanımlamış ancak Valleixden beş yıl önce bu noktaların benzer şekilde Bretschneider tarafından da tanımlandığı sonradan anlaşılmıştır. 1858 yılında Von Luschka posteriora protrüde olan bir disk olgusunu tanımlamıştır (1, 156, 182).

Lasque 1865'de Consideration sur la Sciatique adlı bir yapıt ortaya koymuştur. Ancak bu çalışmada Laseque testinden söz edilmemiştir. Bu test 1881 de Laseque nin öğrencisi olan Forst tarafından tanımlanmıştır (50). Bu test Forst' un Paris'teki bitirme tezi olarak çalışılmış ve buna Forst tarafından hocasının adı verilmiştir. Yine de gerçekte bu testi ortaya koyanın Prof. Lasque mi yoksa öğrencisi Forst mu olduğu çok açık değildir.

Sachs ve Frankel, 1900 yılında DDH da spinal stenoza bağlı nörojenik kladikasyonu tanımlamıştır (188). DDH'nin tanı ve tedavisinde en önemli kilometre taşlarını 1934 yılında Mixter ve Barr , 1977' de ise Schmorl ve Junghans'ın omurga üzerine yaptıkları anatomik, mikroskopik ve radyolojik çalışmalar oluşturmaktadır (182, 28).

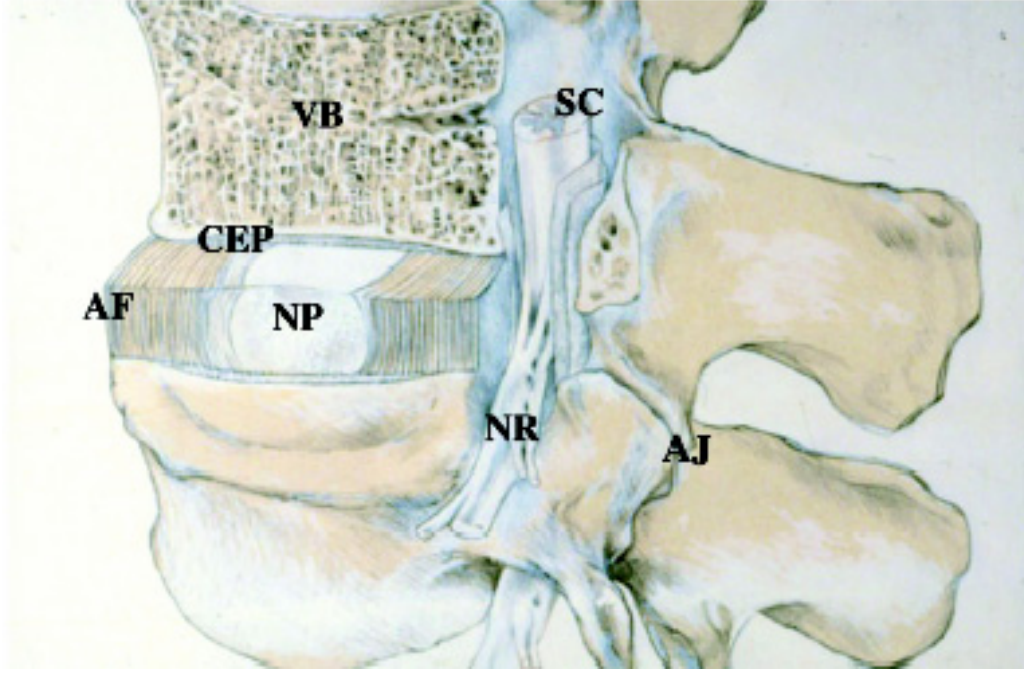
Ülkemizde ise DDH ve siyatikalji ile ilgili bilgiler 15. yüzyılda Şerafettin Sabuncu oğluna kadar dayanmaktadır. Sabuncuoğlu siyatikalji yakınması olanlarda öncelikle tutucu tedaviyi, bunun yetersiz kalması durumunda ise dağlamanın yararlı olabildiğini

bildirmiştir (115). Cumhuriyet Türkiye'sinde ise siyataljiye 1930'dan sonra ilgi artmış' dır (164). Türkiye'de lomber disk cerrahisi ilk Dr. Hami Dilek tarafından yapılmıştır (42). 1950 yılında Dr. Taptas, 1951 de Dr. Recai Ergüder, Dr. Naci Ayrıl ve Dr Rıdvan Ege yaptıkları lomber disk hernisi vakalarını yayınlamışlar (160, 43 44). Üniversitelerde nöroşirürji merkezlerinin kurulması ile lomber disk cerrahisi giderek yaygınlaşmıştır.

İntervertebral Diskin Anatomisi

İntervertebral disk ikinci servikal omurgadan birinci sakral vertebraya kadar uzanan vertebra korpuslarını ardışık olarak birbirine bağlayan amfiartrodiyal (yarı oynar) bir yapıdır. Omurganın temel eklemi olup ana görevi yük taşımak, yük dağılımını sağlamak ve kas hareketine olanak vermektir. Servikal ve lomber bölgede omurga yüksekliğinin yaklaşık ¼'ü, torakal bölgede ise 1/5'i yüksekliğindeki İVD insanda 23 adet bulunur Yaklaşık olarak lomber bölgede 7-8 mm kalınlığında ve 4 cm (anteroposterior) çapındadır (166,142). Temel olarak üç değişik elemandan oluşur. Merkezinde primitif notokord kökenli hücreleri içeren daha yumuşak NP, dışını ise AF adı verilen fibröz kıkırdak sarar. AF, konsantrik katlar halinde bantlardan oluşur. Bu anuler bantların iç kısımlarında yer alanlar üçüncü yapı olan kıkırdak son plak (KSP) ile bağlanır. Dış kısımlarında yer alanlar ise Sharpey lifleri adı altında omurga cismine yapışır (**Resim 1**). Omurga ile bağlantıyı sağlayan kıkırdak son plaktır (14).

Nükleus pulpozus doğumda proteoglikan (PG) içeren bir jelatinöz matrix içerisinde notokordal hücre kümelerinden oluşmaktadır. NP fibrokartilajinöz bir yapı gösterir ve merkezde dağınık yerleşimli K lifler ile radial yerleşimli elastik liflerden oluşur (72,185) . Bu liflerin arasında su tutma özelliği çok yüksek olan agregan vardır. Yapısının %70-90'ını su oluşturur ve ilerleyen yaş ile su içeriği azalır (129). Liflerin araları ise düşük yoğunluk' da (yaklaşık 5000 hücre/mm³) kondrosit benzeri hücreler ile dolmuştur (107). Nükleus dışında anulus bulunmakta olup 10 yaşın altındaki bireylerde iki yapı arasındaki sınır belli değildir (97,20,84). Normalde, NP omurgayı dikey etkileyen kuvvetleri yatay etkileyen kuvvetler haline dönüştürür ve AF'un her tarafına yayar. Bu şekilde, omurganın fleksiyonu NP'un önden basılıp arkaya doğru hareket etmesine, ekstansiyonu ise bunun tersine neden olur (33, 64, 132).



Resim 1: İntervertebral disk ve Spinal Segmentin şematik görüntüsü. Nucleus pulposus (NP), annulus fibrozus (AF) , vertebral cisim (VB), kırıldak son plak (CEP), spinal kord (SC), sinir kökü (NR), apofizyal eklem (AJ).

Anulus Fibrozus diskin en dışında yer almakta ve nukleus pulposusu tamamen çevrelemektedir. Servikal bölgede unsinat prosesler arasındaki bölgede anulus bulunmamaktadır (22). AF 15-25 konsantrik halka fleklinde birbirine paralel yerleşmiş K liflerden oluşur. Bu lifler vertikal aksla 60 derecelik açı yapacak şekilde yerleşmiştir ve bir kat sağa, bir kat sola eğimle durmaktadır (185,104). Bu lameller yapı arasında ise elastin lifler yerleşmiştir. Elastin lifleri fleksiyon ve ekstansiyon sonrası diskin orijinal haline dönmesini sağlamaktadır. Elastin lifler bir lamelden diğerine radial şekilde uzanıp lamelleri birbirine bağlar (185). AF, kırıldak son-plakta iç kısımlara yapışırken dış kısımlarda sıkı bir şekilde omurga cismine yapışmaktadır (Sharpey lifleri). AF önde daha sağlamdır ve güçlü olarak anterior longitudinal ligamana (ALL) yapışır, arkada ise posterior longitudinal ligamente (PLL) gevşek olarak yapışır (39). Dış bölgedekiler başta olmak üzere anulus hücreleri fibroblast benzeri elonge ince ve kollajen liflere paralel

uzanan hücrelerdir ve anulus içine doğru ovalleşir. Diskin içindeki hücreler hem anulus hem nükleusta 30 mikrometreden daha uzun stoplazmik uzantılara sahiptir (45,27). Bu özellikler eklem kıkırdağında yoktur ve bunların İVD'teki asıl rolünün dokudaki mekanik gerilmenin sensörleri olduğu düşünülmektedir (45). İlerleyen yaş ile AF'ta morfolojik değişiklikler oluşmaktadır (140).

Diskdeki 3. morfolojik bölge KSP ise 1 mm' den ince hyalin kıkırdak yapısında ve disk ile omurga cismi arasındadır. Yapısındaki kollajen lifler omurga cismine paralel yerleşmiş olup diske doğru devamlılık gösterir (142). KSP'ın geliştiği büyüme zonu yaşla giderek incelik ve kemik olgunlaşması tamamlandığında ancak bazı kalıntılar kalır. Üçüncü ve dördüncü dekatta ise artık sadece artiküler kıkırdak mevcuttur. Bu tabakada giderek rezorbe olur ve kemik ile yer değiştirir (2,84).

Anterior longitudinal ligaman ve posterior longitudinal ligaman disk aralığını güçlendiren yapılar olarak rol alırlar. ALL anulustan daha güçlü olarak vertebraya yapışır ve ekstansiyon sırasında hareketi sınırlayan bir rol oynar. PLL ise ALL'den daha zayıftır ve fleksiyonu sınırlar (108). Bu zayıflık intvertebral disk posteriora doğru fıtıklaşmasının başlıca sebebidir.

İntervertebral Diskin İnnervasyonu

Spinal sinirin meningeal dalı veya diğer ismiyle Luscka'nın sinovertebral siniri disk aralığındaki yapıları innerve etmektedir. Bu sinir dorsal root ganglionun'dan ayrılmakta olup foramene girdiğinde major assenden ve minör desenden dallara ayrılmaktadır(23). Hayvan çalışmalarında bu sinirin afferent innervasyonun superior ve inferior dorsal root ganglionlarından kaynaklandığı gösterilmiştir (113). Hem hayvan hem de insan çalışmalarında anulus dış kısımlarının sinovertebral sinir tarafından innerve edildiği bunun yanında iç kısımların ve NP'un innerve edilmediği gösterilmiştir (90,91). Daha ileri çalışmalarda ALL'nin dorsal root ganglionundan afferent lifler aldığı gösterilmiştir. PLL sinovertebral sinirin major assenden dalından gelen dallarla zengin bir innervasyona sahip olup bu sinirler aynı zamanda AF'un dış kısımlarını innerve etmektedir (23,90). Dejenere disklerin normal disklere göre daha iyi vaskülarize olduğu ve daha fazla sinir içerdiği gösterilmiştir (32,52,127,76,108).

İntervertebral Diskin Vaskülaritesi

Diskin metabolizması oldukça düşük olup beslenmesinin çoğu diffüzyon yolu ile olmaktadır. Diffüzyon anterior ve posterior longitudinal ligamanlardaki spinal arterlerden oluşur (35). Mekanik transport bir şekilde İVD' in beslenmesine katkıda bulunmakta olup bu durum omurga hareketi ile artış gösterir (68).İntervertebral disk beslenmesinin büyük bölümü KSP'lardaki kapiller ağ sayesinde olmaktadır(36). Yapılan çalışmalarda KSP'larda muskarinik resptörlerin bulunduğu ve bu nedenle nikotinin İVD üzerinde negatif etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (176). Bu kapiller yataklar omurga cismini besleyen interosseöz arterlerin distal dallarından beslenmektedir. Kartilajinöz son plaktaki bozulmalar Schmorl nodüllerinin oluşmasına neden olur (142). Yirmi yaşına yaklaşan bireylerde AF'ta vasküler ve lenfatik doku mevcut olmakla birlikte, NP' da hiçbir zaman bu yapılar gözlenmez. Diskin en distalinde daha iyi olan kanlanma nedeniyle oksijen konsantrasyonunun en yüksek olduğu buna karşılık merkezde ise laktat konsantrasyonunun yüksek olduğu bilinmektedir (16).

İntervertebral Diskin Biyokimyası

Diskin mekanik fonksiyonu ekstraselüler matriks tarafından yerine getirilir ve bu matriksin temel yapısı ile organizasyonu bu mekanik taleplere yanıt verecek şekilde dizayn edilmiştir. Temel mekanik rolü iki major makromoleküler komponent ile sağlanmaktadır: kollajen ve proteoglikan. Disk dokusu içerisinde K, PG (agregan=matriks proteinleri) ve su bulunmaktadır. Bunların oranları anulus, nukleus, son plakta değişiklikler göstermekte ve dejenerasyon ile de değişmektedir. Anulusun dış kısmında K içeriği en fazlayken su ve agregan miktarı en azdır. Halbuki anulusun iç kısmı nukleusa yakın olduğundan su ve agregan miktarı daha fazladır. Nukleusta ise su miktarı, agregan ve K'e göre daha fazladır.Kıkırdak son plakta ise K miktarı daha fazla olup su ve agregan miktarı daha azdır (121). İlerleyen yaş ile diskın nukleus bölümünde su ve agregan miktarında azalma olmaktadır. En az değişiklik ise diskteki K miktarında olmaktadır (25).

Kollajen

Vücudun temel yapısal proteindir. Diskde AF'un kuru ağırlığının %50- 70'ini, NP'nin kuru ağırlığının %20- 30'unu, KSP'nin ise %50-70'ini oluşturur (47,12).

Kollajenlerin çoğunda tekrarlayan Gly-X-Y (Gly= glisin, X= sıklıkla prolin, Y= sıklıkla hidroksprolin) dizilerinden oluşan üçlü heliks biçiminde bir yapıya sahiptir ve uzunluk ve zincir kompozisyonuna göre değişik tipleri vardır (105,12). Her zincir ortalama 1000 aminoasit içerir ve bunlarda üç amino asitte bir glisin vardır. Geriye kalan amino asitlerin 1/3 'ini prolin ve hidroksprolin oluşturur. Hidroksprolin diğer protein yapılarında çok az görülür ve bu nedenle de K'nin biyokimyasal belirleyicisidir. Üçlü sarmalda genelde Y pozisyonunda yerleşerek hidrosil grubunun oluşturduğu hidrojen köprüleri ile sarmalin stabilitesini sağlar. Lizin ve hidrosilizinlerin pozisyonu ise, moleküller arası çapraz bağların oluşması ve zincirlerin stabilizasyonu için önemlidir. K'ler önce prokollajen olarak sentezlenirler sonra enzimatik aktiviteler ile K'e dönerler. Çeşitli dokulardaki K'ler bir birine göre farklıdır ve yüke karşı dirençleri değişir. K fibriller, alfa zincirindeki spesifik lizin ve hidrosilizin aminoasitlerinin arasında oluşan çapraz bağlarla stabilize edilirler. Bu bağlar yaşla, gelişimi etkilenir ve dokuların mekanik gücünü oluşturur, AF'da K liflerinin yaptığı network lameller şeklinde görülürken nukleusta böyle bir lamellar yapının yerine daha gevşek bir görünüm bulunmaktadır. Disk yapısındaki ilk hasarın lameller şeklindeki K liflerinden başladığı düşünülmektedir. (13,167,121,105,12). Disk nukleusundaki K ise yüksek oranda çapraz bağlara ve yüksek yük taşıma kapasitesine sahiptir (167,46).

Kollajen tek bir protein değildir ve 33 genin kodladığı 19 K tipinden 8 tanesi intervertebral diskte bulunur (12,82). Bunlardan bazıları **Tablo 1** de verilmiştir (167,4,82).

Diskin major kollajenleri Tip 1 ve Tip II dir bu yapı diske gerilme kuvveti kazandırır ve dokunun kemiğe yapışmasını sağlar. Anulus hücrelerinin çoğu Tip 1 ve Tip II K yaparken , Nukleus hücreleri yalnızca Tip II kollojen sentez eder (8). AF'da tip I, II, III, V, VI, IX, XI ve XII; nukleusta ise tip II, VI, IX, XI kollajen bulunmaktadır. Anuler K ağının bütünlüğü intervertebral diskin normal işlevini sürdürmesinde önemli rol oynar. Anulustaki K'nin %65'i tip II, kalanı ise tip I'dir. Tip II K hidrofilik özelliğinden dolayı kompresif kuvvetleri soğurmaya Tip I K ise gerilme stresine karşı koymaya daha uygundur (167,46,116,118,6). Tip II K Col2a1 adı verilen tek bir gen tarafından kodlanan, kıkırdak dokuda bulunan başlıca K tipidir(105,12).

Kollajen Tipi	Bulunduğu Doku
Tip I	Deri, tendon, kemik, kornea, ligaman
Tip II	Kıkırdak, nükleuspulposus
Tip III	Deri, kan damarları, tendon, uterus
Tip IV	Bazal membran
Tip V	Cilt, kemik, fetal membranlar, plasenta
Tip VI	Deri, kan damarları, disk, kıkırdak
Tip VII	Sub-bazal lamia, dermoepidermal bileşke
Tip VIII	Descement mebranı, endotelyal hücreler
Tip IX	Kıkırdak, disk, vitre
Tip X	Kalsifiye kıkırdak, büyüme plağı
Tip XI	Kıkırdak
Tip XII	Deri, tendon, periodontal ligaman, disk
Tip XIII	Endotel hücrelerei, cilt, barsak, mezenkim, intertrabeküler kemik, çizgili kas
Tip XIV	Fetal tendon ve cilt
Tip XVI	Ciltte fibroblastlar

Tablo 1: Kollajen tipleri

Proteoglikan

Disk dokusundaki diğer makromolekül PG'dir. Kompresif cevabı sağlamakta ve özellikle nükleusta bulunmaktadır. Proteoglikan, ortasındaki protein çekirdeğine bağlanan glikozaminoglikanlardan oluşmaktadır. Santral bir protein çekirdeğine glikozaminoglikan (GAG) zincirleri ile kovalen bağ ile bağlanan karbonhidratlardan oluşan kompleks bir yapıdır ve protein çekirdeğe bağlanan GAG sayısı ve tipine bağlı olarak farklı PG' lar oluşmaktadır (167,69). Uç-plak ve nükleus içerisindeki ana PG agregandır (77).

Agreganda iki adet glikozaminoglikan zinciri bulunmaktadır. Bunlar; kondroidin sülfat (KoS) ve keratan sülfat (KeS)'dir. KeS/KoS oranı nukleusta yüksekken, anulusta bunun tam tersidir.

Glikozaminoglikanlar negatif yüklüdürler. Bu nedenle agregan diskin majör PG'ı olarak su tutma özelliği ile diskin ozmotik basıncından sorumludur. Proteoglikanla ozmotik basıncın yüksek olmasını sağlar ve buda diskin iç basıncını oluşturur (3,31,9.). Nükleus pulposus'un su ve PG içeriği AF'tan daha fazladır. Disk içerisindeki negatif yükten kaynaklanan elektrokimyasal fark dolayısıyla, disk içerisindeki iyonlar plazmadakinden daha fazla olmaktadır. Örneğin plasmadaki Na^+ 150 mM iken disk içerisindeki Na^+ miktarı 400 mM'dür. Aynı şekilde Ca^{++} ve Mg^{++} 'un disk içerisindeki miktarları da plasmadakinin on katı kadardır (31). Bununla birlikte diskin PG dolayısıyla su içeriği yaşla azalmaktadır (3,9,134 168).

Daha düşük molekül ağırlıklı PG' lar ise versikain, dekorin, biglikan, fibromodulin ve lumikandır. Bunların işlevleri tam olarak bilinmemekle beraber, dekorin' in fibriler K üzerine oturarak onların çaplarını kontrol ettiği, biglikan ise yine dekorinle birlikte ekstraselüler matrikste büyüme faktörlerine etki yaptığı sanılmaktadır (125,6,18).

