



T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

**SERVİKAL VE LOMBER DİSK HERNİLİ HASTALARDA,
AGGRECAN (ACAN) GEN POLİMORFİZMİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Hazırlayan
Tuba ÖZ

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Danışman
Doç. Dr. Serbülent YİĞİT

TOKAT – 2019



TEŞEKKÜR

Tez konusunun seçiminden çalışmaların yürütülmesi ve sonuçlandırılmasına kadar, rahatça çalışabilmem için her aşamada yardım ve desteklerini esirgemeyen danışmanım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın **Doç. Dr. Serbülent YİĞİT'e** sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışması boyunca fikir, bilgi ve önerilerinden yararlandığım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Hocam Sayın **Prof. Dr. Hacı Ömer ATEŞ'e**, Tıbbi Biyoloji

Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Hocam Sayın **Doç. Dr. Nevin KARAKUŞ** ve Sayın **Doç. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU'** na teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen Sayın **Arş. Gör. Nihan BOZKURT**, Sayın **Arş. Gör. Emel ÖZSOY ENSARİ** hocalarıma teşekkür ederim. Ayrıca tezim boyunca benden yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyoloji Anabilimdalı Doktora Öğrencisi Sayın **Sümeyya Deniz ÇELİK'e** ve Sayın **Kübra ŞAHİN'e** ayrıca Tıbbi Biyoloji Anabilimdalı Yüksek Lisans Öğrencisi Sayın **Sadegül TUNCER**, Sayın **Hatice TÜRKER ARSLAN**, Sayın **Kübra YILMAZ'a** ve **dönem arkadaşlarıma** teşekkür ederim. Tez çalışmam boyunca vermiş olduğu maddi ve manevi desteklerinden dolayı ve hiçbir fedakârlıktan kaçınmayarak bugünlere gelmemde büyük emeği olan değerli **Aileme** teşekkür eder ve şükranlarımı sunarım.

ÖZET

SERVİKAL VE LOMBER DİSK HERNİLİ HASTALARDA, ACAN GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Disk dejenerasyonu ve herniasyon gibi disk hastalıkları, yetişkinlikte görülen yaygın problemlerdir. Lomber ve servikal disk hastalığının tam olarak etiyolojisi bilinmese de, genetik bir faktörün veya ailesel yatkınlığın lomber ve servikal disk

hastalığının gelişimine katkıda bulunduğu öne sürülmüştür. Hastalığın etiolojisinde ayrıca yaş, sigara, mesleki etmenler, vibrasyon travması, obezite gibi çevresel faktörlerin de etkili olduğu düşünülmektedir.

Aggrecan, hiyalin kıkırdağının ana proteoglikanıdır ve *Aggrecan* geninde yer alan VNTR polimorfizmleri intervertebral diskin ekstraselüler matriksinin yapısını ve miktarını etkileyebilir; böylelikle disk dejenerasyonu oluşumuna katkıda bulunabilir.

Çalışmamız *Aggrecan* gen polimorfizminin disk herniasyon hastalığına etkisini belirlemek için yaş ortalaması $51,46 \pm 16,35$ olan 150 hasta ile yaş ortalaması $48,29 \pm 11,89$ olan 110 kontrol grubu olmak üzere toplamda 260 birey üzerinden yürütüldü. *Aggrecan* gen polimorfizmi ile disk herniasyon hastalarında anlamlı bir fark bulunmuştur. *Aggrecan* gen polimorfizm bölgesinde 11 farklı allel (A21-A31) tanımlanmış, hem hasta olan katılımcılar arasında hem de kontrol grubundaki en yaygın alleller sırasıyla, A27, A26, A29 olmuştur. Çalışma sonuçlarımız disk herniasyonu ile *Aggrecan* geni polimorfizmlerinin ilişkili olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Aggrecan; disk dejenerasyonu; disk hernisi; polimorfizm

SUMMARY

ACAN GENE POLYMORPHISM INVESTIGATION IN THE CERVICAL AND LUMBAR DISC HERNIA DISEASE

Disc diseases such as disc degeneration and herniation are common problems in adulthood. Although the exact etiology of lumbar and cervical disc disease is unknown, it has been suggested that a genetic factor or familial predisposition contributes to the

development of lumbar and cervical disc disease. In the etiology of the disease, environmental factors such as age, smoking, professional factors, vibration trauma and obesity are also blamed.

Aggrecan, the main proteoglycan of the hyaline cartilage and the VNTR polymorphisms in the Aggrecan gene can affect the structure and amount of the extracellular matrix of the intervertebral disc, thus contributing to the formation of disc degeneration.