İntervertebral Diskin Biyomekaniği

Kompresyon (basma) testlerinde diskin düşük yüklerde fleksibl olduğu ancak büyük yük değerlerinde stabilizeyi arttırmak için katı şekilde davrandığı görülmektedir. Bu nedenle günlük aktivite sırasında kompresif yükler altında kalan normal bir elastik özelliğini koruyan nukleusun fitiklaşmaya eğilimi az olmaktadır(173). Fonksiyonel spinal ünite (FSU) üzerinde yapılan statik kompresif yüklere dayanım deneyinde ise omurga KSP'da disk dokusundan önce hasar olduğu görülmüştür (26). Bu nedenle KSP kırıklarının olduğu yerlerden nukleus omurga cismi içerisine doğru yer değiştirerek Schmorl nodülleri oluşabilmektedir.

Günlük aktivite sırasında nukleusun tensil (çekme) yüklerine maruz kalması nadirdir. Buna karşın anulus tensil yüklere daha sık maruz kalmaktadır. Örneğin spinal fleksiyonda diskin arka tarafındaki anulus lifleri tensil yüke maruz kalmaktadır. Bunun tam tersi spinal ekstansiyonda görülmektedir. Lateral bending (Yana eğilme) hareketinde konveks taraftaki anulus liflerinde tensil yüklenme olurken aksiyal rotasyonda disk eksenine 45

derecelik açıda anulus liflerinde tensil yüklenme olmaktadır. Vertebra-disk-vertebra modelinde yapılan aksiyal tensil yükleme testinde, anulusun 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 nukleusdur (26). Bunun yanısıra kendi doğrultusunda bulunan anulus lifleri (30 derecede) aksiyel tensil yüklere horizontal liflerden daha dayanıklıdır.Eğilme testlerinde ise diskin (-8) derecelik bendingde yapısının bozulmadığı, 15 dereceden sonra ise yapısında hasar oluştuğu bilinmektedir. İntervertebral disk yüklenmelerinde 260 N/mm den sonra yetersizlikler başlamaktadır. (26, 57,48). 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 (26).

Disk dokusunun hasarı sonrasında rejenerasyon ve tamir potansiyeli düşüktür. Bu nedenle siklik yüklemeler ile yapılan yorulma deneylerinde (fatigue tolerance) 1000 sıklıktan sonra tamamıyla hasarlanma olduğu ve yorulma ömrünün düşük olduğunu söyleyebiliriz (26).

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 (114).

İntradiskal basınç değişik vücut pozisyonlarında farklı olmaktadır. Yatarken 154 kPa, ayakta 550 kPa, otururken 700 kPa dır. Bunun yanısıra disk dejenerasyonu ile intradiskal basıncın arttığı bilinmektedir (130).

Önceleri disk dokusunda oluşan hasarın diskin mekanik özelliklerini bozmadığı iddia edilse de bugün artık disk hasarının diskin mekanik özelliklerini bozduğu kanıtlanmıştır (58,131). FSU modelinde yapılan posterolateral anulus eksizyonu ve bu eksizyon yerinden nukleusun çıkartılması (klasik disk cerrahisinde olduğu gibi) sonrasında yapılan deneylerde; kompresyon ve torsiyonda çok fazla etkilenme olmazken fleksiyon, lateral bending ve traksiyonda çok daha büyük etkilenmeler olmaktadır (5L).

İntervertebral Diskin Diğer Komponentleri

Diskin diğer komponentleri adı altında sınıflanan ekstraselüler enzimler, yaşlanma pigmentleri ve hücreler ise diskın küçük bir kısmını oluşturur. Bu yapılar K olmayan protein yapılarıdır ve yaşlanma ile beraber artarlar. Elastin, nektin isimindeki glikoproteinler ve bunlarının en bilineni fibronektin, hücrelerle ekstraselüler matriks arasında yer alırlar. Kondronektin ise kıkırdak yüzey ile kondrositler arasında yer alır ve kondrositlerin tip II kollajene bağlanmasında rol alırlar (69).

Diskın hücre sayısı bağ dokusuna oranla daha düşüktür, NP' de 4000/milimetreküp, AF'de 9000/milimetreküp, KSP' de 15000/milimetreküp hücre vardır. Üç tip hücre saptanmıştır notokordal hücreler, fibrositler ve kondrositler. Disk hücrelerinin temel görevi, PG'leri ve diğer matriks proteinlerini sentezlemektir.. Böylece yeterli oranda su taşıma kapasitesi sağlanır. Bu sentez için gerekli enerji ise glikozun laktik aside anaerobik yolla yıkımı ile sağlanır (46,145).

Diskın ekstraselüler komponentleri ise elastik liflerden oluşur, bu liflerin temel maddesinde elastindir ve disk kuru ağırlığının %1-2' sini oluşturur. Polar aminoasitlerden zengindir. Elastin farklı K'lerin birbirine bağlanmasında ve farklı K'lerin PG'lara bağlanmasında rol oynar (13,6).

Matriks dinamik bir yapıdır normal bir disk dokusu matriksi içerisindeki hücrelerin sentez ve yıkımı arasında bir denge bulunmaktadır. Yıkım artar veya sentez azalırsa disk dokusunun integrasyonunda ve hasara karşı tamir gücünde azalma olacaktır. Matriks molekülleri , metalloproteinazlar (MMPs), ve agreganazlar (As) tarafından sürekli yıkılırlar ve bu yıkımdan sorumlu enzimleri disk hücreleri üretir (158, 181). Matriksdeki bu yıkım ve sentez arasındaki denge matriksin kalite ve bütünlüğünü belirler. Matriksin bütünlüğü sağlıklı diskın avasküler anöral doğasının sağlanması açısından önemlidir. MMPs aktif olabilmek için çinko ve kalsiyuma ihtiyaç duyarlar bu nedenle bu enzimlere metalloproteinaz adı verilmiştir. Bunlardan bazıları:

Metalloproteinaz I (Kollajenaz) : Tip II ve Tip X kollajeni etkiler.

Metalloproteinaz II (Jelatinaz) : TipIV ve Tip V kollajeni etkiler.

Metalloproteinaz III (Steromelizin): PG protein çekirdeğini, Tip V ve Tip IX kolajeni etkiler.

Kollajenaz Tip II K'e daha aktif etki gösterir. MMPs' lardan bir diğeri de elastazdır. Elastaz Tip I K'ni etkilemezken Tip II ve Tip IX' u yıkmaktadır. Bu nedenle dejenere disklerde bu enzim tarafından yıkılan K'nin yerine fazla miktarda Tip I K yapılmaktadır. Bu enzimler sağlıklı insanda MMPs'ların doku inhibitörleri denilen maddelerle kontrol altında tutulurlar (13,4).

Sitokinler diğeri hücre fonksiyonlarını etkileyen polipeptidlerdir. Sitokinler işlevsel olarak koloni stimüle edici faktörler, büyüme faktörleri, immüno-regülatör, proenflamatuar sitokinler olarak sınıflandırılmışlardır. Bunlar trofik regülatör protein olarak çalışırlar. Sitokinler normal ve anormal biyolojik durumlarda hücreden salgılanır ve hücreler arası iletişimde aracılık ederler. Bunlar hem salındıkları hücreleri hem de komşu hücreleri etkilerler. Bunu hedef hücredeki membran reseptörüne bağlanarak sağlarlar. Sitokinlerin proliferasyon, differensiasyon, gen ekspresyonu, immün ve inflammatuar yanıtların düzenlenmesi gibi rolleri vardır (80,125, 163) .

Disk Dejenerasyonunun Etyolojisi

Nutrisyonel problemler

Disk dejenerasyonunun en temel nedenlerinden birisinin disk hücrelerinin nutrisyonel desteğinin yetersizliği olduğu düşünülmektedir. Tüm hücreler gibi disk hücreleri de oksijen ve glikoza ihtiyaç göstermektedir. Beslenme için gereken maddeler, diske konsantrasyon gradyantine göre diffüzyonla alınırlar (69). Diskin oksijen konsantrasyonu ise diskin değişik bölgelerinde birbirinden farklıdır. Anulusun periferinde, son plağa yakın bölgede en yüksek, nukleusta ise en düşüktür. Bunun nedeni sadece oksijen difüzyonunun bu bölgede daha iyi olması değil, aynı zamanda hücre sayısının daha fazla olması ve kanlanmanın bu bölgelerde daha iyi olmasıdır. Nukleustaki bu düşük oksijen konsantrasyonu ise anaerobik enerji üretimine neden olur, böylece metabolik atık olarak laktik asit, nukleusta en fazladır. Buradaki laktat konsantrasyonu plazmadan 5-18 kat yüksekken, anulustaki oran yaklaşık olarak plazma kadardır. Yüksek laktat oranı pH' yı düşürür, bu nedenle nukleusun pH' sı 5,6' dır (69). İn vitro çalışmalarda asidik pH ve düşük oksijen konsantrasyonunda hücrelerin hızla öldüğü gösterilmiştir (177,169,122,70). Nutrisyonel destek çeşitli nedenlerle bozulabilir; ateroskleroz, anemi, uzun süreli

egzersizyapmak veya yapmamak, skolyoz nedeniyle KSP kalsifikasyonu bu nedenlerin başlıcalarıdır (169).

Mekanik yüklenme ve travmalar

Uzun yıllar aşırı veya anormal mekanik yüklenmenin diski bozan temel neden olduğu düşünülmüştür. Bu konudaki bilgilerimiz özellikle füzyon yapılan segmentler üzerindeki disklerin bozulması ile de desteklenmektedir. Sigara, obezite, kamyon şoförlü'ğü, ağır kaldırmanın diskleri bozduğunu gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalara dayanarak değişik ergonomik düzenlemeler yapılmıştır. Ancak bu düzenlemelere rağmen dejenerasyon oranları yıllar içinde giderek artmaktadır (118,66,37). Omurga dejenerasyonunu açıklamaya çalışan modeller arasında en temel olan Kirkaldy-Willis'in 1970'de açıkladığı biyomekanik modeldir. Bu modelde dejenerasyon, disfonksiyon fazı, instabil faz ve stabilizasyon fazı olmak üzere üç fazdan oluşur (**Tablo 2**) (85,184,86,87). Yaşamın ilk iki dekatında omurgada morfolojik değişikliklerin pek gözlenmediği düşünülmekle beraber dejenerasyonun ilk bulgularının 11-16 yaş grubunda görüldüğü ve bu yaş grubunun %20'sinde hafif dejenerasyon bulgularının olduğu bildirilmektedir (24,112,). Üçüncü ve dördüncü dekatlarda dejeneratif değişiklikler başlar. Yaşlanmanın ilk belirtileri disklerde görülür, bunu kemik ve artiküler yapılardaki değişiklikler izler. İlk olarak tekrarlayan travmalar ile disk anulusunda sirkumferensiyel yırtıklar ortaya çıkar. Bu yırtıklar zaman içinde radial yırtıklara yol açarak nukleusun ağrıya duyarlı dış anulus lifleri ile bağlantısına neden olur. Dejenerasyon devam ettikçe disk tamamen bozularak yırtıklar bir uçtan diğerine ulaşır hale gelir. Diffüz bombeleşme veya fokal ekstrüzyon ile disk aralığı daralır. Bu durum, omurga cisimlerinin birbirlerine yaklaşmalarına, osteofit gelişimi ve faset eklemlerde hipertofik değişikliklere, daha sonra da nöral elemanların foramen veya spinal kanalda komprese olmalarına neden olur. Faset eklem kapsülünün ve ligamentum flavumun hipertrofileri de tabloya eklenir. Disk ve faset eklemlerdeki bu bozulma segmentin hareketini de azaltır. Bu arada diskin stabilizasyonundaki yetersizlik ve faset eklemlerin subluksasyonu vertebranın diğeri üzerinde öne veya arkaya doğru kaymasına neden olur. Bu kayma fleksiyon ekstansiyon grafiğinde hareketli olarak gösterilebilir. Traksiyon osteofiti adı da verilen anterior osteofitler, genellikle spinal segmentteki anormal hareketin bir göstergesidir. Yaşlanma ile birlikte bu sürece postüral değişiklikler de eklenmektedir. Dejenere olan faset eklemlerdeki yüklenmeyi azaltmak

amacıyla fleksiyon postürü gelişir ve lomber lordoz azalır. Fleksiyon postürü ayrıca spinal kanalın bir miktar genişlemesini sağlar (37,184,86).

Genetik Etkenler

Disk dejenerasyonunda önemli etyolojik faktörlerden birinin genetik eğilim olabileceği düşünülmektedir. İkizlerle yapılan iki farklı çalışmada eğilimin %60'a kadar ulaştığı

Evre	Disk	Patolojik Sonuç
Disfonksiyon Safhası	Sirkumferensiyel yırtıklar Radyal yırtıklar	Disfonksiyon Herniasyon
İnstabilite	İnternal yırtılma Disk rezorpsiyonu	İnstabilite Lateral sinir kök basısı
Stabilizasyon	Osteofitler	Tek seviyeli stenoz Multipl seviyeli stenoz veya spondiloz

Tablo 2: Dejenerasyon süreci içerisinde disklerdeki değişiklikler ve sonuçlar

bildirilmektedir (17,148). Çeşitli yaş gruplarında diskektomi uygulanmış olguların akrabalarında bel ağrısı öyküsü yüksek bulunmuştur (139).

Varughese, disk hernisi ve spinal stenoz nedeniyle spinal cerrahi geçiren yaşları 24 ile 39 arasında değişen 4 kardeşin, ebeveynlerinde de bel ağrısı ve spinal cerrahi öyküsü olduğunu bildirmiştir(171). Matsui ve arkadaşlarının diskektomi uyguladıkları olguların akrabası olan, opere olmamış bel ağrılı 24 hasta ile ailelerinde operasyon öyküsü olmayan bel ağrılı 72 kontrol olgusunun manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve direkt grafilerini karşılaştırmıştır. Hasta grubunda disk dejenerasyonu şiddeti ve disk hernisi insidansı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (109).

Tip II K Col2a1 adı verilen tek bir gen tarafından kodlanan, kıkırdak dokuda bulunan başlıca K'dir(105,12). Bunun yanında tip IX ve XI gibi minör K'lerde kıkırdak yapısına katılır. Tip II K gen defektlerinin iskeleti etkilediği, kondrodistrofilerin birçoğunda Tip II ve XI K gen mutasyonlarının rol oynadığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Tip II K'i kodlayan Col2a1 geni delesyonu uygulanan transgenik farelerde K paternlerinde bozukluklar, vertebra korpuslarında genişleme ve son plaklarda erken osifikasyon,

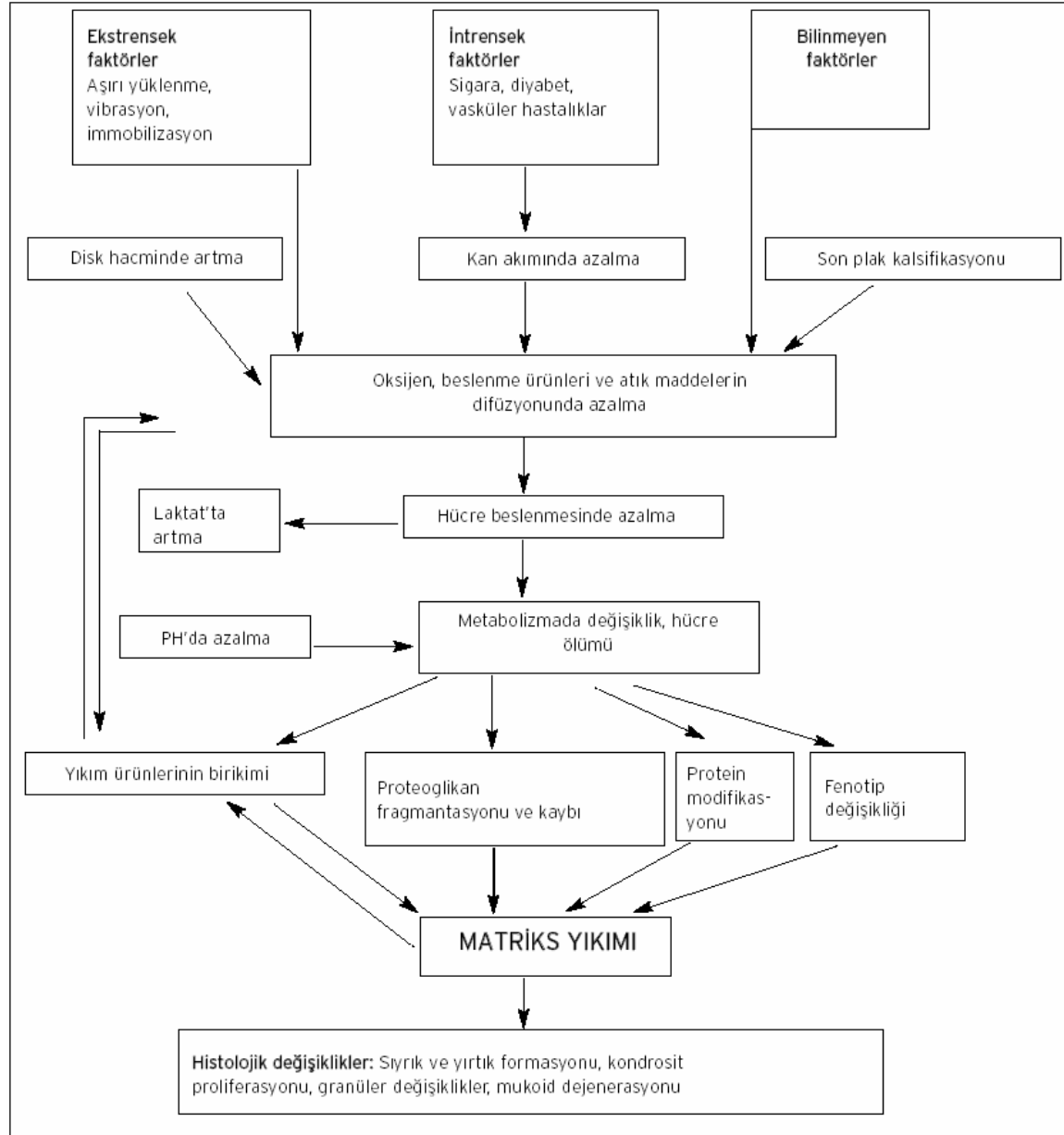
intervertebral diskin oluşumunda bozukluklar gibi bulgular olduğu gösterilmiştir(150,147).

Proteoglikanlar K'in ardından, İVD'deki ekstraselüler matriksin ikinci önemli komponentidir. Proteoglikanlar içerdikleri GAG'ın yüksek su tutuculuk kapasitesi nedeniyle hidrofilik moleküllerdir ve NP su içeriğini ayarlarlar. Proteoglikanı kodlayan 30 farklı gen vardır. Bu moleküller translasyon sonrası modifikasyona en fazla uğrayan makro moleküllerdir. Agregan geninde tanımlanan değişken sayıda tandem tekrar olarak adlandırılan bir tür polimorfizmin bireylerde değişen uzunluklarda agregan gövde proteini oluşumuna yol açtığı, bunun da KoS için farklı sayılarda bağlanma noktası oluşturması nedeniyle kırırdağın fonksiyonel özelliklerini etkileyebileceği ileri sürülmüştür (40). Agregan defektif farelerde vertebral disk herniasyonları ve dejenerasyonlarının gözlenmesi, LDH patogenezi ile agregan geninin etkilenmesi arasındaki ilişkiyi destekleyen bir bulgudur(178). Manyetik rezonans görüntüleme İVDD bulguları olan 32 genç kadın ve normal bulguları olan aynı sayıda genç kadında agregan gen polimorfizminin incelendiği bir çalışmada çok düzeyli disk dejenerasyonları olan olgularda kısa allel dağılımının daha fazla olduğu ve kısa alleli olan olgularda disk dejenerasyonunun daha şiddetli olduğu bulunmuştur (81). Disk hernisi sayısı ya da tipi ile herhangi bir ilişki bulunmamıştır.

İntervertebral diskte yaşa bağlı değişikliklerden bir diğer nedeni de oksidatif streslerin birikimine bağlı proteinlerin modifikasyonudur. Serbest oksijen radikallerinin etkisi ile geri dönüşümsüz ve stabil yapıdaki N-karboksimetil lizin oluşur. Bu değişim sadece intrasellüler kompartmanda değil, aynı zamanda ekstrasellüler kompartmanda da oluşur ve N-karboksimetil lizin varlığı oksidatif stresler için belirleyici olarak kullanılır. Nerlich ve ark, 1997 Volvo ödülünü kazandıkları çalışmalarında 229 disk materyalinde diskte yaşlanmaya bağlı oluşan değişiklikleri belirleyerek ve olası bir şema ortaya koymuşlardır (**Şekil 1**). Bu çalışmanın sonuçları kısaca şu şekilde özetlenebilir (118);

- Disklerde yaşlanmaya bağlı değişiklikler bireysel farklılıklar göstermekle beraber ikinci dekatta başlamaktadır. İnterstisyel K tiplerinin kalitesi ve sayısı kadar birbirlerine oranının'da değişiklikler mevcuttur. Kollajen tip IV ve X'un görülmesi, nükleer kondrositlerde fenotipik değişiklikleri gösterir. Tip IV'ün genç bireylerde görülmesi dejenerasyonun minör erken bulgularındandır. Hücreler etrafında K tip X'un görülmesi

ise, disk dejenerasyonunun terminal dönemine işaret eder. N-karboksimetil lizin modifiye proteinlerin birikimi, disk matriksinin yaşamın erken dönemlerinde oksidatif streslere maruz kaldığını gösterir.



Şekil 1: Yaşa bağlı intervertebral diskte oluşan değişikliklerin olası şeması.

Dejenerasyonla Disk Biyokimyasındaki Değişiklikler

Dejenerasyonla disk biyokimyasındaki en önemli değişiklik PG kaybıdır(102). Diskin PG dolayısı ile su içeriği yaşla birlikte azalmaktadır(3,9,10,135,168). Agregan molekülü giderek parçalanır ve küçük moleküller haline gelir, GAG kaybı olur ve buna bağlı osmotik basınç azalarak su miktarının azalmasına neden olur(9,135). Buna ek olarak İVD'nin iç yapısındaki hidrasyon düzeyi, uygulanan kuvvetle ters orantılı olup omurgaya yük binmesi İVD'nin PG ve hidrasyonunun azalmasına neden olmaktadır(168). Dejenere disklerde özellikle sülfatlanmış kondrotin miktarında azalma olur böylece keratan sülfat/kondrotin sülfat oranı artar(36). Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında dejenere disklerde kondrotin sülfat miktarının daha düşük olduğu gösterilmiştir. Ancak dejenere diskte bile disk hücrelerinin hyalüronan bağlanma bölgeleri güçlü, büyük agregan molekülleri üretme yeteneği sağlam kalabilir. (77). Çalışmalarda ayrıca dekorin ve biglikan gibi küçük moleküllerin diskteki oranlarının arttığı da gösterilmiştir (71).

Dejenerasyonla birlikte K nüfusu da değişir ancak bu değişiklik PG'daki gibi aşırı değildir. K'in miktarından çok tip ve dağılımı değişir. Tip I K hem dejenere hem de normal disklerin AF'unda bulunmakta iken Tip II ve Tip IX gibi minör K'ler dejenerasyonun erken döneminde gözükürlerken ciddi dejenerasyon bölgelerinde gözlenmezler(117). Tip II K gibi fibriller K'ler daha fazla denatüre olurlar(10). Proteoglikan da olduğu gibi K'in üçlü sarmal yapısında denatüre olarak eklem kırırdağındakinden daha fazla rüptüre olmaktadır, dejenerasyonla birlikte Tip II K denatüre olmaktadır(10,67). Lotz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Tip II K'in mekanik strese maruz kalan bölgelerde azalmış olarak bulunduğu saptanmıştır(100). Başka bir çalışmada ise total K miktarının 5-15 yaş grubunda en fazla olduğu ve dejenere disklerde denatüre Tip II K miktarının azaldığı gösterilmiştir(9,10). Tip III ve Tip VI ise dejenerasyon düzeyine bakmaksızın dejenere bölgelerde artmış olarak bulunmuştur(117). N-Karboksimetil lizin K'in protein yapısındaki oksidatif stresle karşılaştığında yapısında meydana gelen değişikliklerle ilgili bir belirteç olup ileri dejenerasyon hallerinde artar(118).

İntervertebral disk K yapısı ile yapılan farklı çalışmalar İVD'nin stabilitesinde K'in çapraz bağlarının önemini ortaya koymuştur, yaşlanma ile birlikte pridinolin azalmakta ve pentozidin artmaktadır(138). 65 yaş üzerindeki bireylerde pridinolin konsantrasyonu genç

insanlara oranla %50 daha az olarak bulunmuştur. Pridinolin çapraz bağlarında azalma diskin K matriksinin yapısında değişikliklere yol açmaktadır. Nükleusdaki matriks dejenerasyonunun normal disklerde bulunmayan bazı proteinazlar tarafından ortaya çıkarıldığı ortaya atılmıştır ve lökosit elastaz enziminin disk içerisindeki dejenerasyondan kısmen sorumlu olduğu düşünülmüştür(54).

Disk dejenerasyonun erken evresinde yeni K sentezi gösterilmiştir (41). Diskin diğer komponentleride dejenerasyonla birlikte değişebilirler örneğin fibronektin artar ve daha fragmente bir hal alırken, agregan sentezi azalır, MMPs sentezi ise artar (75). Katepsinler, Matrix Metalloproteinazları, Agreganaz (As) gibi enzimler matrix proteinlerini yıkabilir. Katepsinler asidik ortamda maksimum aktivite gösterirken MMPs'ler ve As'lar neredeyse nötral pH da maksimum aktivite gösterirler, tüm bu enzimler diskte gösterilmiş olup, Matrix MMPs'ları dejenere disklerde de gösterilmiştir (34). Katepsin D ve L Matrix MMPs'lerinin birkaç türü (1,2,3,7,8,9,13) insan disklerinde bulunmakta ve bunlar ya disk hücreleri yada çevredeki kan damarlarınca sentezlenir. Agreganazlar insan diskinde gösterilmiş olup ileri evre dejenerasyonda çok fazla aktivite göstermezler (157,141,11).

Dejeneratif Değişikliklerin Disk Dokusundaki Histopatolojik Etkileri

Dejeneratif disk hastalığının klinik tanısı için uygulanan prosedürler büyük oranda spinal cerrahileri oluşturmaktadır. Çoğunlukla, bu cerrahiler sinir kökü ya da omurilik kompresyonundan kaynaklanan ağrıyı dindirmek veya nörolojik defisitleri onarmak için gerçekleştirilir. Vertebral kolon temel olarak intervertebral diskleri, sinoviyal faset eklemleri bağlar ve vertebral gövdeler, pediküller, spinöz ve transvers prosesleri içeren omurga kemiklerinden meydana gelmektedir (155). Tüm bu kısımlar yaşa bağlı normal değişimler ve farklı dejeneratif veya rejeneratif değişiklikler gösterebilir. Bu çerçevede İVD baş roldedir ve disk hastalığı faset eklemlerde osteoartrit ya da sarı bağlarda dejenerasyon gibi diğer anomalilerin gelişmesinde önemli bir faktör olabilir (98). İntervertebral diskler, komşu vertebral kemiklere bağlanarak diğer türlü bükülmez/dümdüz olan vertebral kolona kontrollü ve sınırlı hareket kazandırır. Diskler gelişimsel, histolojik ve metabolik açıdan ayırt edilen 3 ana bileşenden oluşur (98,143,153,144,169):

Anulus fibrozus mesenkimal prekürsörden kaynaklanır ve değişen yönelimli bir sürü katmanda sıralanmış farklı fibro kartilaj lamellerden oluşur. Paralel kümelerde yer alan tip I ve tip II K'lar açısından zengindir ve az miktarda PG ve su içerir.

Nukleus pulpozus notokord (omurga taşığı) kalıntısı şeklinde meydana gelir. İnsanlarda, yaşamın ilk on yılı içinde notokordal hücrelerin yerini, mesenkimal olarak türemiş kondrosit benzeri hücreler alır. Bu durum, notokordal hücrelerin tüm yetişkinlik dönemi boyunca korunduğu diğer pek çok memeli ve kemirgendekiyle tezat teşkil eder. Tek bol kolajen tip II'dir. Kolajen fibrilleri rastgele dizilmiştir ve matris yüksek PG ve su içeriğine sahiptir.

Kıyırdak son plakalar disk ile komşu vertebral gövdeler arasında bir ara yüz oluşturur. Bunlar, normalde avasküler olan intervertebral diske (içine ve dışına) besinlerin ve atıkların perfüzyonunu ayarlama da önemli göreve sahiptirler. Normal diskler en küçük sayıdaki selüler dokulardandır; hücreler 8 mm'ye kadar olan mesafelerarası difüzyona bağlıdır (98).

Diskin normal yaşlanmaya bağlı değişimleri arasında notokordal hücrelerin yok olması, NP'nin su içeriğinde azalma, anulus lamellasının parçalanması ve kalınlaşması ile anulus ve NP arasındaki birleşme yerinin kaybolması yer alır. Spinal hastalıktaki dejeneratif değişikliklerin incelendiği pek çok araştırma otopsislerden veya seçilmiş cerrahi örnekten alınmış bütün hareket segmentleri üzerine yapılmıştır (24,61,126,180,49).

Bu çalışmalarda tariflenmiş dejeneratif değişiklikler ekstraselüler matriksteki hücresel değişim ve alterasyonları içermektedir. Hücresel değişimler kondrosit kümeleri (aynı zamanda kondron kümeleri ve kondrosit klonları olarak da bilinirler) (24,61,180,49), hücre ölümü ve apoptoz (24,61,180,49,133), ile normalde avasküler olan diskin neovaskülarizasyonunu içerir (24,61). Matristeki anomaliler arasında ise aşınma, granüler değişim, müköz dejenerasyon, radial yırtılmalar ve konsantrik yırtılmalar yer alır (24,61,49). Raporlanmış diğer dejeneratif değişiklikler intervertebral disk ile sınırlı değildir ya da omurganın başka dokularında da oluşabilir. Bu ikinci grupta jukstafaset kistler (78,137,162,30,65,29,172) ve kristal çöküntüleri/tortuları (19,56,106) vardır. Bu çalışmalarda kullanılan örneklerin aksine patolojistlere günlük pratikte gelen doku örnekleri tipik tarzda bölünmüş ve insan eliyle deforme edilmiş haldedir. Bu

değişiklikler, anatomik ilişkilerin analizini engeller ve matristeki değişimi değerlendirmeyi daha zor hale getirir. Rutin cerrahi örneklerin çalışılmasının bir belirgin avantajı, vaka sayısının çok olmasında yatar. Ayrıca, rutin örneklerin çalışılması günlük tanı uygulamalarına kolaylıkla entegre edilebilir bilgi sağlar.

Morfolojik olarak disk dejenere olduğunda en erken makroskopik değişiklikler; anuler yırtık, nukleustaki dehidratasyon ile oluşan yarıklar, KSP'lardaki yarıklardır. Nukleus içindeki matris yapısında myxomatöz dejenerasyon ve normal kollajen fibrillerinde bozulmalar gelişir. Anulus lamelleri sayısında azalma olurken toplam kalınlıklarında artmalar oluşur. Kollajen lifleri de etkilendiğinden anulusta yırtıklar ilerlemeye başlar. Nukleus end-plate komşuluğundaki yarıklar orta hattan başlayarak arka bölüme doğru ilerler. Nukleus içerisinde granüler materyal birikmeye başlar. Kıkırdak son plaklarda subkondral sklerozis yerleşir. Son plak hyaline kartilajdaki kalsifikasyonlar nedeni ile son plak porositesi bozulur ve disk dokusu beslenemeye başlar. Bunlar İVD de makroskopik morfolojik değişikliklere neden olmaktadır (63,61,24).

Radyofrekans Ugulama

Erişkin nüfusun % 90'ı hayatlarının belli bir döneminde bel ağrısından yakınmaktadırlar. Bel ağrısı Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupada önemli bir halk sağlığı problemi olarak karşımıza çıkmaktadır (7). Hastaların büyük kısmı medikal tedavi ve istirahat tedavisinden fayda görmektedir bu yöntemler de %90 oranında başarı göstermektedir (89). Bu tedavilerin başarılı olmadığı durumlarda kronik ağrı hatta bazı durumlarda kronik sakatlık meydana gelmektedir(89). Bu hastalarda takip eden 12. ayda görüntüleme tekniklerinde diskte NP'un siyahlaşması, anterior veya posterior bulging ile kendini gösteren disk dejenerasyonu meydana gelmektedir (79). Bütünlüğü bozulmuş geniş herniasyonların ve sekestre disklerin tedavisi cerrahi olarak çıkarılmaları ile olur ancak konservatif tedavilere cevap vermeyen, bütünlüğü bozulmamış, nörolojik defisit yaratmayan bel ağrısına neden olan disklerin tedavisinde perkütan girişimle birçok minimal invaziv teknikler geliştirilmiştir (186). Nükleusun kısmi uzaklaştırılması herniye diskleri dekomprese ettiği, sinirlifleri üzerindeki baskıyı kaldırdığı ve bazı durumlarda diskojenik ağrıyı giderdiği görülmüştür (55, 73). Kemonükleosiz, perkütan nükleotomi, intradiskal lazer diskektomi ve intra diskal RF ablasyonu bu amaçla kullanılan

yöntemlerden bazılarıdır. Konvansiyonel elektrocerrahi sırasında lokal doku ısıları 400 dereceye kadar çıkmakta ve komşu dokularda hasar oluşabilmektedir. Nükleoplasti (NPL) koblasyon teknolojisini kullanır ve komşu doku hasarı minimaldir (186). Bu yöntem oldukça yeni olduğundan yapılan prognoz ile ilgili çalışmalarda azdır. Yapılan bir çalışmada ağrının 1 yıl sonunda % 79 azaldığı saptanmış (96). İntervertebral diskte RF ilk defa 1995 de Van Kleef tarafından uygulanmıştır (88).

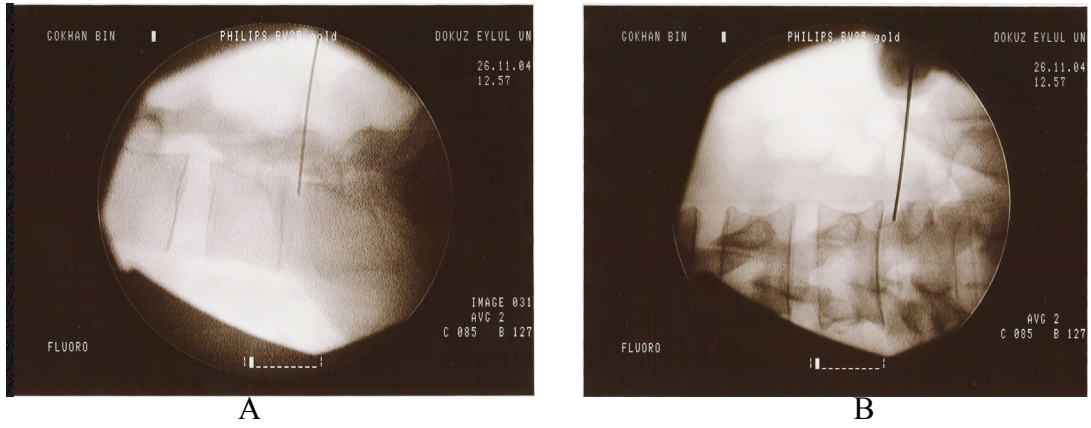
Nükleoplasti ArthroCare tarafından geliştirilmiş yeni bir perkütan disk dekompresyon tekniğidir. Nükleoplasti de doku ablasyonunun ısıya bağımlı olmayan tekniği olarak koblasyon teknolojisi kullanılmıştır. Koblasyon teknolojisinde RF enerjisini iletken bir ortama iletilmekte bu da enerji verilmiş elektrotların etrafında iyonize partiküllerden oluşan bir plazma sahası oluşturmaktadır. Bu iyonize partiküllerin doku içindeki organik bağları kırmaya yetecek kadar enerjisi mevcuttur. Bu işlemin atık ürünleri' de elementer moleküller ve düşük molekül ağırlıklı gazlardır. Sonuç olarak hedef disk nükleusunda hacimsel azalma, disk dejenerasyonu ile oluşan asiditenin nötralizasyonu olmakta ve komşu disk dokusuna zarar vermemektedir (186). Nükleoplasti ile yaklaşık 1 ml kadar disk volümü azaltılabilmektedir.

Manyetik rezonans görüntülemeye siyah disk veya protrüzyonu ile birlikte 6 haftalık konservatif tedavide başarısız olunan radiküler ağrı şikayeti, NPL endikasyonudur, %30 dan fazla disk yüksekliğinde kayıp, spinal kanal çapının 1/3' ünden fazla herniasyon, ekstrüde disk veya serbest fragman, spinal kanal stenozu olan hastalara NPL uygulanmaz.

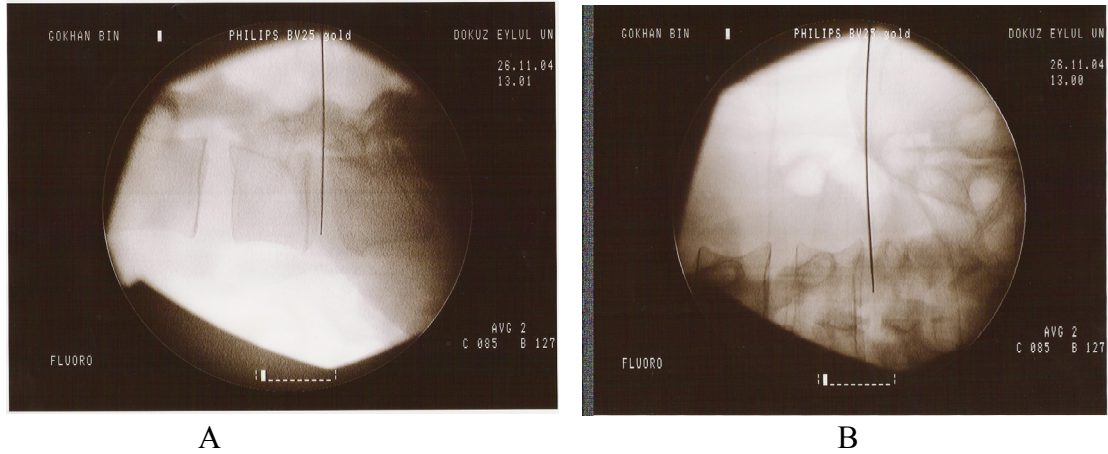
NPL floroskopi eşliğinde lomber bölge için orta hattın 6-10 cm lateralinden yaklaşık 45 derece açı ile 17 G Crawford tipi spinal iğne posterolateral ekstrapedinküler teknik ile disk içine yönlendirilir ön arka ve yan görüntüler ile disk içinde probun yeri tespit edilir (**Şekil 2**). Spinal iğne ile mesafeye girdikten sonra NPL probu klavuz iğnenin içinden mesafeye ilerletilir ve tekrar floroskopi ile probun yeri tespit edilir (**Şekil 3**). Floroskopi ile belirlenmiş disk mesafesine NPL probunun ilerletilmesi ablasyon, probun başlangıç noktasına geri çekilmesi koagülasyon işlemi 6-10 defa tekrarlanır ve işleme son verilir. Nükleoplasti işlemi uygulanmadan önce , BT veya MRG ile saptanan disk patolojilerine ait bulguların güçlendirilmesi, bir çok seviyede oluşan disk patolojileri arasında bulgu verenlerin ortaya konması , intrinsek disk ağrısının gösterilmesi amacıyla diskografi

uygulanabilir (151). Nükleoplasti sonrası izlemde ağrı vizüel analog skalası ile takip edilirken fonksiyonel iyileşme oswestry skalası ile değerlendirilir.

Sonuç olarak NPL uygun hastalarda koagülasyon ve ablasyonu kombine ederek olumlu sonuçlar veren yeni bir minimal invaziv yöntemdir.



Şekil 2; A) Lateral görüntüde spinal iğne ile mesafenin tespit edilmesi
B) Ön arka görüntüde Spinal iğnenin yeri



Şekil 3; A) Lateral görüntüde NPL probunun mesafeye ilerletilmesi
B) Ön arka görüntüde NPL probunun görünümü

GEREC ve YÖNTEM

Bu çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Multidisipliner Deneysel Araştırma Laboratuvarında, laboratuvar şartlarında üretilen iskelet yapısı olgunlaşmış 18 adet erkek Yeni Zellanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar ortalama sekiz ay ile 1 yaş arasında ve ortalama 3-3,5 kg ağırlığındaydı. 2 tavşan sağlam disk materyalinin yapısını ortaya koymak için doğrudan sakrifiye edildi , geriye kalan 16 tavşan iki gurup halinde çalışıldı.

İlk Grupta; L2-3 disk mesafesine Seviye 2 (52 derecede), L3-4 disk mesafesine Seviye 3 (42 derecede) de RF uygulanmış (Nükleoplasti cihazı, Arthrocare, Memphis, USA) ve L4-5 disk mesafesine 19 gouge iğne ile girilen 6 tavşanın 15. günde histopatolojik inceleme için değerlendirildiği.