In order to determine the effect of Aggrecan gene polymorphism on disc herniation disease, we studied 150 patients with a mean age of 51.46 ± 16.35 and a total of 260 control subjects with a mean age of 48.29 ± 11.89 . Aggrecan gene polymorphism showed a significant difference in disc herniation patients. ACAN identified 11 different alleles (A21-A31) in the gene polymorphism region. The most common alleles in both the patient and control groups were A27, A26, A29, respectively. Our results showed that Aggrecan gene polymorphisms were associated with disc herniation.

Key words: Aggrecan; disc degeneration; disc herniation; polymorphism

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
SUMMARY	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
KISALTMA VE SİMGELER	viii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Vertebral Kolon	3
2.1.2. Vertebra	4
2.1.3. İntervertebral Disk	5

2.1.3.1. İntervertebral Diskin Moleküler Biyolojisi.....	6
2.1.3.1.1. <i>Nukleus Pulposus</i>	6
2.1.3.1.2. <i>Anulus Fibrozus</i>	7
2.1.3.1.3. <i>Kıkırdak Uç Tablası</i>	8
2.1.3.1.4. <i>Kollajenler</i>	9
2.1.3.1.5. <i>Proteoglikanlar</i>	9
2.2. İntervertebra Disk Herniasyonu.....	10
2.2.1. Disk Herniasyonu Etiyolojisi.....	11
2.2.1.1 <i>Nutrisyonel Problemler</i>	12
2.2.1.2 <i>Sigara</i>	13
2.2.1.3 <i>Genetik Eğilim</i>	13
2.2.1.4 <i>Obezite</i>	14
2.2.1.5 <i>Yaş</i>	14
2.2.1.6 <i>Cinsiyet</i>	14
2.2.1.7 <i>Fiziksel Olarak Zorlu Çalışma</i>	14
2.2.2. Disk Herniasyonu Patogenezi.....	16
2.2.3. Disk Herniasyonu Prevelansı.....	17
2.2.4. Disk Herniasyonu Tedavisi.....	18
2.3.İntervertebral Disk Dejenerasyonu İle İlişkili Aday Gen Polimorfizmleri.....	19
2.3.1. Matris Degredasyonu.....	20
2.3.1.1. <i>Matris Metaloproteinaz 1</i>	20
2.3.1.2. <i>Matris Metaloproteinaz 2</i>	21
2.3.1.3 <i>Matris Metaloproteinaz 3</i>	21
2.3.2. İnflamatuar Genler.....	21
2.3.2.1. <i>İnterlökin 1</i>	21
2.3.3 Vitamin D Reseptörü (VDR).....	22
2.3.4 Yapısal Genler.....	23
2.3.4.1 <i>Tip I Kollajen</i>	23
2.3.4.2 <i>Tip IX Kollajen</i>	23
2.3.4.3 <i>Tip XI Kollajen</i>	24
2.3.4.4 <i>Asporin</i>	25
2.3.4.5 <i>Kıkırdak Ara Tabaka Proteini (CILP)</i>	25
2.3.4.6 <i>Trombospondinler (THBS)</i>	25
2.4. Aggrekan Geni.....	27
2.4.1. <i>Aggrekan Proteini</i>	27
2.4.2. <i>Aggrekan Protein Yapısı</i>	29

2.4.3. Aggrecan'ın İşlevi.....	31
2.4.4. ACAN Polimorfizmi ve Doku Dejenerasyonu	33
3. MATERYAL METOD	36
3.1 Çalışma Grupları.....	36
3.2 Çalışmada Kullanılan Alet Ve Cihazlar.....	37
3.3. Metod	37
3.3.1. Genomik DNA İzolasyonu	37
3.3.2. Genomik DNA'nın Kalitatif Tayini.....	39
3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Amplifikasyonu.....	40
3.3.1. Aggrecan Gen Polimorfizminde Uygulanan PZR Protokolü	40
3.3.2. PZR Ürünlerinin Elektrophorezde Değerlendirilmesi.....	41
3.3.2.1. Elektrophorezde Kullanılan Solüsyonlar.....	41
3.3.2.2. %2'lik AgaroZ Jel Hazırlanması (100ml).....	42
3.3.2.3. PZR Ürünlerinin AgaroZ Jele Yüklmesi	42
3.4. İstatistiksel Yöntemler	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. DNA'nın Kalitatif Tayini	44
4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Analizleri.....	44
5.TARTIŞMA	49
6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	54
7. KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL 2.1. VERTEBRAL KOLONUN YAN GÖRÜNÜMÜ (KELEMPİSİOTİ 2016)	4
ŞEKİL 2.3. VERTEBRA KOLON SEGMENTİNİN IVD ANATOMİSİ (IOANNİDİS VE ARK. 2009) ...	8
ŞEKİL 2.4. DİSK HERNİASYONU SINIFLANDIRILMASI (BOSS VE ARK. 2008)	11
ŞEKİL 2.5. YAŞA BAĞLI İNTERVERTEBRAL DİSKTE OLUŞAN DEĞİŞİKLİKLERİN OLASI ŞEMASI (NERLİCH VE ARK. 1997).....	15
ŞEKİL 2.6. PROTEOGLİKAN AGREGA YAPISI (PETER VE JOHN 2014)	28

ŞEKİL 2.7. KONDROSİT ORTAMI (HEİNEGARD 2009)	29
ŞEKİL 2.8. ACAN PROTEİNİ VE GEN ORGANİZASYONU (MORAWSKİ VE ARK. 2012)	32
ŞEKİL 2.9. AGGRECAN PROTEİNİNİN YAPISINDA YAŞA BAĞLI OLUŞAN DEJENERATİF DEĞİŞİKLİKLER (PETER VE JOHN 2014).....	34
ŞEKİL 4.1. ACAN GENİ PZR ÜRÜNLERİNİN %2'LİK AGARUZ JELDEKİ GÖRÜNÜMLERİ	45
ŞEKİL 4.2. HASTA VE KONTROL GRUPLARIN ALLEL FREKANSLARININ KARŞILAŞTIRILMASI.....	46
ŞEKİL 4.3. CİNSİYETE GÖRE ALLEL FREKANSLARININ KARŞILAŞTIRILMASI.....	47
ŞEKİL 4.4. YAŞADIĞI YERE GÖRE ALLEL FREKANSLARININ KARŞILAŞTIRILMASI.....	48

TABLÖLAR DİZİNİ

TABLÖ 2.1. NORMAL AF VE NP ARASINDAKİ FARKLAR (KEPLER VE ARK. 2013).....	6
TABLÖ 2.2. İNSANLARDA IVD DEJENERASYONU İLE İLİŞKİLİ GENLERİN POTANSİYEL FONKSİYONLARINA GÖRE KATEGORİLENMESİ	20
TABLÖ 2.3. IVD DEJENERASYONUNDAKİ GENETİK VARYANTLARIN ÖZETİ	26
TABLÖ 3.1. HASTALARIN VE KONTROL GRUBUNDAKİ KİŞİLERİN ARAŞTIRMAYA DÂHİL EDİLME VE EDİLMEME KRİTERLERİNİN GÖSTERİMİ	36

TABLO 3. 2. TEZ ÇALIŞMASINDA KULLANILAN CİHAZLAR	37
TABLO 3.3. ACAN GENİ VNTR POLİMORFİZMİNİN ANALİZİNDE KULLANILAN PRİMERLER VE HEDEF GEN UZUNLUKLARININ GÖSTERİMİ.....	40
TABLO 3. 4. ACAN GEN BÖLGESİ İÇİN KULLANILAN PZR KARIŞIMININ GÖSTERİMİ	40
TABLO 3. 5. ACAN GEN BÖLGESİ İÇİN KULLANILAN PZR PROGRAMININ GÖSTERİMİ	41
TABLO 4.1. HASTA VE KONTROL GRUBUNUN CİNSİYET, YAŞ ORTALAMALARINA AİT İSTATİSTİKSEL BULGULARIN GÖSTERİMİ	44
TABLO 4. 2. GRUBA GÖRE GENOTİP DAĞILIMI.....	46
TABLO 4. 3. CİNSİYETE GÖRE GENOTİP DAĞILIMI	47
TABLO 4. 4. YAŞADIĞI YER GÖRE GENOTİP DAĞILIMI	48