İkinci Grupta; L2-3 disk mesafesine Seviye 2 (52 derecede), L3-4 disk mesafesine Seviye 3 (42 derecede) de RF uygulanmış ve L4-5 disk mesafesine 19 gouge iğne ile girilen 10 tavşanın histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirme amacıyla 30. günde değerlendirildiği grup.

Tavşanlar Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Multidisipliner Deneysel Araştırma Laboratuvarında tavşanlar için özel olarak düzenlenmiş operasyon salonunda, steril şartlarda opere edildi. İşlem öncesi tüm tavşanlara intramusküler 3mg/kg dozunda Xylazine ve 40 mg/kg Ketamin verildi. Anestezi verildikten sonra tavşanların lomber bölgesi klorex ile temizlenip traş bıçağı ile tavşan kılları tıraş edildi, (**Resim 2**) ardından tavşanlar prone pozisyonda yatırıldı operasyon masasının köşelerindeki demir çubuklara ekstremitelerinden tespit edildikten sonra Povidon İodine ile boyanarak antisepsi sağlandı. Steril yeşil kumaş örtülmesini takiben (**Resim 3**), steril şartlarda lomber sol posterolateral yaklaşımla 8 cm lik vertikal bir insizyon (**Resim 4**) uygulanarak cilt ciltaltı ve fasya 15 numara bistüri ile geçildi , paravertebral adaleler künt disseksiyon ile spinöz proseslerin üzerinden sıyrıldı. Daha sonra sahaya küçük bir mastoid ekartör yerleştirildi. Pelvik hattın L5-L6 disk mesafesine denk geldiği anatomik bilgisinden de faydalanılarak (155) öncelikle iki tane transvers proses ortaya kondu (**Resim 5**) tavşanın anatomik yapısı göz önüne alındığında (**Resim 6**) tavşana pozisyon verilerek sol taraf üstte kalacak şekilde çevrildi ve transvers proseslerin vertebra ile birleştiği yerin hemen önündeki disk mesafesine kaslar sıyrılarak ulaşıldı (**Resim 7 ve 8**). L4-5 L3-4 ve L2-3 disk mesafeleri ortaya kondu. NPL cihazı hazırlandı ve mesafeye yaklaştırıldı (**Resim 9-10-11**). Servikal

nükleoplasti için kullanılan prob (yakma ucu) klavuz iğnenin içerisinden geçirildikten sonra normal de 5 mm'lik kısmı dışarıda kalıyor (**Resim 12**). Sırasıyla disk mesafelerine işlem uygulanmaya başlandı. Öncelikle L4-5 disk mesafesine işlem planlandı, RF klavuz iğnesi daha önce belirlenmiş (5mm) sınırdaki disk mesafesine ilerletildi ve geri çekildi (**Resim 13-14**). Daha sonra L3-4 disk mesafesinde AF'un dış kısmına klavuz iğnenin dayanmasının ardından prob klavuz iğnenin içinden ilerletildi seviye 3(42 derecede) bir saniye koagülasyon uygulandı ve mesafeden çıkıldı. Ardından L2-3 disk mesafesine aynı işleme seviye 2(52 derecede) de bir saniye koagülasyon uygulanarak devam edildi, mesafelere ablasyon uygulanmadı. İşlem bittikten sonra tüm tavşanların fasyası 3/0 vicryle cilt ise 2/0 ipek ile kapatıldı . İşlemden önce tavşanlara tek doz sefazol 10 mg/kg IV olarak profilaktik antibiyotik uygulandı.

Tavşanların hepsine aynı günde yukarıda anlatıldığı gibi işleme alındı. 15. günde 6 adet tavşan, 30. günde ise 10 adet tavşan intramusküler 25mg/kg ketamin ve 1.2 g/kg intravenöz sodium pentobarbütal ile sakrifiye edildi. Eski insizyon kullanılarak paravertebral adaleler tekrar sıyrıldı transversprosesler ve disk mesafeleri ortaya konduktan sonra bir üst ve alttaki disk mesafeleri korunarak vertebra blok şeklinde osteom yardımı ile çıkartıldı (**Resim 15**). Her bir İVD kütütle ile ayrıldı (**Resim 16**). 15. günde sakrifiye edilen tavşanlardan 6 tavşanın 18 İVD'yi histopatolojik incelemeye tabi tutuldu. İkinci grupta yer alan 10 tavşan 30. günde sakrifiye edildi ve 3 tavşanın dokuz adet İVD'yi histopatolojik incelemeye 7 tavşanın 21 adet İVD'yi ise biyokimyasal incelemeye tabi tutuldu.

Histopatolojik inceleme için ayrılan diskler Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp fakültesi Histoloji Anabilim dalında değerlendirilmeye alındı. Deneklerden alınan İVD'ler 24 saat %10 luk tamponlu formalinde fikse edilerek stok numaraları verildi. Fiksasyon sonrasında dokular klasik histolojik takip yöntemleri uygulanarak parafin bloklara gömüldü. 5-6µm. lik kesitler boyanmadan faz-kontrast mikroskopta uygun alanlar belirlenerek her bloktan 5 er kesit atlanarak alınan örnekler Hematoksilen-Eosin (H&E) boyası uygulandı. Her bloktan alınan beşer doku örneği Olympus BH-2 (Tokyo, Japan) mikroskobunda iki kör histolog tarafından değerlendirildi. Bulgular sonra tartışılarak ortak sonuçlara varıldı. Görüntüleme için aynı mikroskoba bağlı yüksek çözünürlüklü kamera (Aver TV Studio

(Version 4.21.0.0(Software) Aver Media Technologies, Inc.) kullanılarak fotomikrograflar elde edildi.

Biyokimyasal inceleme için çıkarılan diskler Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp fakültesi Biyokimya Anabilim dalında değerlendirilmeye alındı. Cerrahi olarak çıkartılan disk materyalleri serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra 10-40 mg lık parçalara bölünerek donduruldu ve analiz edilinceye kadar - 70°C'de saklandı.

Dokuların su ve Tip II kollagen içeriğinin ölçülmesi

Disk materyal parçası yaş ağırlığı ölçülerek desikatör içerisinde kurutuldu. Kuru dokunun ağırlığı tekrar ölçüldü. Ağırlıkları 5-10 mg arasında değişen kuru dokular 1-2 mL soğuk distile su ile +4°C'de bir gece bekletildi. Tekrar şişen dokulara, daha sonra uygulanacak pepsin parçalanmasını artırmak amacı ile 0.5 mL 3M guanidine hidroklorid/ 0.05 M Tris-HCl tamponu (pH 7.5) eklenip +4°C'de bir gece bekletildi. Bir gecenin sonunda dokular aynı tampon içinde elektrikli homojenizatör ile buz üzerinde homojenize edildi. Homojenizasyon işleminden sonra 10 000 rpm 'de 3 dakika +4°C'de santirfüj yapılarak , elde edilen çökelti enzimatik parçalama işlemleri için kullanıldı. 0.1 mL Pepsin (10mg/mL, 0.05M asetik asit pH 2.9-3.0) solusyonu ile +4°C'de 48saatlik inkübasyon ile kollagen molekülünün N ve C terminallerinde lokalize olan telepeptitlerin parçalanması sağlandı. Intra ve inter molekül bağlantılarının parçalanması için 0.1 mL pankreatik elastaz ile (1mg/mL, TBS pH 7.8-8.0) +4°C'de bir gecelik inkübasyon daha yapıldı. Pepsin ve pankreatik elastaz enzimleri ile toplam 72 saat süren enzim sindiriminden sonra dokudaki total kolajen tamamen çözünür hale getirildi. Elde edilen örnek 10 000 rpm de 5 dakika santirfüj edilerek, üste kalan sıvı analiz için kullanıldı. Kollagen içeriğinin denatüre olmaması yada jel formuna geçmemesi için örnekler +4°C'de tutuldu. Örnekler dilue edilerek ELISA yöntemi ile Native Tip II kolajen analiz kiti (Chondrex,USA) ile çalışıldı. Sonuçlar kollojen, mg yaş doku ağırlığı başına, nükleus su içeriği ise ıslak disk ağırlığının yüzdesi olarak : 100X (Islak ağırlık-kuru ağırlık)/Islak ağırlık hesaplandı.

Sulfatlanmış proteoglikan ve glukoz aminoglikan (sGAG) içeriğinin ölçülmesi

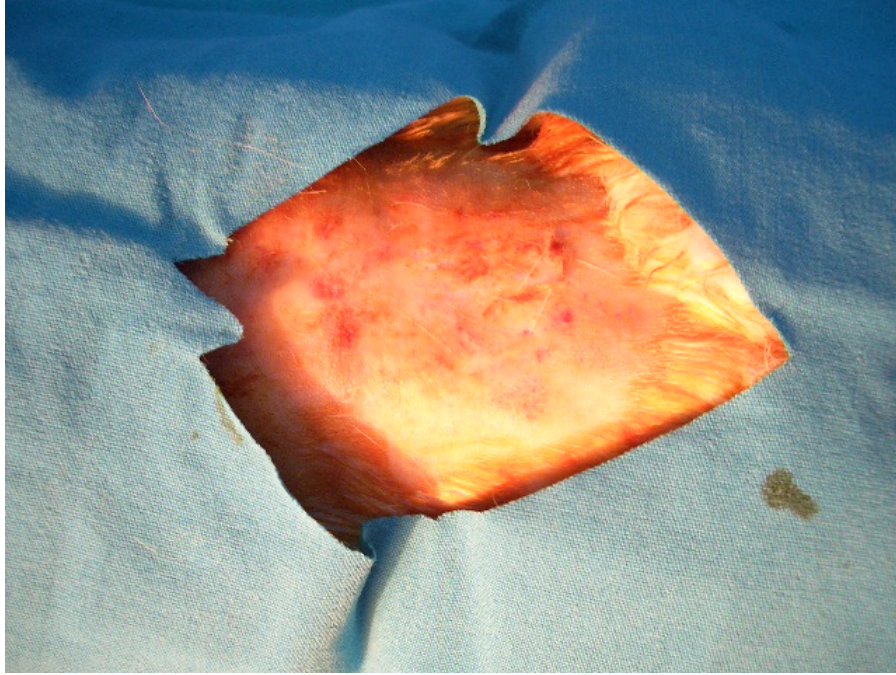
Disk materyalleri Proteinase K (EC 3.4.21.64) 1mg/mL konsantrasyonda olacak şekilde 0.1 M Tris-HCL tamponu (pH7.6) ile çözüldü. Proteinase K içeren tampon ile (mg yaş doku başına 0,01 mg enzim düşecek şekilde) dokular 56°C'de 15 saat inkübasyona tabi

tutuldu. Dokuların total sulfatlanmış proteoglikan ve glukoz amino glikan içeriği kantitatif boya-bağlama metodu ile kalorimetrik olarak ölçüldü (Blyscan Assay kit, Biocolor,Ireland). Sonuçlar yaş doku ağırlığının yüzde sGAG içeriği olarak hesaplandı.

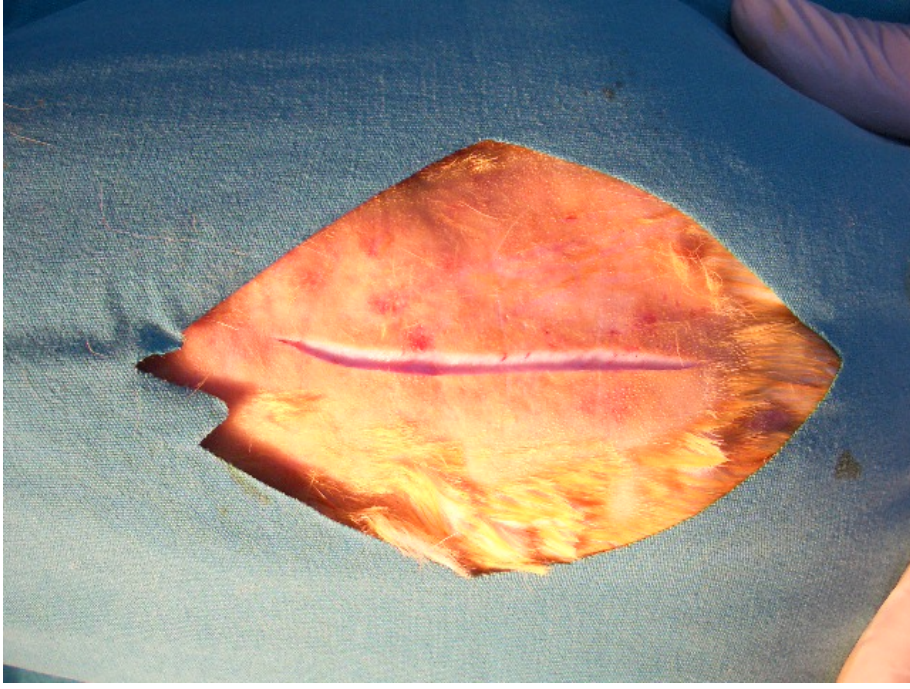
Çalışma gruplarında saptanan biyokimyasal bulgu skorlarının anlamlılık gösterip göstermediğini Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakóltesi Halk Sağlığı Anabilim dalınca Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi.



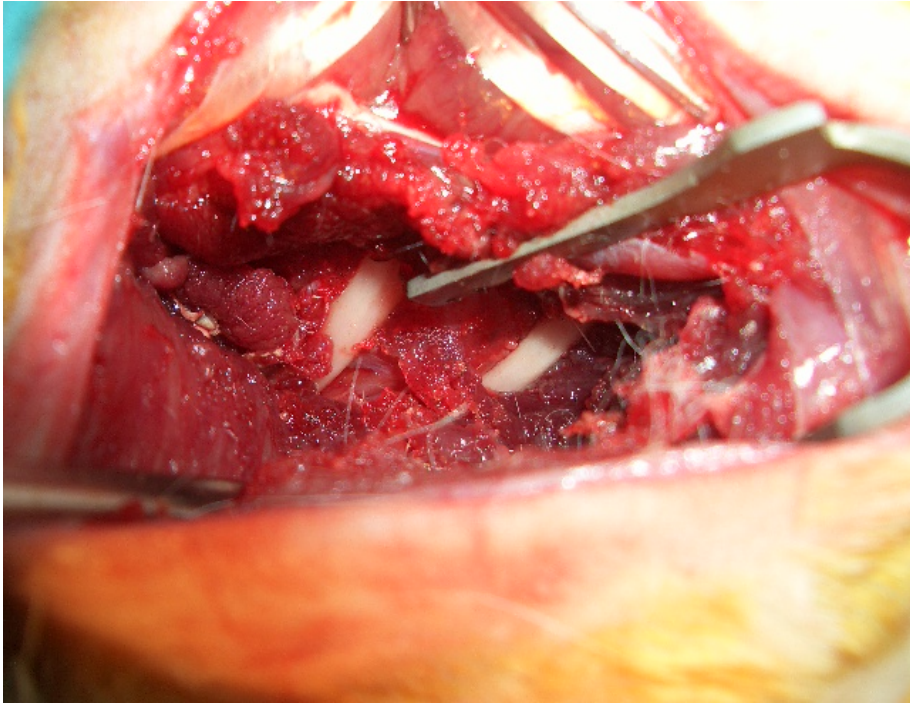
Resim 2: Tavşanın lomber bölgesinin traş edilmesi



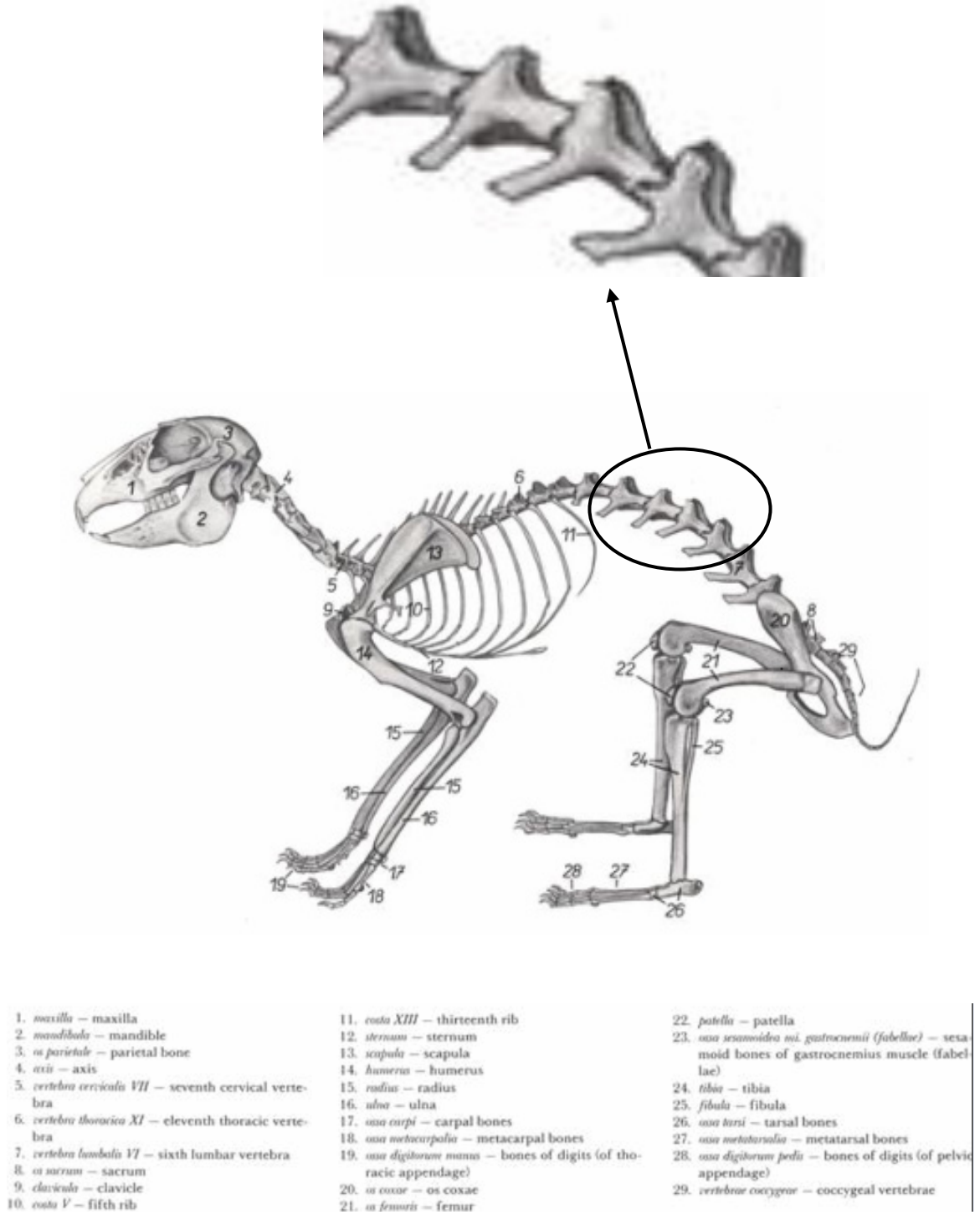
Resim 3: Povidin iodin ile boyandıktan sonra örtülmesi



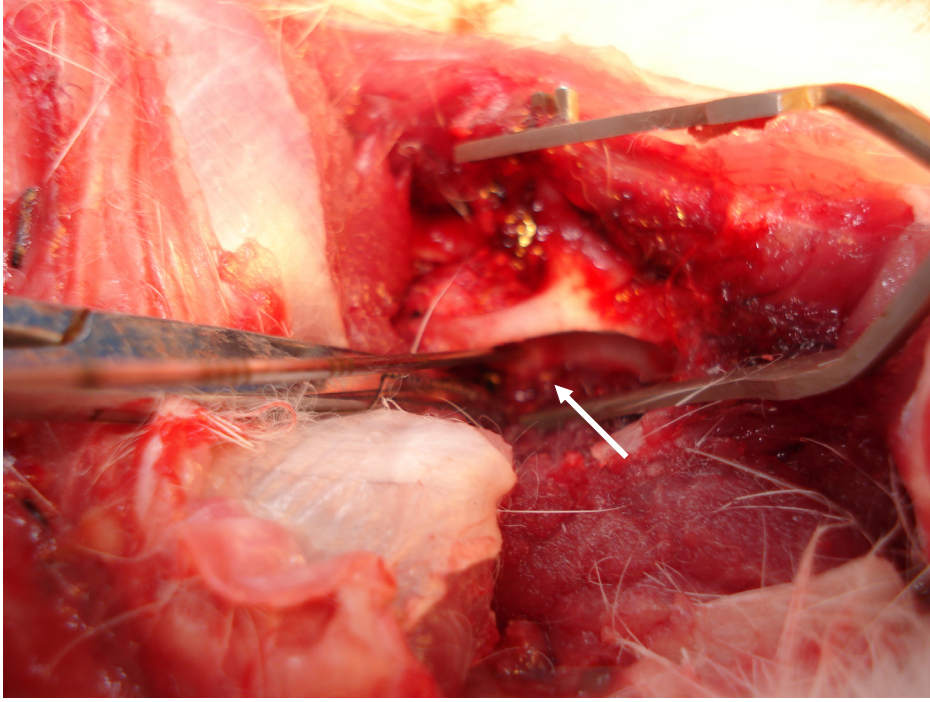
Resim 4: Posterolateral vertikal 8cm lik insizyon