KISALTMA VE SİMGELER

°C: Santigrat Derece

A: Allel

ACAN: İnsan Aggreccan Geni

AF: Anulus Fibrozus

bç: Baz Çifti

CD44: Hücre Yüzeyi Yapışma Reseptörü

CEP: Kıkırdaklı Uç Levha

CILP: Kıkırdak Ara Tabaka Proteini

CS: Kondroidin Sülfat
DDH: Dejeneratif Disk Hastalığı
dk: Dakika
DNA: Deoksiribonükleik asit
dNTP: Deoksinükleotit
ECM: Hücre Dışı Matrisi
EDTA: Etilendiamintetra Asetik Asit
EtBr: Etidyum Bromür
G: Guanin
GAG: Glikozaminoglikan
GP: Gen Polimorfizmleri
gr: Gram
HA: Hiyalüronan
HCl: Hidroklorik Asit
IGD: İnterglobüler Domain
IL1: İnterlökin 1
IL1RN: IL1 Reseptör Antagonist
IVD: İntervertebral Disk
IVDD: İntervertebral Dejeneratif Disk
IVDH: İntervertebral Disk Herniasyonu
kb: Kilo baz
KS: Keratan Sülfat
LDH: Lomber Disk Herniasyonu
mg: Miligram
MgCl₂: Magnezyum Klörür
ml: Mililitre
mM: Milimolar
mRNA: Mesajcı ribonükleik asit
NP: Nukleus Pulpozus
PG: Proteoglikanlar
pH: hidrojen potansiyeli
PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

q: Kromozomun uzun kolu

RFLP: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi

rpm: Dakikadaki devir

SDH: Servikal Disk Herniasyonu

SNP: Tek Nükleotid Polimorfizmi

TBE: Tris-Borat-Edta

THBS: Trombospondinler

TIMP: Metaloproteinazların

UV: Ultraviyole

v: Volt

VDR: Vitamin D Reseptörü

VNTR: Değişken Sayıda Ardışık Tekrarlar

µl: Mikrolitre

1.GİRİŞ

İntervertebral Disk Herniasyonu (IVDH) hastalığı, lomber ve servikal omurganın dejeneratif değişiklikleri arasında yaygın bir tanıdır. Yetişkin popülasyonlarda spinal cerrahinin önde gelen nedenidir. İyi huylu bir durum olmasına rağmen, etkilenen bireylerde zayıflama, fiziksel ve iş faaliyetleri üzerinde olumsuz etkiler, yaşam kalitesini düşürme ve psikolojik sıkıntıya yol açtığı için küresel bir sağlık sorunu olarak kabul edilir (Vialle ve ark. 2010; Karppinen ve ark. 2011; Eskola ve ark, 2012).

IVDH, İntervertebral Disk Dejenerasyonu (IVDD) ile yakından ilgilidir. Bununla birlikte, dejeneratif disk hastalığı etiyolojisi karmaşıktır. Çevresel, ergonomik ve antropometrik faktörler geleneksel nedenler olarak belirtilmiş olsa da, birkaç çalışma genetik faktörlerin veya genetik yatkınlığın intervertebral disklerin dejenerasyonuna ve bunun sonucu olarak disk herniasyonuna katkıda bulunduğunu göstermiştir (Battié ve ark. 2004; Brioni Nunes ve ark. 2007; Zhang ve ark. 2008; Eser ve ark. 2010; Paz Aparicio ve ark. 2011).

IVDH'nin yetişkinler arasında sık görülen bir hastalık olduğunu düşünerek, genetik faktörlerle ilişkisinin anlaşılması, hastalıktan etkilenen bireyler için yeni önleme ve müdahale hedefleri sağlayabilir.

Zhang ve ark. (2008), Eser ve ark. (2010) ve Mayer ve ark. (2013) çalışmalarında, İnsan Aggrecan Geni de (ACAN) dâhil olmak üzere IVDD ile ilişkili birkaç geni incelemişlerdir. Cong ve ark. (2010), ACAN'ın, ozmotik bir basınç gradyanı oluşturduğunu, intervertebral disklerin su içeriğini koruduğunu ve hidrasyondan sorumlu olduğunu bildirmiştir. Ek olarak ACAN'ın hyalin kıkırdak ve fibrocartilagin

diskteki en büyük proteoglikan olan agrekanı kodlamaktan sorumlu olduğunu bildirmiştir.

Bugüne kadar analiz edilen *ACAN*'lar, CS1 alanını kodlayan ekson 12'nin bir bölümünde değişken sayıda tandem tekrarı (VNTR) polimorfizmine sahiptir (Doege ve ark. 1997). Alleller, CS1 tekrar sayıları ile A13-A33 arasında değişmektedir. Daha uzun allellere sahip olan bireylerin daha fazla sayıda CS zincirini taşıyan Aggrecan üretme potansiyeline sahip oldukları düşünülmektedir (Doege ve ark. 1997).

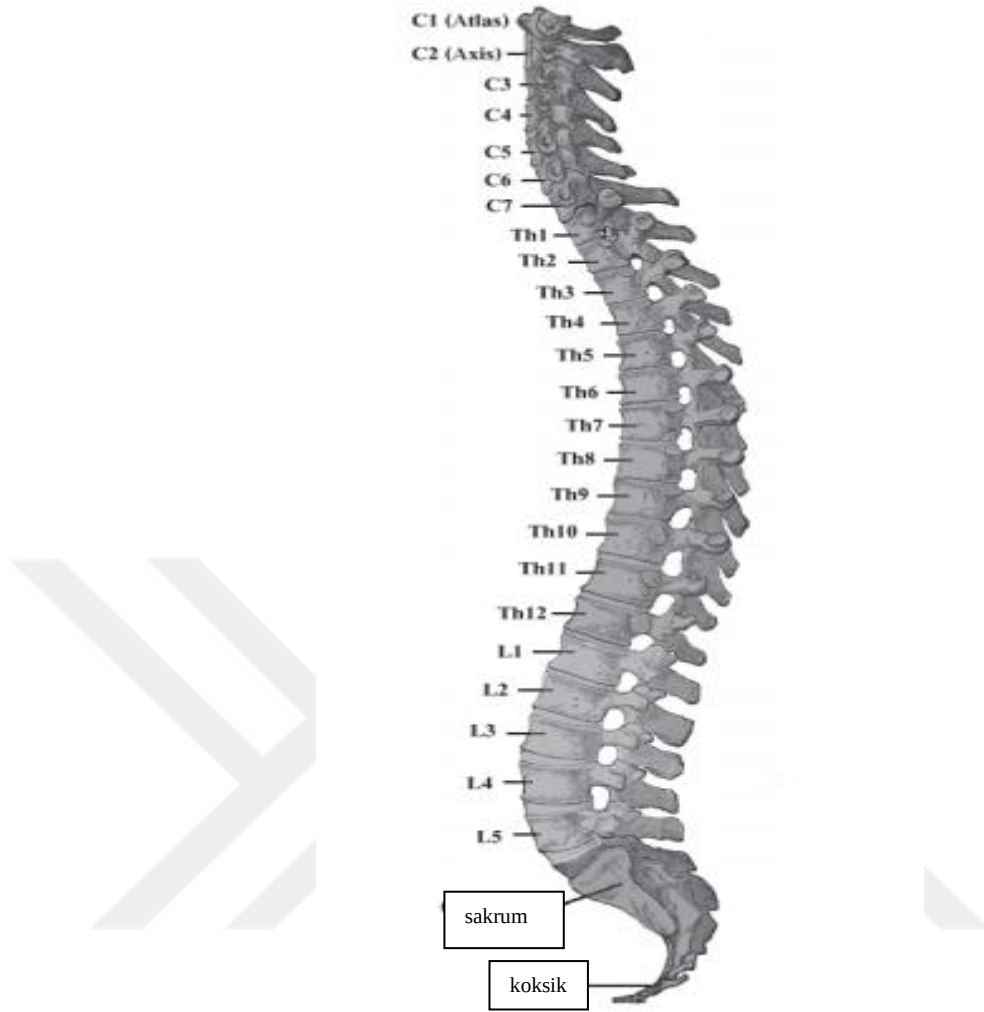
Bu çalışmanın amacı, Doege ve ark. (1997) çalışmasındaki bilgiler dahilinde Türk populasyonundaki *ACAN* CS1 kodlayıcı bölgedeki VNTR polimorfizmleri ile lomber ve servikal disk hernisi arasındaki ilişkiyi incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Vertebral Kolon

İnsan vertebral kolonu genel olarak servikal, torasik ve lomber bölgeleri adı altında üç şekilde sınıflandırılabilir (Seeley ve ark. 1997). Yaklaşık olarak uzunluğu 72-75 cm'dir. Şekil 2.1'de görüldüğü gibi servikal bölge 7 (C1-C7), torasik bölge 12 (T1-T12), lomber bölge de 5 (L1-L5) vertebraya sahiptir (Pina 1999). Ayrıca, sakrumu oluşturan 5 kaynaşmış ve koksigi oluşturan 4 kaynaşmış rudimenter kemikten oluşmuştur. Vertebral kolon toplamda 33 vertebradan oluşmuştur (Seeley ve ark. 1997, Pina 1999).

Vertebral kolon, intervertebra diskler, çapa benzeri bağlar ve kas ekleriyle birbirine bağlanır. Bunun sonucunda omurga kolonu hizalı ve stabil kalır. Bu hareket bölümlerinin her biri viskoz elastik olma özelliğine sahiptir (Leone ve ark. 2007). Kafatası ve pelvis arasında uzanan vertebral kolonun; nöral eksen ve sinir uçlarını korumak, vücuttaki organ yapılarını desteklemek, toplam ağırlığı taşımak, postürün sağlanması, hareketlilik gibi önemli işlevleri bulunmaktadır (Moore ve ark. 2007). Vertebral kolonun en küçük fonksiyonel birimi spinal hareket segmentidir (Leone ve ark. 2007).