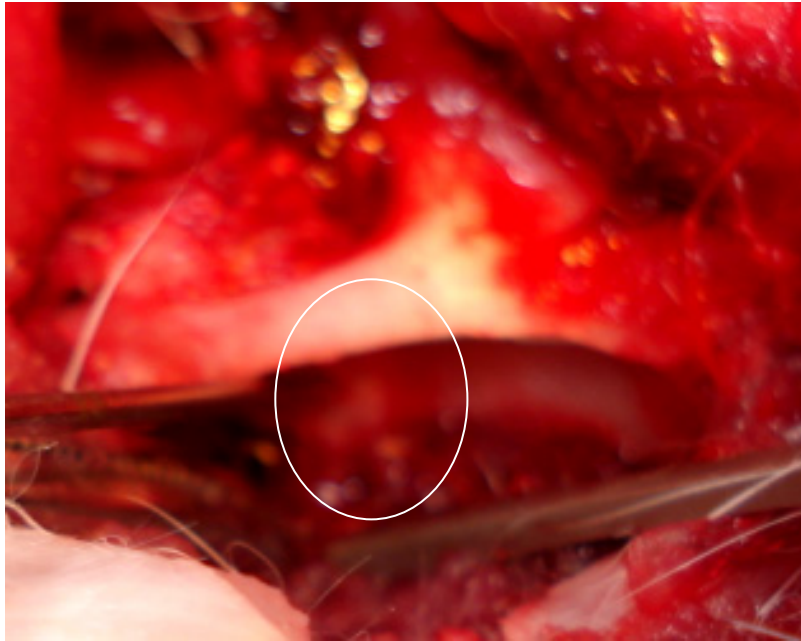
Resim 5: Mastoid ekartör yerleştirilmesi



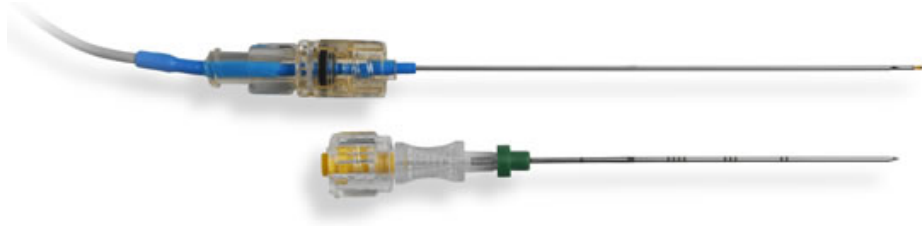
Resim 6: Tavşan anatomisi, daire içinde yakın plan İVD yerleşimi gösterilmiştir



Resim 7: Disk mesafesinin ortaya konması(Beyaz ok)



Resim 8: Disk mesafesinin ortaya konması (yakın plan)



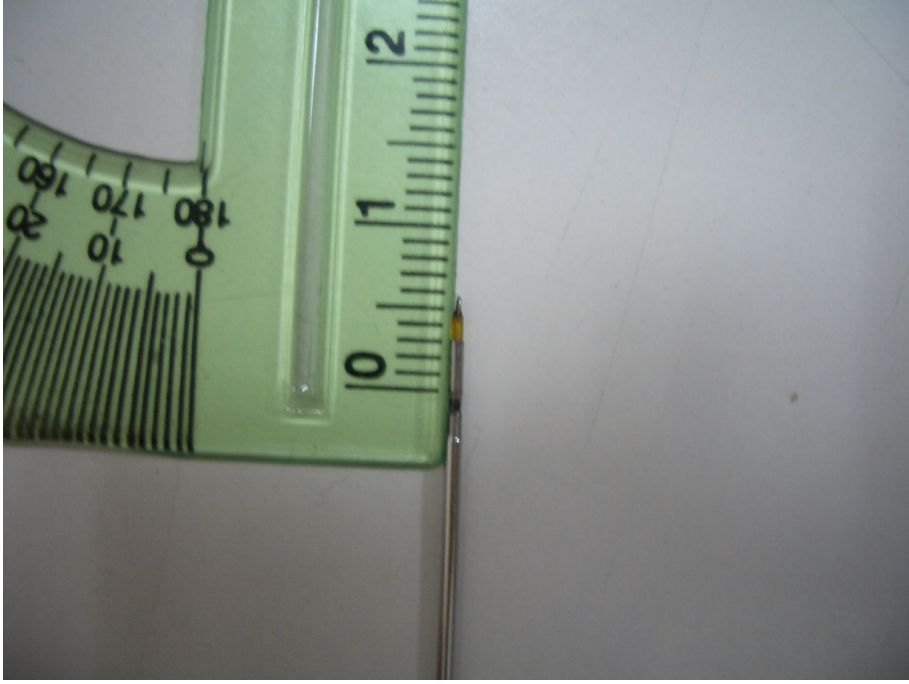
Resim 9: Servikal RF için kullanılan kılavuz iğne 19 gouge ve yakma ucu (prob)



Resim 10: RF için kullanılan NPL cihazı



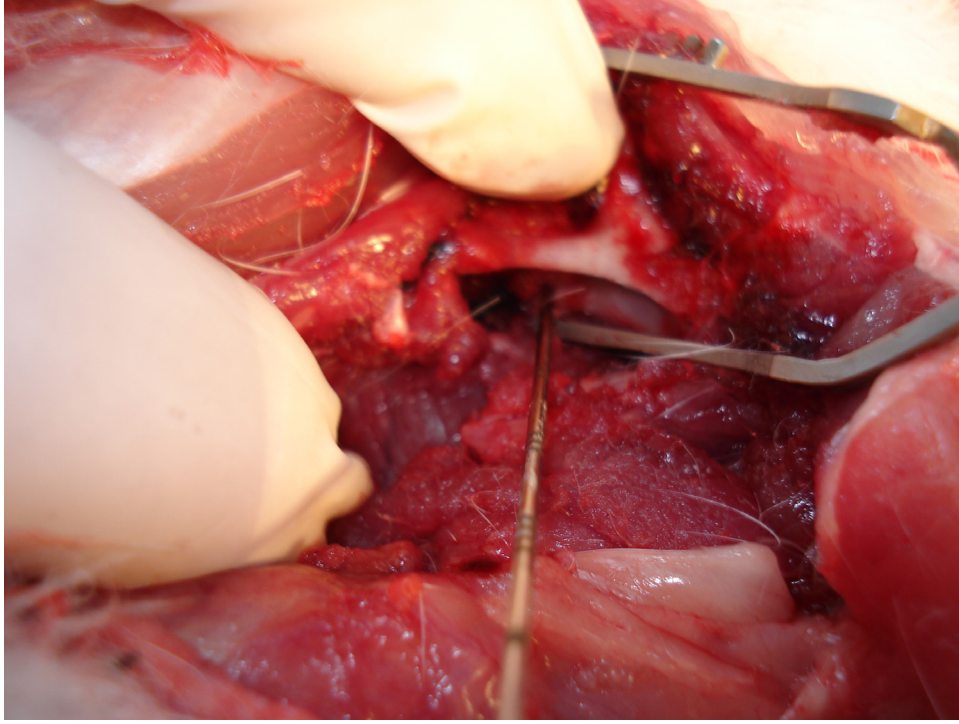
Resim 11: RF için kullanılan NPL cihazı ayak ile kontrol paneli



Resim 12: NPL probunun kılavuz iğne içindeki pozisyonu



Resim 13: NPL kılavuz iğnesinin disk içine yerleştirilmesi



Resim 14: NPL probunun kılavuz iğne içinden disk mesafesine ilerletilmesi



Resim 15: Sakrifiye edilen tavşanın vertebral kolonu blok şeklinde çıkartılmış



Resim 16: Kunt diseksiyon ile vertebral kolondan ayrılmış İVD

BULGULAR

NÖROLOJİK İZLEM

Araştırmaya dahil edilen 18 tavşanın cerrahi işlem başlamadan önce yapılan nörolojik incelemeleri tamamen normal olarak değerlendirildi. Operasyon sonrası uyanma süreleri sonunda tüm tavşanlara nörolojik muayene yapıldı, tavşanlar takip süresince günlük olarak kontrol edilip yara yerleri, ateş takipleri ve nörolojik muayeneleri değerlendirildi. İki grupta işleme tabi tutulan tüm tavşanlarda postoperatif erken dönemde ve izlem süresince herhangi bir nörolojik defisit gelişmedi. Tavşanlar, Modifiye Tarlov Nörolojik Değerlendirme Sistemi göre (**Tablo 3**) sakrifiye oldukları güne kadar nörolojik olarak defisitsiz olarak (Tarlov derece 5) izlendi.

DERECE 1	KOMPLET PARAPLEJİ, ALT EKSTREMİTELERDE HİÇ HAREKET YOK
Derece 2	Alt ekstremitelerde az / önemsiz hareket varlığı
Derece 3	Ayakta durabilme yeteneği
Derece 4	Yürüyebilme yeteneği
Derece 5	20 derecelik düzleme tırmanabilme yeteneği

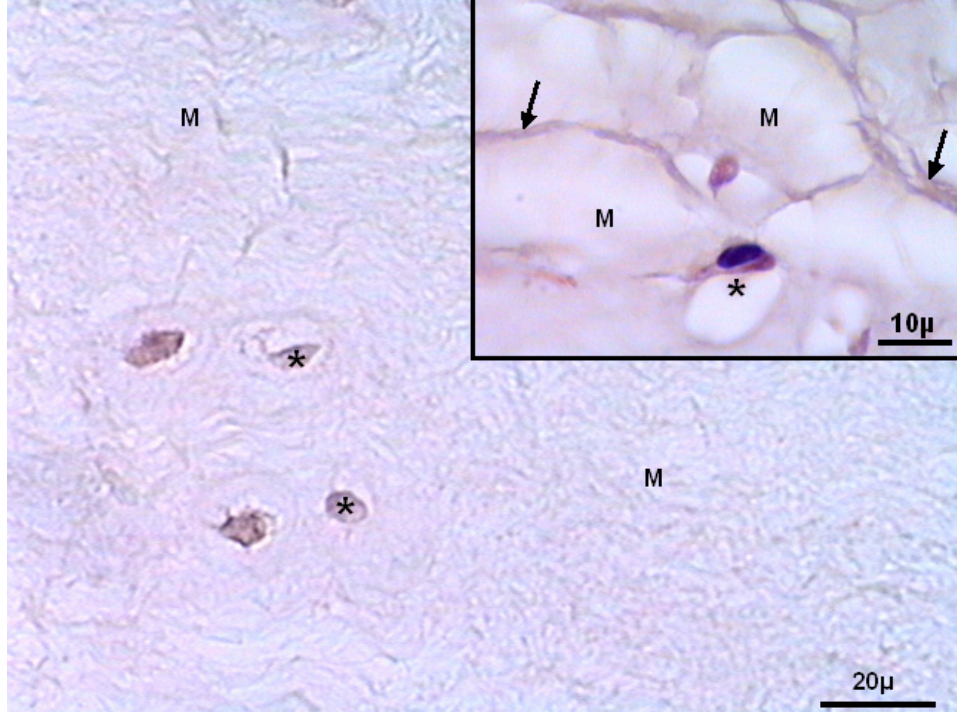
Tablo 3 : Modifiye Tarlov Nörolojik Değerlendirme Sistemi

HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

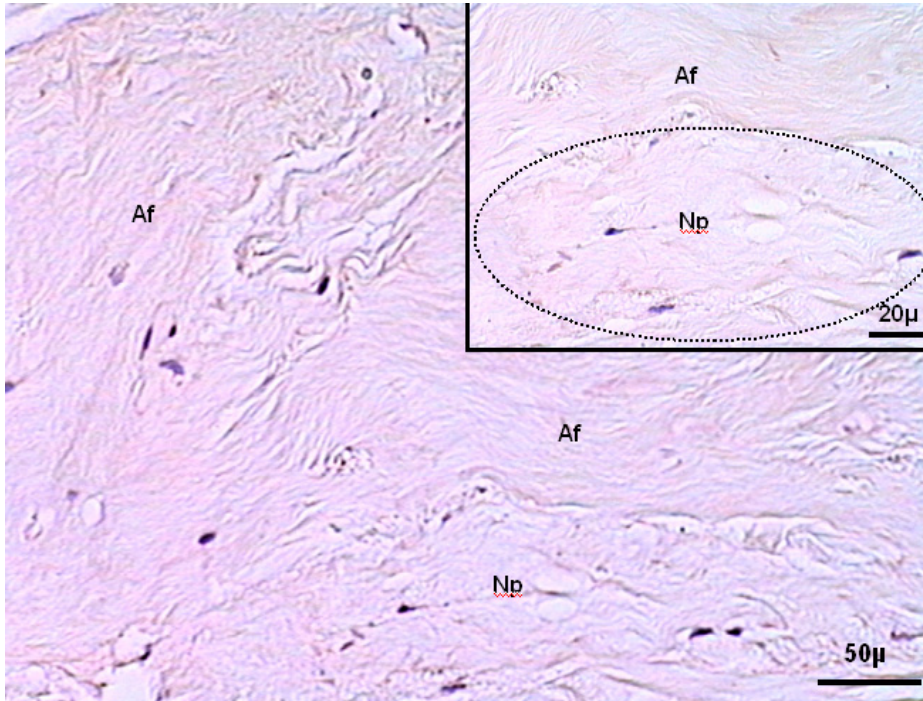
•**Kontrol Grubu:** İncelenen tüm doku örnekleri normal disk dokusu özelliklerinin histolojik bulgularını göstermekteydi. Nükleus pulpozus gevşek, homojen matriksi ve hiposellüler karakteriyle olağandı. Az sayıda düzgün sınırlı veziküler hücreler ve çekirdekleri olağandı (**Resim 17**). Anulus fibrozusun homojen, bütünlüğü bozulmamış düzenli kollogen demetleri ile sağlam mikromorfolojisi gözlemlendi (**Resim 18**).

•**15. gün deney grubu:** Anulus fibrozusun devamlılığı sıkça izlenen ayrılmalar nedeniyle bozulmuş olarak gözlemlendi. Doku boyanması homojen değildir ve reaksiyoner hücre artışı belirgindir (**Resim 19**). Nükleus pulpozusta ise matrix homojenitesini yitirmiş yer yer ikili üçlü gruplar oluşturan kondrositler izlenmektedir. Büyük büyütmelelerde her iki alanda da kalın düzensiz yerleşimli kollagen demetleriyle karakterize fibröz bantlar gözlemlendi (**Resim 20**). Bu gruptaki incelenen tüm dokular karşılaştırıldığında anlamlı bir histolojik farklılık gözlenmedi.

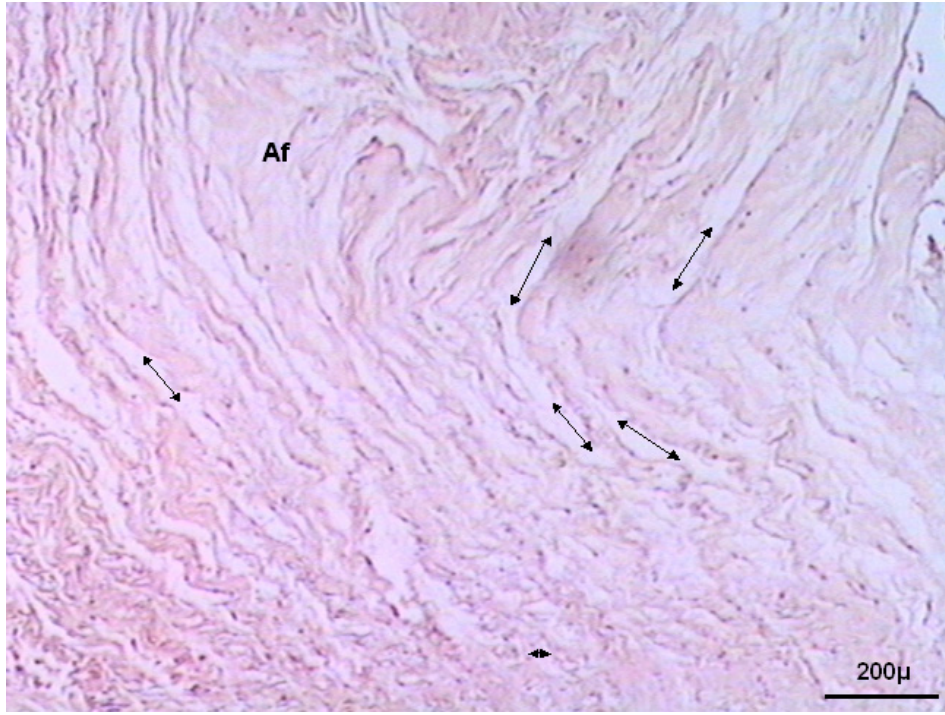
•**30. gün deney grubu:** Dejenerasyona giden disk bulguları ile uyumlu görüntüler elde edildi. Nükleer matrix heterojen, yer yer ayrılmalarla karakterizeydi. Hücre sayısı 8 li 10 lu gruplar oluşturan kondrositler, perisellüler ödem ve tektük nekroza giden piknotik hücre izlendi (**Resim 21**). Kalın demetler oluşturan fibrotik alanlar nedeniyle sağlıklı görünümünden uzaktı. Anulus fibrozusta ise ayrılmalar artmış, fibroblastik aktivite ve neovaskülarizasyon gözlenmektedir (**Resim 22-23**). Bu grupta da incelenen tüm dokularda RF uygulanan gruplarda görülen neovaskülarizasyon dışında her üç grup içinde benzer mikroskobik bulgular gözlemlenmiştir.