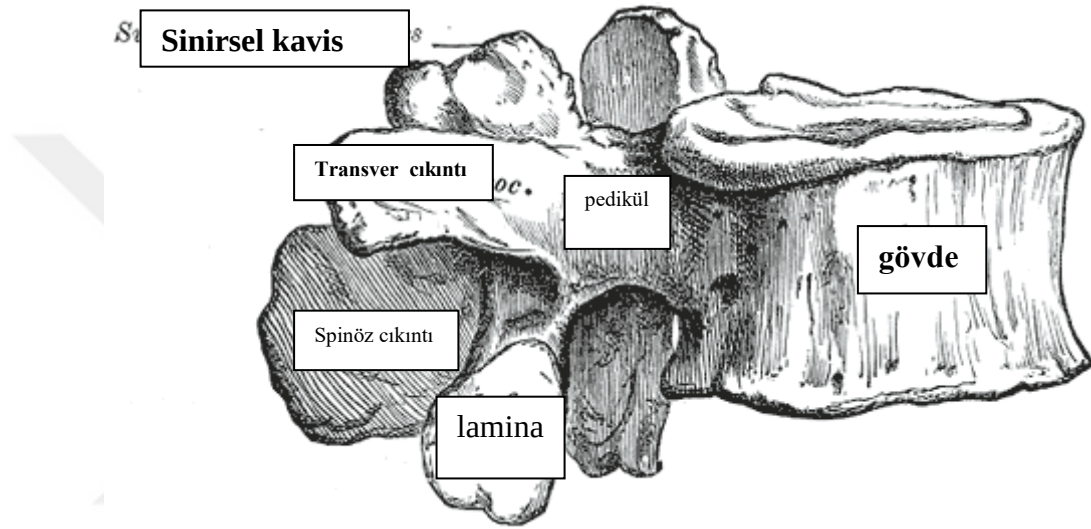
Şekil 2.1. Vertebral Kolonun Yan Görünümü (Kelempisioti 2016)

2.1.2. Vertebra

Vertebra, vertebral kolonun ana bileşenlerindendir. Her vertebra süngerimsi kemik çekirdeğinden ve kortikal kemik kabuğundan oluşur (Panjabi ve ark. 1990). Kortikal kemiğin dirençli olduğu için deformasyona daha az uğradığı; ancak süngerimsi kemik çekirdeğinin yükleri taşıyabilir olmasından dolayı deforme edebilir olduğu düşünülmektedir (Leone ve ark. 2007).

Şekil 2.2’ de görüldüğü gibi, vertebra iki ana bölgeden oluşur. Ön kısmında gövde ve arka kısmında sinirsel kavis bulunur (Gray 1918, Pina 1999). Vertebraların

büyüklüğü vertebral kolonun aşağı yönüne doğru büyür: servikal vertebra en küçük, lomber vertebra ise en büyük vertebraya sahiptir (Gray 1918), ek olarak vertebra sakrumdan koksiksin tepesine doğru küçülür. Bu yapısal farklılığın nedeni ise vertebra'nın taşıdıkları yükün aşağıya doğru artması diye düşünülmektedir (Gray 1918).



Şekil 2.2. Lomber Vertebra'nın Yan Görünümü (Gray 1918)

Servikal omurga, kafatası ile torasik arasında bulunan, vertebral kolonun en küçük ve en dinamik parçasıdır: 4 adet tipik (C3-C6), 2 adet atipik (C1,C2) ve 1 adet prominent (C7) olmak üzere 7 adet servikal vertebra'dan oluşur (Cramer 2005).

2.1.3. İntervertebral Disk

İntervertebral diskler, yükü taşıyan vertebral kolonun ana bileşenidir. İkinci servikalden birinci sakrala kadar tüm vertebra korpusları arasında bulunan yarı oynar eklem yapısıdır (Adam ve ark. 1977). İnsanda 23 adet intervertebral disk bulunur ve vertebral kolon uzunluğunun %25'ini oluşturur (Adam ve ark. 1977). Servikal bölgede

5 tane intervertebral disk bulunur, Atlas ile Aksis arasında intervertebral disk bulunmaz (Adam ve ark. 1977).