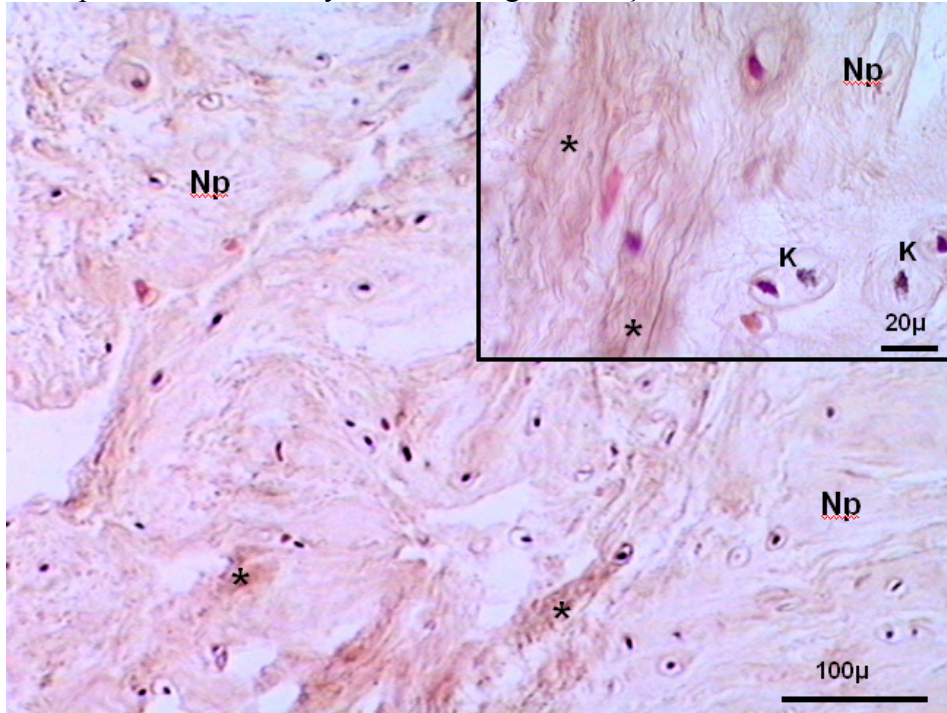
Resim 17: Kontrol grubundan alınan örnekte N.P'dan geçen kesit düzlemi ; Sağlıklı homojen boyalı gevşek matriks az sayıda hücre gözleniyor. Büyük büyütmede elde edilen küçük fotoğrafta veziküler balonsu sitoplazmalı hücre ve çekirdeği (*) çevredeki gevşek matrikste kollagen demetler(ok). Matriks (M)



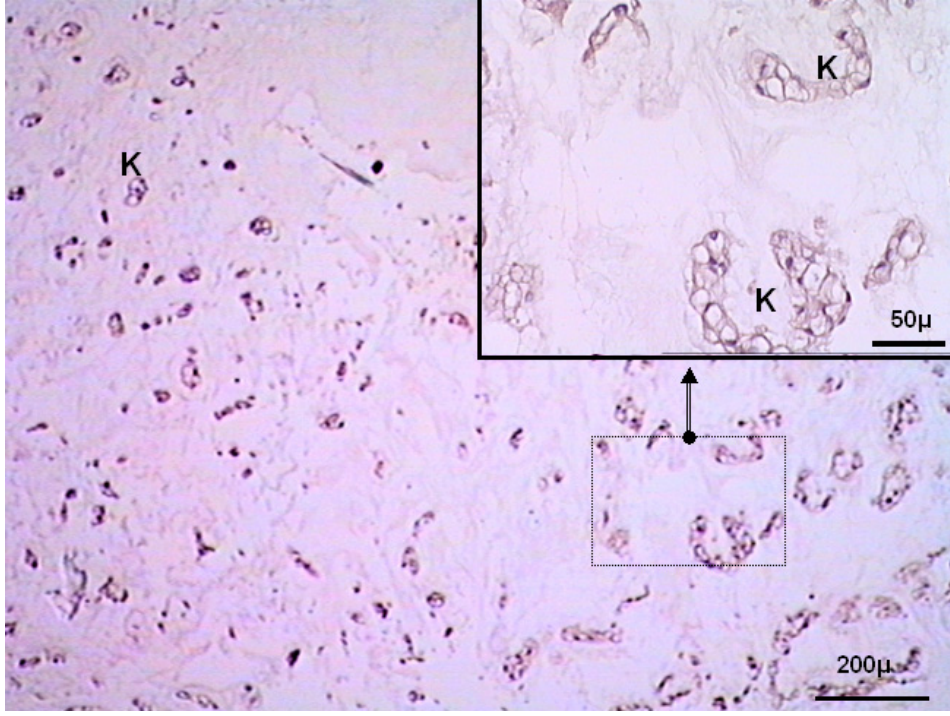
Resim 18: Kontrol grubu A.F; fibröz kıkırdak özellikleri gösteren yoğun demetlenmiş sıkı düzenlenimli kollagen bantların görünümü (Af). NP ile devam eden bileşke bölgesi (Küçük resim Kesik çizgili alan)



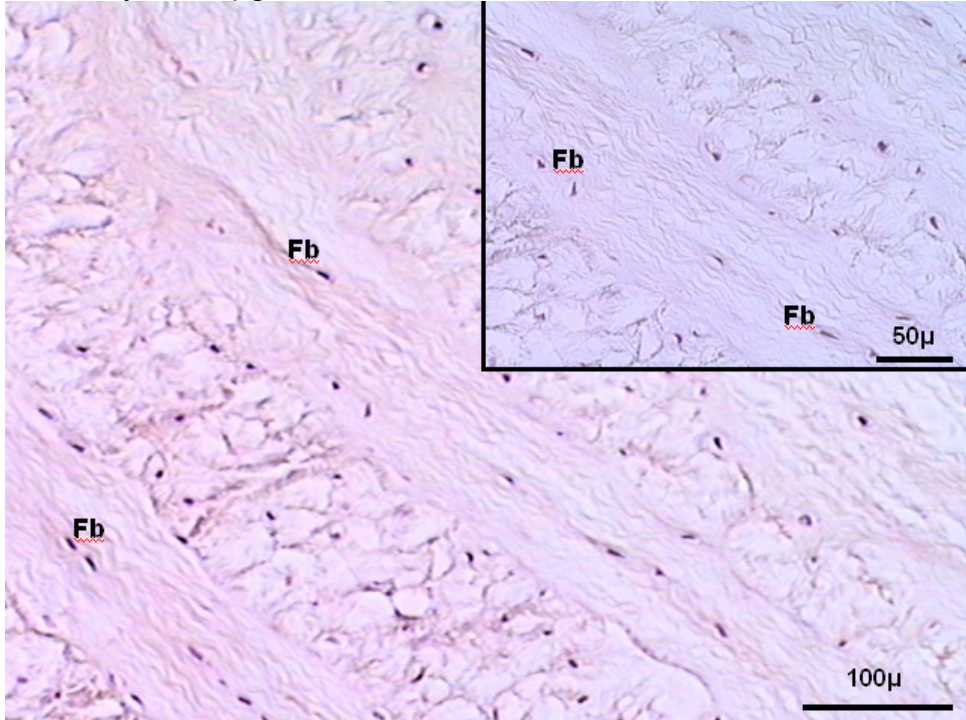
Resim 19: Deney grubu 15. gün AF; Anulusda ayrılmalar (↔) hipersellülarite ve boyanma farklılığı dikkat çekici



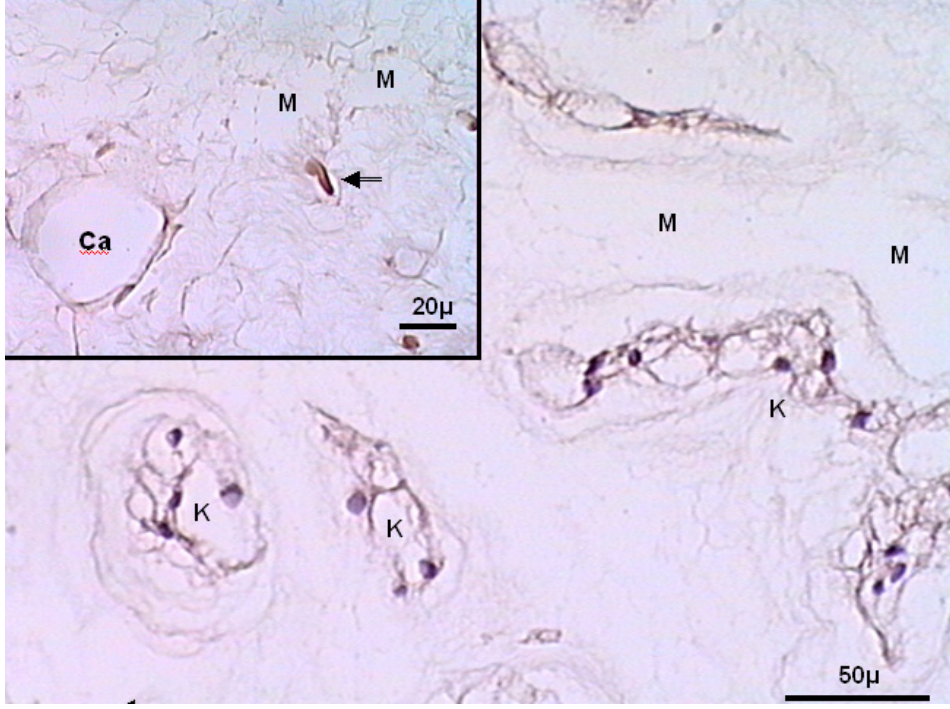
Resim 20: Deney grubu 15. gün Nucleus pulposus: NP'da homojen boyanmayan, düzensiz matrikste kaba fibriler yapı ile karakterize kollajen artışı (*) hipersellülarite gözlenmekte. Küçük resimde daha yakından bakıldığında yeni oluşan kondrositlerin(K) ikili grupları yapması dikkat çekici.




Resim 21: Deney grubu 30. gün NP; Dejenere diskte homojen olmayan gevşek matrixte yoğun hücre proliferasyonu gruplar oluşturan kondrositler (K) küçük resim kesik çizgili alanın büyütülmüş görünümüdür.



Resim 22: Deney grubu 30. gün AF; İleri derecede dejenerasyon gösteren intervertebral disk dokusunda kollagen prekürsörü genç fibroblastlar (Fb) ve düzensiz matriks gözlenmekte.



Resim 23: Deney grubu 30. gün seviye 2 ile RF uygulanan İVD dokusu; Dejenere diskte gruplaşan kondrositler (K) düzensiz matriks gözlenmekte. Küçük resimde gözlenen kapiller (Ca) kesiti ve nekroza giden perisellüler ödemli hücre  ile matriksdeki ayrılmalar (M) dikkat çekici

BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Kontrol grubu olarak seçilen 2 tavşandan birinden elde edilen 3 disk dokusu cerrahi işlemi takiben biyokimyasal çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilimdalın' a gönderilerek laboratuarda işleme tabi tutulmuştur. Her bir disk materyali 3 eşit parçaya bölünerek yaş ağırlığı ölçülüp desikatör içerisinde kurutuldu. Kuru dokunun ağırlığı tekrar ölçüldü ve nükleus su içeriği ıslak disk ağırlığının yüzdesi olarak : $100X \text{ (Islak ağırlık-kuru ağırlık) / Islak ağırlık}$ hesaplandı, kollajen, mg yaş doku ağırlığı başına, sGAG ise yaş doku ağırlığının yüzde sGAG içeriği olarak hesaplandı ölçüm değerleri **Tablo 4** de verilmiştir.

GRUP 4	sGAG (%)	KOLLAJEN (mg)	NÜKLEUS SU İÇERİĞİ (%)
1	25,88	293,78	17,4
2	21,09	206,79	23,71
3	17,11	170,14	20,09

Tablo 4: Kontrol Grubundan elde edilen normal disk dokusunun biyokimyasal özellikleri

Tavşanların L4-5 disk mesafesine sadece RF için kullanılan NPL probunun içinden geçtiği klavuz iğne ile girildi (Grup 1) ve 30. gün sonunda İVD materyalleri incelenerek nükleus su içeriği, K ve sGAG değerleri ölçüldü sonuçlar **Tablo 5** de belirtilmiştir.

GRUP 1 Denek sıra No	sGAG (%)	KOLLAJEN (mg)	NÜKLEUS SU İÇERİĞİ (%)
1	14,95	176,21	63,14
2	6,4	125,32	64,1
3	32,63	258,55	51,45
4	23,71	78,46	49,98
5	28,29	221,74	75,53
6	24,76	159,84	54,37
7	15,63	112,25	47,05

Tablo 5: Grup 1 (İğne ile dejenerasyon) biyokimyasal sonuçları

L2-3 disk mesafesine Seviye 2’de RF uygulanan tavşanlar Grup 2 de değerlendirildi. 30. gün sonunda İVD materyalleri incelenerek nükleus su içeriği, K ve sGAG değerleri ölçüldü sonuçlar **Tablo 6** da verilmiştir.

GRUP 2 Denek sıra No	sGAG (%)	KOLLAJEN (mg)	NÜKLEUS SU İÇERİĞİ (%)
1	30,49	60,8	58
2	31,33	84,61	52,53
3	21,14	62,2	63,45
4	25,96	99,67	74,67
5	27,26	42,82	63,03
6	23,66	57,4	60,95
7	20,89	97,42	60,69

Tablo 6: Grup 2 (seviye 2 de RF uygulama) biyokimyasal sonuçları.

Tavşanların L3-4 disk Seviye 3’de RF uygulanan tavşanlar Grup 3 de değerlendirildi. İnter vertebral disk materyalleri 30. gün sonunda incelenerek nükleus su içeriği, K ve sGAG değerleri ölçüldü sonuçlar **Tablo 7** da verilmiştir.

GRUP 3 Denek sıra No	sGAG (%)	KOLLAJEN (mg)	NÜKLEUS SU İÇERİĞİ (%)
1	17,79	106,93	71,89
2	15,38	83,42	62,58
3	26,4	241,54	66,66
4	17,63	82,43	67,57
5	21,43	246,25	73,48
6	26,92	159,17	63,76
7	17,56	98,85	53,58

Tablo 7: Grup 3 (seviye 3 de RF uygulama) biyokimyasal sonuçları.

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel değerlendirmede nükleus su içeriği (ıslak disk ağırlığının yüzdesi olarak : $100X$ (Islak ağırlık-kuru ağırlık)/Islak ağırlık), K (mg yaş doku ağırlığı başına), sGAG (yaş doku ağırlığının yüzde sGAG içeriği)ölçüm değerleri temel alınmıştır.

Tüm grupların tanımlayıcı istatistiksel sonuçlarına (Ortalama + standart sapmaları) bakacak olursak;

PARAMETRELER	KONTROL	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3
sGAG	21,4 ± 4,4	20.9 ± 9.0	25.8 ± 4.2	20.4 ± 4.6
Kollajen	223.6 ± 63.5	161.7 ± 63.1	72.1 ± 21.8	145.5 ± 71.9
Nükleus sıvı içeriği	20.4 ± 3.2	57.9 ± 10.1	61.9 ± 6.7	65.6 ± 6.6

Tablo 8: Tüm gruplar için tanımlayıcı istatistiksel sonuçlar .

Kontrol grubuna göre tüm gruplarda K ve nükleus sıvı içeriği ortalamaları karşılaştırıldığında belirgin bir azalma izlenirken, sGAG ortalama değeri kontrol grubu ile kıyaslandığında Grup 1 ve 3 de çok hafif azalırken grup 2' de artış bile göstermiştir.

Grup sayılarının üçten fazla olması, her grupta denek sayısının 30' un altında kalması, gruplar arası ölçüm değeri bulunması , bağımsız gruplar olması nedeni ile yapılan Kruskal – Wallis varyans analizi ile dört grup karşılaştırıldığında K ($p= 0,008$) ve nükleus sıvı içeriği ($p= 0;02$) açısından anlamlı fark saptanırken sGAG değeri ($p= 0,367$) açısından anlamlı bir fark izlenmemiştir. Kontrol gurubu dışarıda bırakıldığında Üç grup için K ($p= 0.012$)' de istatistiksel açıdan anlamlı fark izlenirken nükleus sıvı içeriği ($p= 0,228$) ve sGAG ($p= 0,272$) değeri açısından anlamlı bir fark izlenmemiştir.

İkili grupların değerlendirilmesi, gruplarda ölçüm değeri olması, bağımsız gruplar olması ve her grupta denek sayısının 30'un altında kalması nedeni ile non-parametrik olarak değerlendirildi. Mann – Whitney U testi ile kullanıldı;

Birinci grup ile ikinci grubu karşılaştırdığımızda K (p= 0,004) miktarı istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, sGAG (p= 0.406) ve nükleus su içeriğinde (0,482) istatistiksel olarak bir fark saptanmamıştır .

Birinci grup ile üçüncü grup karşılaştırıldığında K (p= 0,482) ,sGAG (p= 0949) ve nükleus su içeriğinde (0,142) istatistiksel olarak bir fark saptanmamıştır.

Birinci grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında nükleus su içeriğindeki (0,017) azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunurken K (p= 0,210) miktarı ve sGAG (p= 0.909) değerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

İkinci grup ile üçüncü grup karşılaştırıldığında K (p= 0,025) miktarları istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, sGAG (p= 0.064) ve nükleus su içeriğinde (0,180) istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır .

İkinci grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında K (p= 0,017) ve nükleus sıvı içeriği (p= 0,017) istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, sGAG (p= 0.138) değeri açısından istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır

Üçüncü grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında nükleus sıvı içeriği (0,017) istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, sGAG (p= 0.909) ve K (p= 0,138) miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır .

TARTIŞMA

Dejeneratif disk hastalığı , disk dokusunun morfolojik ve biyokimyasal yapısındaki değişikliklerin klinik olarak ağrı oluşturması ile karakterize olan bir hastalıktır. DDH'nin sadece yaşlı bireylerde değil aynı zamanda genç erişkin grupta da ortaya çıkması mümkündür. Bunun en önemli sebebi İVD'nin, fiziksel zorlanmalar (sigara, vibrasyon) ve genetik şartlardan kötü yönde etkilenmesi gösterilebilir (15,93,110,111).

İnsanların %90'nı erişkin yaşamlarında en az bir kez bel ağrısı çekmektedir ve bel ağrısının en önemli kaynağı DDH'dır (38,6). Disk dejenerasyonu bir çok vakada asemptomatik olmakla birlikte (21), semptomatik hale gelerek siyatalji ve disk herniasyonu ile ilişkili olabilmekte. Ciddi iş kaybı ve sağlık giderine yol açan DDH'nin önlenmesi ve tedavi stratejilerinin belirlenmesi giderek önem kazanmaktadır.

Dejeneratif disk hastalığının bu kadar yaygın izlenmesi ve bilinen tedavi yöntemlerinin pahalı olması ve morbidite oranları nedeni ile sürekli yeni arayışları gerektirmiştir. Bu konuda son yıllarda dejenerasyonu durdurmaya yönelik hücre nakillerini de içeren biyolojik tedavi yöntemleri giderek daha fazla araştırılmaya başlanmıştır (5). Tüm bu nedenlerle sürekli olarak laboratuvar çalışmaları yapılmış ve çeşitli yöntemler kullanılarak (iğne atırma, bistüri sokulma, kemopapain verilmesi, camptotekin verilmesi vb.) deneysel disk dejenerasyonu modelleri oluşturulmuştur. Ancak şimdiye kadar yapılan çalışmalarda standart bir yöntem kullanılmamış olup yaygın olarak kabul gören iğne batırma tekniğinde (155,123) iğnenin kalınlığı, sokulma miktarı, uygulama kuvveti gibi standartize edilemeyen yanlar bulunmaktadır. Yine kemopapain ve camptotekin verilirken verilmiş dozu ve miktarıda önem kazanmaktadır (155,123). Bu nedenle standart bir yakma derecesi ile dejenerasyonun daha çabuk sürede gösterilebildiği, etkin, kolay uygulanabilir, güvenli bir hayvan modeli oluşturulması hedeflenmiştir. Bu amaçla NPL için kullanılan RF cihazının sabit ısı dereceleri kullanılmıştır. Yine iğne sokulması ile dejenarsayonun olduğu göz önüne alındığında bu modelde sadece yakıcı probun İVD içine sokulması kemopapain ve camptotekin verildiği modellerine göre üstünlük taşımaktadır.

Lipson ve Muir'in klasik saplama modeli IVDD ile ilgili mevcut hayvan modellerinin en iyi bilinenlerindedir. AF'nin 11 nolu bistüri ile ventralden tam kat 5mm derinliğe kadar delinmesi ile insan İVD'inde görülen benzer histolojik ve biyokimyasal

değişiklikler izlenmiş. Lipson ve Muir'in çalışmasında disk dejenerasyonunun başlangıcında sıvı mekaniğinin bozulduğu öne sürülmüştür (98). Lipson ve Muir'in yaptığı çalışmada İVD'in tam kat bistüri ile kesilmesi herniasyona neden olarak disk dejenerasyonu yaratmıştır, bizim çalışmamızdaki disk dejenerasyonunda NP dışarı herniye olmadan RF ile dejenerasyon yapılmaya çalışılmıştır.

Literatürde disk dejenerasyonu için bir çok yöntem kullanılmıştır. Bistüri ile saplama (98), diske iğne ile ponksiyon ,aspirasyon (123), kamptotekin injeksiyonu (123), kemopapain (kimyasal liziz yapan bir ajan) injeksiyonu (124). İntradiskal elektrotermal terapi (51) uygulanmış. Yung Chen kadavra üzerinde yaptığı bir çalışmada RF kullanmış (186) ancak tavşan üzerinde RF uygulanarak gösterilmiş bir disk dejenerasyon modeli yoktur. Bu açıdan dejenerasyonu ortaya koymada yeni bir hayvan modeli oluşturulmuştur.

Çalışmamızda dejenerasyon oluşturmak için kullandığımız RF seviye II ve III ' de kullanılmıştır. Her bir seviye için bir saniye (tek şut) koagülasyon uygulanmıştır, böylece minimum dozda yaratılmış dejenerasyonu incelemek mümkün olmuştur. İleride yapılacak çalışmalarda fazla sürede koagülasyon ve veya ablasyon kullanılarak disk dejenerasyonunu belki daha kısa sürede göstermek mümkün olabilir bu açıdan yarattığımız hayvan modeli daha da geliştirilebilir.

IVDD için iyi bir hayvan modeli söz konusu olduğunda aşağıdaki faktörler göz önüne alınmalıdır:

- 1) Hayvan kolay ulaşılabilir olmalı ve pahalı olmamalıdır.
- 2) Disk cerrahiye uygun olmalı ve fazla küçük olmamalıdır.
- 3) Disk dejenerasyonu hızlı başlamalı ve güvenilir olmalıdır.