2.1.3.1. İntervertebral Diskin Moleküler Biyolojisi

İntervertebral Diski (IVD) oluşturan temel bileşenler su, çoğunlukla kondrosit benzeri hücreler, fibroblastlar, proteoglikanlar (PG'ler) ve Tip I ve II kollajenleridir. IVD' nin bileşimi, omurgadaki ve diskin içindeki bölgeye göre değişir (Walter ve ark. 2014). IVD Şekil 2.3' te görüldüğü gibi, periferik yerleşimli annulus fibrozus (AF), merkeze yerleştirilen nükleus pulposus (NP) ve diskin en periferik kenarını üst ve alt olarak tüm bölgeleri sınırlayan kıkırdaklı uç levha (CEP) olarak bilinen üç bölgeden oluşur (Walter ve ark. 2014). Her bölge, AF'de baskın olan Tip I kollajen ve NP'de baskın olan Tip II kollajenli ana disk bileşenlerinin farklı oranlarından oluşur. AF ve NP arasındaki ana yapısal farklar Tablo 2.1. 'de gösterilmektedir.

Tablo 0.1 Normal AF Ve NP Arasındaki Farklar (Kepler ve ark. 2013)

Özellik	AF	NP
Hücre Şekli	Uzun	Yuvarlak
Baskın Kollajen Tip	Tip I	Tip II
Proteoglikan İçeriği	< %25	~ %70
ECM Su İçeriği	Düşük	Yüksek
Degredasyonun Birincil Formu	Yapısal Bütünlük Kaybı	PG ve Su Kaybı

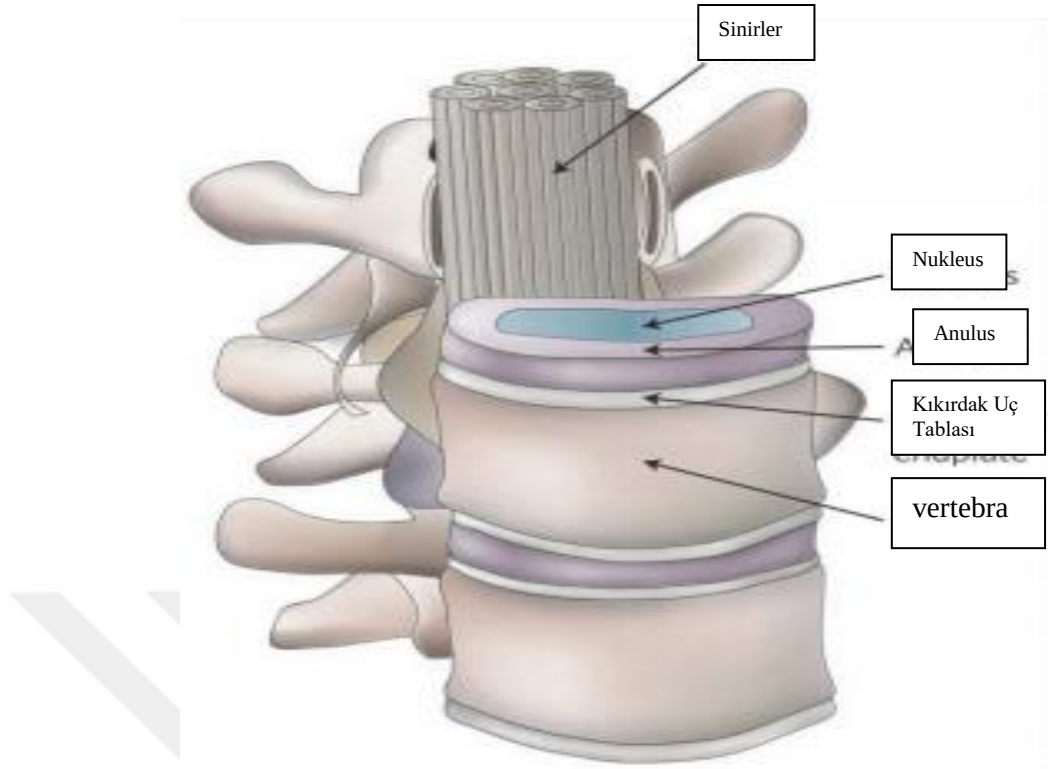
2.1.3.1.1. Nukleus Pulposus

NP'deki ECM, Tip II kollajen ve PG'ler bakımından zengindir. Ana PG, NP kuru ağırlığının %50'sini oluşturan agrekan olup, hidrofilik yapısından dolayı diskin yüksek su içeriğinden sorumludur (Kepler ve ark. 2013). Tip II kollajen ile birlikte, yüksek su içeriği NP'nin elastik olmasını ve stres altında deforme olmasını sağlar (Colombier ve ark. 2014). Proteoglikanlar hidrasyonu, kollojen ise esnekliği sağlar (Cramer ve ark. 2014). NP hücrelerinin doğumda notokdal kökenli olduğu, ancak zamanla AF'de