Literatüre bakıldığında rat, koyun, domuz, köpek gibi hayvanların deney hayvanı olarak seçildiğini görmekteyiz (124, 74, 123 , 152, 62). Domuz, koyun ve köpek gibi hayvanların deney hayvanı olarak büyük olmaları ve rahat radyoloji tetkikleri yapılabilme avantajlarının yanı sıra, maliyetlerinin yüksek ve bakım güçlüğü göstermeleri, ratların İVD çalışması için küçük olması nedenleri ile; bu çalışmada kolay temin edilmeleri, maliyetlerinin düşük, bakımlarının daha kolay olmaları ve daha önce disk dejenerasyonun gösterilebildiği tavşanlar denek olarak kullanılmıştır.

Keun Su Kim ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Tavşan İVD'inde L2-3'e 23gouge iğne ile camptotekin (apoptotik kimyasal materyal) injeksiyonu, L3-4'e 21

gouge iğne ile nükleus aspirasyonu, L4-5' e birden fazla anulus ponksiyonu ,L5-6'ya 18 gouge iğne ile bir anulus ponksiyonu uygulanmış, tavşanlar 12 hafta sonunda öldürülmüş sGAG, yaş ağırlık yüzdesi ve MRG ile dejenerasyon değerlendirilmiş. 21 gouge 3 ponksiyon ve 18 gouge tek ponksiyon ile en belirgin disk dejenerasyonu izlenmiş (123). Erken dönemde ponksiyon deliğinden taze nükleus materyali izlenmiş ve bu herniasyonun oluşturduğu sGAG ve su kaybının diskte dejenerasyonu oluşturduğu belirtilmiştir. Ancak bu tek başına disk dejenerasyonunu açıklamaz. Çünkü aynı zamanda K kaybının' da hidrostatik basınç azalmasına yol açarak PG ve K azalmasına neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle bizim çalışmamızda dejenerasyonun spesifik parametreleri değerlendirmeye alınmıştır ve hem Tip II K, hem de sGAG ve nükleus sıvı içeriği miktarları çalışılmıştır. Histopatolojik inceleme ile disk dejenerasyonu çok yönlü ele alınmış, böylece dejenerasyonu değerlendirmek daha kolay olmuştur.

Keun Su Kim ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sGAG 12 hafta sonunda yapılan değerlendirmede dejenerasyon kanıtı olarak azalmıştır (123). Bizim yaptığımız çalışmada 4. haftadaki değerlendirmede en az değişiklik sGAG miktarında olmuştur; bu nedenle erken dejenerasyonu değerlendirmede sGAG yerine K, nükleus sıvı içeriği ve histopatolojik çalışma daha uygun olacaktır.

Yine yukarıdaki literatürlerde' de belirtildiği gibi genel olarak yapılan hayvan çalışmalarında disk dejenerasyonu uzun süreli takipler ile gösterilmeye çalışılmış. Bu çevresel etkenlerden kolay etkilenen tavşanların yaşatılması açısından çalışmanın geleceğini riske sokmaktadır, dejenerasyonun bu kadar uzun sürede gösterilmesi son zamanlarda eğilim arttığı mezenşimal hücre çalışmaları ile disk rejenerasyonu çabalarında kullanılmak üzere disk dejenerasyonun daha kısa sürede gösterilebildiği standart ve kolay uygulanabilir bir hayvan modeline ihtiyaç duyulmaktadır. Mevcut çalışmalar bu konuda yetersiz kalmaktadır.

Histopatolojik inceleme ise iki grup halinde yapılmış olup 15. günde bile dejenerasyon kanıtları gösterilebilmiştir. Denek sayımız az olduğu için biyokimyasal inceleme 15. günde yapılamamıştır belki 15. günde yeterli hayvan sayısı ile yapılacak biyokimyasal değerlendirme histopatolojik çalışmayı destekleyebilir.

Yaptığımız çalışmada tüm parametrelerde dejenerasyon lehine azalmalar elde edilmekle birlikte kontrol gurubuna göre, K' da istatistiksel açıdan en fazla anlamlı

azalma seviye 2 ile koagülasyon yaptığımız grup 2 de , nükleus sıvı içeriğinde ve sGAG değerinde en fazla azalma seviye 3 ile koagülasyon uyguladığımız grup 3 de izlenmiştir. K ve nükleus sıvı içeriği birlikte yalnız grup 2 de azalmıştır. Histopatolojik inceleme hem 15. günde hem de 30. günde dejenerasyon kanıtı sunması ile modelimize oldukça değerli katkılar yapmıştır. Histopatolojik açıdan gruplar arasında en belirgin fark grup 2 ve 3 de izlenmiş olup 30. günde neovaskülarizasyon tespit edilmiştir iğne ile İVD'e girilen grup 1 de bu özellik görülmemiştir. Neovaskülarizasyonun ısının damarlanmayı artırıcı etkisine bağlı olarak geliştiğini düşünmekteyiz.

Çalışmada RF uygulama süresi minimum olup daha uzun sürede koagülasyonun disk dejenerasyonunu daha kısa sürede gerçekleştireceği ve dejenerasyon kanıtlarının daha belirgin olabileceği görüşündeyim. Bunların yanı sıra iğne ile girilen grupta bile koagülasyon uygulanan gruplardaki gibi dejenerasyon göstermesi disk bütünlüğünün herhangi bir şekilde bozulmasının dejenerasyon sürecini başlatacağı açıktır. Ancak amacımız dejenerasyonun hızlı, güvenilir ve standart koşullarda oluşturulması olduğu için RF ile uygulanan koagülasyonun yarattığı dejenerasyon daha önemlidir ve çalışmamızın' da temelini oluşturmaktadır.

SONUC

Radyofrekans ile disk dejenerasyonu oluşturulmuş tavşan İVD'nin biyokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirildiği ve yeni bir hayvan modeli oluşturmayı planladığımız çalışmada; İstatistiksel değerlendirmede nükleus su içeriği (ıslak disk ağırlığının yüzdesi olarak : $100X$ (Islak ağırlık-kuru ağırlık)/Islak ağırlık), K (mg yaş doku ağırlığı başına) sGAG (yaş doku ağırlığının yüzde sGAG içeriği) ölçüm değerleri temel alınmıştır. Her üç parametre kendi aralarında karşılaştırıldığında en anlamlı azalma K'de elde edilirken kontrol gurubuna göre kıyaslandığında K'deki azalma en fazla seviye 2 de RF uygulanan grupta , nükleus sıvı içeriğinde azalma seviye 3 de koagülasyon yapılan grupta izlenmiştir. sGAG değeri açısından gruplar arasında anlamlı bir azalma izlenmemiştir. Yapılan histopatolojik incelemede 15.günde AF'un devamlılığı sıkça izlenen ayrılmalar nedeniyle bozulmuş olarak gözlemlendi. Dokunun homojenitesini kaybettiği ve reaksiyoner hücre artışı izlendi NP'da ise matriks homojenitesini yitirmiş yer yer ikili üçlü gruplar oluşturan kondrositler kalın düzensiz yerleşimli kollagen demetleriyle karakterize fibröz bantlar gözlemlendi. Otuzuncu günde nükleusta hücre sayısı 8 li 10 lu gruplar oluşturan kondrositler, perisellüler ödem ve tektük nekroza giden piknotik hücre izlenirken AF'da ayrılmalar artmış, fibroblastik aktivite ve neovaskülarizasyon izlendi.

Doku mühendisliği ve moleküler biyolojideki ilerlemeler DDH tedavisinde yeni imkanlar sağlayıp İVD'in direk kendine yönelik yeni tedavi stratejilerinin gelişmesine olanak sağlayacaktır. Bu konuda yapılan çalışmalarda büyüme faktörü (159, 161), gen tedavisi (120, 119, 179), hücre tedavisi (62) ve doku mühendisliği (149) bulunmaktadır. Yapılan tüm çalışmalar bu konuda ümit vericidir. Labaratuardan kliniğe katkı sağlayacak IVDD' nin patogenez ve tedavisine ışık tutacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yaptığımız bu çalışma ile IVD'de RF ile standart, dejenerasyonun daha kısa sürede gösterildiği, güvenilir, kolay uygulanabilir bir hayvan modeli oluşturduğumuz kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Abdullah A, Ditto EW: Extremite-Lateral lumbar disc herniations. *J Neurosurg* , 1974 41: 229-234
2. Adams M, Hutton W: The relevance of torsion to the mechanical derangement of the lumbar spine. *Spine* , 1981 6:241-248
3. Adams MA, McNally DS, Dolan P: 'Stress' distributions inside intervertebral discs. The effects of age and degeneration. *J Bone Joint Surg Br* ,1996 78:965–972
4. Akeson W.H., Amiel D., Gershuni D.H.: Articular Cartilage physiology and metabolism, IN: Rescnik D. (ed) *Diagnosis of bone and joint disorders*, 3rd. Ed., chap.23, W.B. Saunders comp., Philadelphia, , 1997 769-790
5. An HS, Thonar EJ-MA, Masuda K. Biological repair of intervertebral disc. *Spine* 2003;28(15S):S 086-92
6. Anderson DG, Albert TJ: The molecular basis of intervertebral disk degeneration. *Seminars in Spine Surg* 15:352-360, 2003
7. Anderson G.B.J., Epidemiologic features of chronic low-back pain. *Lancet* 354 (1999), pp. 581–585
8. Andersson GBJ, Chiba K, Masuda K. Metabolism of the extracellular matrix formed by intervertebral disc cells cultured in alginate. *Spine* 1997; 22(24): 2885-2893
9. Antoniou J, Goudsouzian NM, Heathfield TF, et al: The human lumbar endplate. Evidence of changes in biosynthesis and maturation of the extracellular matrix with growth, maturation, aging, and degeneration. *Spine* 1996 21:1153–1161
10. Antoniou J, Steffen T, Nelson F, et al: The human lumbar intervertebral disc: evidence for changes in the biosynthesis and de maturation of the extracellular matrix with growth, maturation, ageing, and degeneration. *J Clin Invest* 98:996–1003
11. Ariga K, Yonenobu K, NAKASE T, Kaneko M, Okuda S, Uchiyama Y, Yoshikawa H: Localization of cathepsins D, K, and L in degenerated human intervertebral discs. *Spine* 2001, 26: 2666-2672

12. Ayad S, Sandel LJ: Collagens of the intervertebral disk: Structure, function and changes during aging and disease. In: Weinstein JN, Gordon SL: Low back pain. AAOS, Rosemont, 1996, pp 539-556
13. Ayad S., Weiss J.B.: Biochemistry of the intervertebral disc, In: The Lumbar spine and back pain, Jayson MIV. (ed), Pitman Medical Pub. 1988 Kent, 100-137
14. Bagby GW. Arthrodesis by the distraction-compression method using a stainless steel implant. *Orthopedics* , 1988 11: 931-934
15. Barnes B, Rodts GE, McLaughlin MR, ve ark. Threaded cortical bone dowels for lumbar interbody fusion: over 1-year mean follow up in 28 patients. *J Neurosurg (Spine 2)* , 2001 94: 1-4
16. Bartels EM, Fairbank JC, Winlove CP, et al: Oxygen and lactate concentrations measured in vivo in the intervertebral discs of patients with scoliosis and back pain. *Spine* 1998 23:1-8
17. Battie MC, Videman T, Gibbons LE, Fisher LD, Manninen H, Gill K. 1995 Volvo Award in clinical sciences. Determinants of lumbar disc degeneration. A study relating lifetime exposures and magnetic resonance imaging findings in identical twins. *Spine* 1995;20:2601-12
18. Bayyliss MT, Jhonestone B, O'Brein JP: Proteoglycan synthesis in the intervertebral disc: Variation with age, region and pathology. *Spine* , 1998 13:972-981
19. Berlemann U, Gries NC, Moore RJ, et al. Calcium pyrophosphate dihydrate deposition in degenerate lumbar discs. *Eurospine*. 1998;7:45-49
20. Bernick S, Cailliet R: Vertebral end-plate changes with aging of human vertebrae. *Spine*: ,1982 7. 97-102
21. Boden SD, Davis DO, Dina TS, Patronas NJ, Wiesel SW: Abnormal magnetic-resonance scans of the lumbar spine in symptomatic subjects. A prospective investigation. *J Bone Joint Surg [Am]* 1990, 72:403-408
22. Bogduk N, Yoganandan N. Biomechanics of the cervical spine Part 3: minor injuries. *Clin Biomech* , 2001 16 (4): 267-75
23. Bogduk N: The anatomy of the lumbar intervertebral disc syndrome *Med J Aust* , 1976 1:878-881

24. 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
25. Brickley-Parsons D, Glimcher M. Is the chemistry of collagen in the intervertebral disc an expression of Wolff's law? A study of the human lumbar spine. *Spine* , 1984 9: 148-163
26. Brown T, Hanson R, Yorra A. Some mechanical tests on the lumbo-sacral spine with particular reference to the intervertebral discs. *J Bone Joint Surg [Am]* , 1957 39: 1135
27. 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
28. Cassidy JD, Wedge JH: The epidemiology and natural history of low back pain and spinal degeneration, In: Kirkaldy-Willis H (ed), *Managing Low Back Pain*, 2nd ed, Churchill-Livingstone, New York , 1998 314
29. Chang H, Park JB, Kim KW. Synovial cyst of the transverse ligament of the atlas in a patient with os odontoideum and atlantoaxial instability. *Spine* 2000;25:741-744
30. Chiba K, Toyama Y, Matsumoto M, et al. Intraspinous cyst communicating with the intervertebral disc in the lumbar spine: discal cyst. *Spine*. 2001;26:2112-2118
31. Comper W, Laurent T. Physiological function of connective tissue polysaccharides. *Physiol Rev* , 1978 58: 255-315
32. Coppes MH, Marani E, Thomeer RT, et al: Innervation of "painful" lumbar discs. *Spine* , 1997 22:2342-2350
33. Cosgrove GR, Theron J: Vertebral arteriovenous fistula following anterior cervical spine surgery. *J Neurosurg*. 1987 66: 297
34. Crean JK, Roberts S, Jaffray DC, Eisenstein SM, Duance VC: Matrix metalloproteinases in the human intervertebral disc: role in disc degeneration and scoliosis. *Spine* 1997, 22:2877-2884

35. Crock HV, Goldwasser M, Yoshizawa H. Vascular anatomy related to the intervertebral disc. In: *Biology of the Intervertebral Disc*. Edited by Ghosh P. Boca Raton: CRC Press; 1991:109-133
36. Crock HV, Goldwasser M: Anatomic studies of the circulation in the region of the vertebral end-plate in adult Greyhound dogs. *Spine* , 1984 9:702–706
37. Deyo RA, Bass JE. Lifestyle and Low-Back Pain: the influence of smoking and obesity. *Spine* 989;14:501-6
38. Deyo RA, Tsui-Wu YJ. Descriptive epidemiology of Low back pain and its related medical care in the United states. *Spine* , 1987 12:264-268
39. Dillin W, Booth R, Cuckler J: Cervical radikulopathy, a reievew. *Spine* , 1986 11: 988
40. Doege KJ, Coulter SN, Meek LM, Maslen K. A human specific polymorphism in the coding region of the aggrecan gene: Variable number of tandem repeats produce a range of core protein sizes in the general population. *J Biol Chem* 1997; 272 (21): 13974-9
41. Duance VC, Crean JK, Sims TJ, Avery N, Smith S, Menage J, Eisenstein SM, Roberts S: Changes in collagen cross-linking in degenerative disc disease and scoliosis. *Spine* 1998, 23: 2545-2551
42. Ege R: Tıp tarihinde vertebranın yeri. Rıdvan Ege (editör): *Omurga*. Türk Hava Kurumu basımevi Ankara,1992 S.1-13
43. Ergüder R, Ayrıl N:Bel ağrıları ve siyatik nevraljilerinde nükleus pulposus fitkının rolü. *Anadolu kliniği* ,1951 17:83-89
44. Ergüder R, Ege R: Ameliyatla tedavi ettiğimiz nükleus pulposus fitiği vakalarımızın hususiyetleri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fak. Mec.* 1956 1:82-106
45. 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
46. Eyre D.R.: The intervertebral disc and spinal disease: Biochemical concepts, İn: Mayer T.G., Mooney V., Gatchel R.J. (eds) *Contemporary conservative care for painful spinal disorders*, Lea&Febiger, Philedelphia, 1991 74-83

47. Eyre DR, Muir H: Quantitative analysis of types I and II collagens in the human intervertebral disc at various ages. *Biochimica et Biophysica Acta* 1977, 492:29-42
48. Ferguson SJ, Steffen T. Biomechanics of the aging spine. *Eur Spine J.* 2003;12(suppl 2):S97-S103.
49. Ford JL, Downes S. Cellularity of human annulus tissue: an investigation into the cellularity of tissue of different pathologies. 2002;41:531-537.
50. Forst JJ: Contribution a l'etude clinique de la sciatique. Paris;doctoral thesis.1880.
51. Freeman, Brian J. C. FRCS: Does Intradiscal Electrothermal Therapy Denervate and Repair Experimentally Induced Posterolateral Annular Tears in an Animal Model? .Lippincott Williams & Wilkins, Inc. 2003 28(23) 1 December 2602-2608
52. Freemont AJ, Peacock TE, Goupille P, et al: Nerve ingrowth into diseased intervertebral disc in chronic back pain. *Lancet* , 1997 350:178–181
53. Frobin W, Brinckmann P, Kramer M, Hartwig E: Height of lumbar discs measured from radiographs compared with degeneration and height classified from MR images. *Eur Radiol* 2001, 11:263-269
54. Fujita K, Nakagawa T, Hirabayashi K, et al: Neutral proteinases in human intervertebral disc. Role in degeneration and probable origin. *Spine* , 1993 18:1766–1773
55. G.B. Andersson, M.D. Brown, J. Dvorak et al., Consensus summary of the diagnosis and treatment of lumbar disc herniation. *Spine* 21 24 suppl (1996), pp. 75S–78S
56. Gadgil AA, Eisenstein SM, Darby A, et al. Bilateral symptomatic synovial cysts of the lumbar spine caused by calcium pyrophosphate deposition disease: a case report. *Spine.* 2002;27:E428-E431
57. Galante,JO:Tensile properties of the human, Lumbar anulus fibrosus. *Acta. Orthop. Scand.*, suppl. 1967 100:1, 91-98
58. Goel VK, Nishiyama K, Weinstein JN ve ark. Mechanical properties of lumbar spinal motion segments as affected by partial disc removal. *Spine* , 1986. 11 (10): 1008

59. Goupille P, Jayson MI, Valat JP, et al: Matrix metalloproteinases: The clue to intervertebral disc degeneration? *Spine* , 1998 23:612-626
60. Gower, WE, Pedrini, V: Age related variations in protein-polysaccharides from human nucleus pulposus. annulus fibrosus nad costal cartilage. *J. Bone Join Surg.* 1969 51A:1154-1162
61. Gries NC, Berlemann U, Moore RJ, et al. Early histologic changes in lower lumbar discs and facet joints and their correlation. *Eup. Spine;* . 2000;9:23-29
62. Gruber HE, Johnson TL, Leslie K, et al. Autologous intervertebral disc cell implantation: a model using *Psammomys obesus*, the sand rat. *Spine* 2002;27:1626–33
63. Hakan Bozkuş ; Baş, Boyun, Bel Ağrıları Sempozyum Dizisi No: 30 • Mart 2002; s. 191-214
64. Hardy RW, Davis CH: Extradural spinal cord and nerve root compression from bening lesions of the lumbar area. *Neuro. Surg.W.B. saunders* 1990.
65. Hatem O, Bedou G, Negre C, et al. Intraspinal cervical degenerative cyst: report of three cases. *J.Neurospine.* 2001;95:139-142.
66. Heliovaara M. Risk factors for low back pain and sciatica. *Ann Med* 1989;21:257-64.
67. Hollander AP, Heathfield TF, Liu JJ, Pidoux I, Roughley PJ, Mort JS, Poole AR: Enhanced denaturation of the alpha (II) chains of type-II collagen in normal adult human intervertebral discs compared with femoral articular cartilage. *J Orthop Res* 1996, 14:61-66.
68. Holm S, Nachemson A: Variations in the nutrition of the canine intervertebral disc induced by motion. *Spine* , 1983 8:866–874
69. Holm S.H: Nutrution the intervertebral disc, İn: *The lumbar spine*, Weinstein J.N., Wiesel S.V.(eds.), W.B. Saunders Comp., Philadelphia, 1990 244-260
70. Horner HA, Urban JP. 2001 Volvo Award Winner in Basic Science Studies: effect of nutrient supply on the viability of cells from the nucleus pulposus of the intervertebral disc. *Spine* 2001;26:2543-9

71. Inkinen RI, Lammi MJ, Lehmonen S, Puustjarvi K, Kaapa E, Tammi MI. Relative increase of biglycan and decorin and altered chondroitin sulfate epitopes in the degenerating human intervertebral disc. *J Rheumatol* 1998;25:506-14.
72. Inoue H: Three-dimensional architecture of lumbar intervertebral discs. *Spine* 1981, 6:139-146.
73. J.E. Wilberger, J.W. Bost and J.C. Maroon, Ambulatory surgery is safe and effective in radicular disc disease. *Spine* 20 7 (1995), pp. 861–862.
74. Jeffrey C.Wang, J. Michael Kabo et al. The effect of uniform heating on the biomechanical properties of the intervertebral disc in a porcine model. *The Spine Journal* 2005 ; 5(1):64-70
75. Johnson SL, Aguiar DJ, Ogilvie JW: Fibronectin and its fragments increase with degeneration in the human intervertebral disc. *Spine* 2000, 25:2742-2747.
76. Johnson WE, Evans H, Menage J, Eisenstein SM, El Haj A, Roberts S: Immunohistochemical detection of Schwann cells in innervated and vascularized human intervertebral discs. *Spine* 2001, 26:2550-2557.
77. Johnstone B, Bayliss MT: The large proteoglycans of the human intervertebral disc. Changes in their biosynthesis and structure with age, topography, and pathology. *Spine* 1995, 20:674-684.
78. Jost SC, Hsien Tu P, Wright NM. Symptomatic intraosseous synovial cyst in the cervical spine: a case report. *Spine*. 2003;28:E344-E346
79. K. Luoma, H. Riihimaki, R. Luukkonen et al., Low back pain in relation to lumbar disc degeneration
80. Kang J, Evans CH: Cytokines, nitric oxide, prostoglandin E2 and idiopathic low back pain. In: *Low back pain*. AAOS, Rosemont, 1996, pp 529-538
81. Kawaguchi H, Osada R, Kanamori M, Ishihara H. Association between an aggrecan gene polymorphism and lumbar disc degeneration. *Spine* 1999; 24: 2456-62.
82. Ketenci A. İntervertebral Diskin Biyokimyası. In: Özcan E, editor. *Bel Ağrısı Tanı ve Tedavisi*. İstanbul: Nobel Kitabevi; 2002. p. 35-41.

83. Kim, Keun Su , Yoon, S Tim : Disc Degeneration in the Rabbit: A Biochemical and Radiological Comparison Between Four Disc Injury Models Spine 2004;30:33-47
84. Kirkady-Willis WH, Wedge JH, Yong-Hing K, Reilly J: Pathology and Pathogenesis of Lumbar spondylosis and stenosis. Spine , 1978 3: 319-328
85. Kirkaldy-Willis WH, Hill RJ. A more precise diagnosis for low back pain. Spine 1979;4:102-9
86. Kirkaldy Willis WH, Farfan HF: Instability of the lumbar spine. Clin Orthop , 1982 165:110-123
87. Kirkaldy-Willis WH: Instability of the lumbar spine. Spine , 1985 10 (3):253-291
88. Kleef M, Bradense GAM Dingemans WAAM, Wingen C, Lousberg R, De Lange S, Sluiter ME, T.W., Percutaneous intra discal radio-frequency thermocoagulation in chronic non-specific low back pain, The pain clinic, 1996 9: (3), 259-268
89. Kleinstueck F.S., C.J. Diederich, W.H. Nau et al., Acute biomechanical and histological effects of intradiscal electrothermal therapy on human lumbar discs. Spine 26 20 (2001), pp. 2198–2207.
90. 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
91. Kontinen YT, Kaapa E, Hukkanen M, et al: Cathepsin G in degenerating and healthy discal tissue. Clin Exp Rheumatol , 1999 17: 197–204
92. Kozak JA, O'Brien JP. Simultaneous combined anterior and posterior fusion: An independent analysis of a treatment for the disabled low back pain patient. Spine , 1990 15: 322-328
93. Kuslich SD, Danielson G, Dowdle JD, ve ark. Four-year follow-up results of lumbar spine arthrodesis using the Bagby and Kuslich lumbar fusion cage. Spine , 2000 25: 2656-2662
94. Kuslich SD, Danielson G, Dowdle JD, ve ark. Four-year follow-up results of lumbar spine arthrodesis using the Bagby and Kuslich lumbar fusion cage. Spine , 2000 25: 2656-2662

95. Kuslich SD, Ulstrom CL, Griffith SL, ve ark. The Bagby and Kuslich method of lumbar interbody fusion. History, techniques, and 2-year follow-up results of a United States prospective, multicenter trial. *Spine* , 1998 23 (11):1267-1279
96. L. Sharps and Z. Isaacs, Percutaneous disk decompression using nucleoplasty. *Pain Physician* 5 (2002), pp. 121–126
97. Larson JS, Maiman DJ: *Surgery of the Lumbar Spine* . Thieme. New York, 1999
98. Lipson SJ, Muir H. 1980 Volvo award in basic science. Proteoglycans in experimental intervertebral disc degeneration. *Spine* 1981;6:194–210
99. Lorenz M, Zindrick M, Schwaegler P, Vrbos L, Collatz MA ve ark. A comparison of single-level fusions with and without hardware. *Spine* , 1991 16: S455-S458
100. Lotz JC, Colliou OK, Chin JR, et al: Compression-induced degeneration of the intervertebral disc: an in vivo mouse model and finite-element study. *Spine* , 1998 23:2493–2506
101. Luoma K, Riihimaki H, Luukkonen R, Raininko R, Viikari-Juntura E, Lamminen A: Low back pain in relation to lumbar disc degeneration. *Spine* 2000, 25:487-492
102. Lyons G, Eisenstein SM, Sweet MB: Biochemical changes in intervertebral disc degeneration. *Biochim Biophys Acta* 1981, 673:443-453
103. Lyons G, Eisenstein SM, Sweet MB: Biochemical changes in intervertebral disc degeneration. *Biochim Biophys Acta* 1981, 673:443-453
104. Marchand F, Ahmed AM. Investigation of the laminate structure of lumbar disc anulus fibrosus. *Spine* 1990;15:402-10
105. Marini JC. Genetic Risk Factors for Lumbar Disk Disease. *JAMA* 2001; 285: 1886-8
106. Markiewicz AD, Boumphrey FR, Bauer TW, et al. Calcium pyrophosphate dihydrate crystal deposition disease as a cause of lumbar canal stenosis. *Spine*. 1996;21:506-511
107. Maroudas A, Nachemson A, Stockwell R, Urban J: Some factors involved in the nutrition of the intervertebral disc. *J Anat* 1975, 120:113-130
108. Martin MD, Boxell CM, Malone DG. Pathophysiology of lumbar disc degeneration: a review of the literature. *Neurosurg Focus* 2002;13(2):1-6

109. Matsui H, Kanamori M, Ishihara H, Yudoh K. Familial predisposition for lumbar degenerative disc disease. *Spine* 1998; 23: 1029-34
110. Mayer HM. A new microsurgical technique for minimally invasive anterior lumbar interbody fusion. *Spine* , 1997 22:691-699
111. McAfee PC, Regan JJ, Geis P, Fedder IL. Minimally invasive anterior retroperitoneal approach to the lumbar spine:Emphasis on the lateral BAK. *Spine* , 1998 23: 1476-1484
112. Miller J, Schmatz C, Schultz A. Lumbar disc degeneration: Correlation with age, sex, and spine level in 600 autopsy specimens. *Spine* 1988;13(02):173-8
113. Morinaga T, Takahashi K, Yamagata M, et al: Sensory innervation to the anterior portion of lumbar intervertebral disc.*Spine* , 1996 21:1848–1851
114. Nachemson A. The load on lumbar discs in different positions of the body. *Clin Orthop* , 1966 45: 107
115. Naderi S, Acar F, Arda MN: History of spinal disorders and cerrahiye tulhaniye: A review of a Turkish treatise written by Şerafettin Sabuncuoğlu in 15th century. *J neurosurgery: Spine* , 2002 96 : 352-356
116. 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
117. Nerlich AG, Boos N, Wiest I, et al: Immunolocalization of major interstitial collagen types in human lumbar intervertebral discs of various ages. *Virchows Arch* , 1998 432:67–76
118. Nerlich AG, Schleicher ED, Boos N. Immunohistologic markers for age-related changes of human lumbar intervertebral discs. *Spine* 1997;22(24):2781-95
119. Nishida K, Kang JD, Gilbertson LG, et al. Modulation of the biologic activity of the rabbit intervertebral disc by gene therapy: an in vivo study of adenovirus-mediated transfer of the human transforming growth factor beta 1 encoding gene. *Spine* 1999;24:2419–25
120. Nishida K, Kang JD, Suh JK, et al. Adenovirus-mediated gene transfer to nucleus pulposus cells. Implications for the treatment of intervertebral disc degeneration. *Spine* 1998;23:2437–42.

121. Oegema TR. Biochemistry of the intervertebra disc. Clin Sports Med , 1993 12: 419-439
122. Ohshima H, Urban JPG. Effect of lactate concentrations and pH on matrix synthesis rates in the intervertebral disc. Spine 1992;17:1079-82
123. Osti OL, Vernon-Roberts B, Fraser RD. 1990 Volvo Award in experimental studies. Anulus tears and intervertebral disc degeneration. An experimental study using an animal model. Spine 1990;15:762-7
124. Ömer BESALTI, Ahmet ÖZAK, Faruk AKIN : Köpeklerde Diskolizis ve Disk Fenestrasyonunun Karşılaştırılması Üzerine Çalışmalar. Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences 23 (1999) 275-283
125. Öztop F:İntervertebral disk nedir?,Ne değildir? İçinde: Özer F(ed.):Lomber disk hastalığı.Logos Tıp yayıncılığı.2001,İstanbul. S:18-38
126. Pai RR, D'sa B, Raghuvver CV, et al. Neovascularization of nucleus pulposus: a diagnostic feature of intervertebral disc prolapse. Eup. Spine; . 1999;24:739-741
127. Palmgren T, Gronblad M, Virri J, et al: An immunohistochemical study of nerve structures in the anulus fibrosus of human normal lumbar intervertebral discs. Spine , 1999 24:2075-2079
128. Panagiotacopoulos ND, Pope MH, Block R et al. Water content in human intervertebral discs. Part II. Viscoelastic behaviour. Spine ,1987 12:918
129. Panagiotacopoulos ND, Pope MH, Block R ve ark. Water content in human intervertebral discs. Part II. Viscoelastic behaviour. Spine , 1987 12: 918
130. Panjabi MM, Brown M, Lindahl S ve ark. Intrinsic disc pressure as a measure of integrity of the lumbar spine. Spine , 1988 13 (8): 913
131. Panjabi MM, Krag MH, Chung CL: Effects of disc injury on the mechanical behavior of the human spine. Spine , 1984 9:707-713
132. Panjabi MM, Pelker RR; White AA: Biomechanics of the spine. Neurosurg, Mc Graw Hill 1985
133. Park JB, Chang H, Kim KW. Expression of Fas ligand and apoptosis of disc cells in herniated lumbar disc tissue. Spine. 2001;26:618-621
134. Pearce RH, Grimmer BJ, Adams ME: Degeneration and the chemical composition of the human lumbar intervertebral disc rupture. Spine , 1993 18:204-210

135. Pearce RH, Grimmer BJ, Adams ME: Degeneration and the chemical composition of the human lumbar intervertebral disc. *J Orthop Res* , 1987 5:198–205
136. Penta M, Fraser RD. Anterior lumbar interbody fusion. A minimum 10-year follow-up. *Spine* , 1997 22: 2429-2434
137. Pirotte B, Gabrovsky N, Massager N, et al. Synovial cysts of the lumbar spine: surgery-related results and outcome. *J Neurosurg Spine*. 2003;99:14-19
138. Pokharna HK, Phillips FM: Collagen crosslinks in human lumbar intervertebral disc aging. *Spine* , 1998 23:1645–1648
139. Porter RW, Thorp L. Familial aspects of disc protrusion. *Orthop Trans* 1986; 10: 524
140. Postacchini F, Belocci M, Massobrio M. Morphologic changes in annulus fibrosus during aging: an ultrastructural study in rats. *Spine* , 1984 9 (6): 596
141. Roberts S, Caterson B, Menage J, Evans EH, Jaffray DC, Eisenstein SM: Matrix metalloproteinases and aggrecanase: their role in disorders of the human intervertebral disc. *Spine* 2000, 25:3005-3013
142. Roberts S, Menage J, Urban JPG: Biochemical and structural properties of the cartilage end-plate and its relation to the intervertebral disc. *Spine* 1989, 14:166-174
143. Roberts S. Disc morphology in health and disease. *Biochem Soc Trans*. 2002;30:864-869.
144. Roughley PJ. Biology of intervertebral disc aging and degeneration: involvement of the extracellular matrix. *Spine*. 2004;29:2691-2699
145. Rydevik B., Holm S.: Pathophysiology of the intervertebral disc and adjacent neural structures. IN: Rothman R.H., Simeone F.A. (eds), *The spine*, chap. 8, 3rd. Ed. , W.B. Saunders comp., Philadelphia, 1996, 181-227
146. Sacks S. Anterior interbody fusion of the lumbar spine. *J Bone Joint Surg [Br]* , 1965;47: 211-223
147. Sahlman J, Inkinen R, Hirvonen T, Lammi MJ. Premature vertebral endplate ossification and mild disc degeneration in mice after inactivation of one allele belonging to the Col2a1 gene for type II collagen. *Spine* 2001; 23: 2558-68

148. Sambrook PN, MacGregor AJ, Spector TD. Genetic influences on cervical and lumbar disc degeneration: a magnetic resonance imaging study in twins. *Arthritis Rheum* 1999;42:366-72
149. Sato M, Asazuma T, Ishihara M, et al. An experimental study of the regeneration of the intervertebral disc with an allograft of cultured annulus fibrosus cells using a tissue-engineering method. *Spine* 2003;15:548–53
150. Savontaus M, Metsaranta M, Vuorio E. Mutations in type II collagen disturbs spinal development and gene expression patterns in transgenic Del 1 mice. *Lab Invest* 1997; 77(6): 591-600
151. Sehgal N, Fortin JD, Internal disk distruption and low back pain, *Pain Physician* , 2000 3: (2) 143-157
152. Sether LA, Nguyen C, Yu SN, et al. Canine intervertebral disks: correlation of anatomy and MR imaging. *Radiology* 1990;175:207–11
153. Setton LA, Chen J. Cell mechanics and mechanobiology in the intervertebral disc. *Spine*. 2004;29:2710-2723
154. Shakespeare W: *Timon of Athens*, Act 4, Scene 1, Line 23
155. Sobajima, Satoshi, Kompel, John F. , Kim, Joseph S. Wallach, Corey J., Robertson, Douglas D. Vogt, Molly T.; Kang, James D. , Gilbertson, Lars G. ;A slowly progressive and reproducible animal model of intervertebral disc degeneration characterized by MRI, X-ray, and histology.*Spine*. 2005 Jan 1;30(1):15-24
156. 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
157. Sztrolovics R, Alini M, Roughley PJ, Mort JS: Aggrecan degradation in human intervertebral disc and articular cartilage. *Biochem J* 1997, 326:235-241
158. Sztrolovics R, Alini M, Roughley PJ, Mort JS: Aggrecan degradation in human intervertebral disc and articular cartilage. *Biochem J* 1997, 326:235-241
159. Takegami K, Thonar EJ, An HS, et al. Osteogenic protein-1 enhances matrix replenishment by intervertebral disc cells previously exposed to interleukin-1. *Spine* 2002;27:1318–25

160. Taptas N, Diamandoğlu H: Otuz siyatik ameliyatı hakkında. Türk Tıp Cemiyeti Mecmuası , 1953 19:138-140
161. Thompson JP, Oegema TR Jr, Bradford DS. Stimulation of mature canine intervertebral disc by growth factors. Spine 1991;16:253–60
162. Tillich M, Trummer M, Lindbichler F, et al. Symptomatic intraspinal synovial cysts of the lumbar spine: correlation of MR and surgical findings. Neurosurgery. 2001;43:1070-1075
163. Tobinick EL, Britschgi-Davoodivar S: Perispinal TNF-alpha inhibition for discogenic pain. Swees Med WKLY , 2003 133: 170-177
164. Tuksavul ER:Discus intervertebralis (Ecchondrosis) inden ileri gelen nuha(Medulla) sıkışmaları hakkında. Tedavi serriyatı ve Labaratuarı Mecmuası , 1937 7: 165-175
165. Turner JA, Ersek M, Herron L, Haselkorn J, Kent D ve ark. Patient outcomes after lumbar spinal fusion. JAMA , 1992 268: 907-911
166. Twomey LT, Taylor JR: Age changes in lumbar vertebrae and intervertebral discs. Clin Orthop 1987, (224):97-104
167. Urban J.: Disc biochemistry in relation to function , İn: The Lumbar Spine, Weinstein J.N., Weissel S.W. (eds), W.B. Saunders Comp., Philadelphia, 1990 231-244
168. Urban JP, McMullin JF: Swelling pressure of the lumbar intervertebral discs: influence of age, spinal level, composition, and degeneration. Spine , 1988 13:179–187
169. Urban JPG, Roberts S: Degeneration of the intervertebral disc. Arthritis Res Ther 2003;5(03):120-30
170. Van Tulder MW, Koes BW, Bouter LM: A cost-of-illness study of back pain in The Netherlands. Pain 1995, 62:233-240
171. Varughese G, Quartey GRC. Familial lumbar spinal stenosis with acute disc herniations: case reports of four brothers. J Neurosurgery 1979; 51: 234-6
172. Vernet O, Fankhauser H, Schnyder P, et al. Cyst of the ligamentum flavum: report of six cases. Neurosurgery. 1991;29:277-283

173. Virgin W. Experimental investigations into physical properties of intervertebral disc. *J Bone Joint Surg [Br]* , 1951 33: 607
174. Virgin W. Experimental investigations into physical properties of intervertebral disc. *J Bone Joint Surg(Br)* , 1957 33:607
175. Walker MH, Anderson DG. Molecular basis of intervertebral disc degeneration. *Spine J.* 2004;4(6 suppl):158S-66S
176. Wallace AL, Wyatt BC, McCarthy ID, et al: Humoral regulation of blood flow in the vertebral endplate. *Spine* , 1994 19:1324–1328
177. Wallach CJ, Gilbertson LG, Kang JD. Gene therapy applications for intervertebral disc degeneration. *Spine* 2003;28(15S):S93-98
178. Watanabe H, Nakata K, Kimata K. Dwarfism and age-associated spinal degeneration of heterozygote cmd mice defective in aggrecan. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 6943-7
179. Wehling P, Schulitz KP, Robbins PD, et al. Transfer of genes to chondrocytic cells of the lumbar spine. Proposal for a treatment strategy of spinal disorders by local gene therapy. *Spine* 1997;22:1092–7
180. Weidner N, Rice DT. Intervertebral disk material: criteria for determining probable prolapse.. 1988;19:406-410
181. Weiler C, Nerlich AG, Zipperer J, Bachmeier BE, Boos N: 2002 SSE Award Competition in Basic Science: expression of major matrix metalloproteinases is associated with intervertebral disc degradation and resorption. *Eur Spine J* 2002, 11:308-320
182. Wiltse LL: The history of spinal disorders in: Frymoyer JW (ed): *The adult spine. Principles and practice.* Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997, Pp 3-40
183. Wood GW, Boyd RJ, Carothers TA, et al. The effect of pedicle screw/plate fixation on lumbar/lumbosacral autogenous bone graft fusions in patients with degenerative disc disease. *Spine*, 1993 18: 983-991
184. Yong-Hing K, Kirkaldy-Willis WH. The pathophysiology of degenerative disease of the lumbar spine. *Orthop Clin North Am* 1983;14(3):491-504
185. 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

186. Yung C. Chen, Sang-Heon Lee, Yamil Saenz, Norman L. Lehman: Histologic findings of disc, end plate and neural elements after coblation of nucleus pulposus: an experimental nucleoplasty study. *The Spine Journal* Volume 3, Issue 6 November-December 2003, Pages 466-470
187. Zdeblick TA. A prospective randomized study of lumbar fusion. *Spine* , 1993 18: 983-991
188. Zileli M, Özer F: Omurilik ve Omurga Cerrahisi, cilt 1, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir. 2002 739-746