bulunanlara benzer kondrosit benzeri yuvarlak hücrelerin yerini aldığından NP ile AF'nin iç tabakası arasındaki ayrımı tespit etmek zorlaşır (Cramer ve ark. 2014). NP yükleme ve vertebral kolonun farklı hareketleri sırasında şeklini ve konumunu değiştirebilir; ayrıca yükleme yapısına bağlı olarak hem sıvı hem de katı olarak hareket edebilir (Iatridis ve ark. 1996). NP, toplam disk hacminin % 30-50'sini oluşturur; ayrıca büyüklüğünün servikal ve lomber vertebralarda daha büyük olduğu düşünülmektedir (Panjabi ve ark. 1990).

2.1.3.1.2. Anulus Fibrozus

AF, esas olarak Tip I kollajen liflerini sentezleyen fibroblastlardan oluşur (Colombier ve ark. 2014). AF'nin hücre dışı matrisi (ECM), daha küçük bir elastin yüzdesine sahip, yan yana düzenlenmiş kollajen lifleri tarafından oluşturulan 15-25 konsantrik halkalar veya lameller halinde düzenlenir (Kepler ve ark. 2013). AF katmanlarındaki kollajen liflerinin oryantasyonu aynı değildir: yönleri her lamel ile değişir ve hem bireyler arasında hem de bir omurdan diğerine değişebilir (Kepler ve ark. 2013). AF, dış ve iç kısım olmak üzere iki bölgeye ayrılabilir. Dış AF, oldukça düşük bir PG ve su içeriğine sahip, Tip I kollajen bakımından zengin, oldukça organize edilmiştir (Colombier ve ark. 2014). Hücreler, kollajen lifleriyle aynı hizada olan uzun çekirdeklerle fibroblast benzeridir (Kepler ve ark. 2013). İç AF'ye doğru ilerleyen hücreler daha yuvarlak ve kondrosit benzeridir ve zayıf bir şekilde organize edilmiş olan ECM, Tip II kollajen, PG ve sudan oluşur. Genel olarak, AF'nin kollajen içeriği kuru ağırlığın % 60'ına kadardır ve PG, % 25'ini oluşturur (Buckwalter 1995; Freemont 2009). Dış AF, gerilmeye karşı iç AF'den daha yüksek bir dirence sahiptir ve genel olarak AF'nin yapısı NP için bir sınır görevi görür (Colombier ve ark. 2014; Freemont 2009).



Şekil 2.3. Vertebra Kolon Segmentinin IVD Anatomisi (Ioannidis ve ark. 2009)

2.1.3.1.3. Kıkırdak Uç Tablası

Morfolojik olarak üçüncü bölge olan kıkırdak uç tablası (CEP), ince bir hyalin kıkırdak ve fibrokartilaz tabakaya sahiptir. Hyalin kıkırdağı vertebra gövdesinin karşısında bulunur ve fibrokartilaj IVD' nin geri kalanına bitişik bulunur (Cramer ve ark. 2014). CEP'ler sadece kondrositlerden oluşur ve ECM, PG'ler ve Tip II kollajen bakımından zengindir (Colombier ve ark. 2014). CEP'ler, disklerin beslenmesi için çok önemlidir; çünkü CEP'lerin disklerin gelişimi ve büyümesi sırasında besin alımından sorumlu olan kan damarı ağının sahaları olduğu düşünülmektedir (Cramer ve ark. 2014).

2.1.3.1.4. Kollajenler

İntervertebral diskin biyomekanik özellikleri, büyük ölçüde hücre dışı matrisinin yapısına ve özellikle kollajen ağının moleküler organizasyonuna bağlıdır (Boos ve ark. 1997). Günümüze kadar 19 kollajen türü bildirilmiştir (Kivirikko 1993).

İnsan intervertebral diskinde, genetik olarak farklı 7 kollajen tipi tanımlanmıştır (Eyre 1988). Normal erişkinlerde intervertebral disk kollajenlerinin tipleri ve yoğunlukları bölgesel olarak farklılık gösterir (Gruber ve Hanley 1998). Nukleus pulposus Tip II, VI, IX ve XI ve anulus fibrozus Tip I, II, III, V, VI, IX ve XI içerir (Eyre 1988; Roberts ve ark. 1991). Nükleustaki hücreler en fazla Tip II kollajen, daha az oranda Tip VI (%15–20), Tip IX (%1–2) ve Tip XI (%3) kollajen sentez eder (Goupille ve ark. 1998; Nerlich ve ark. 1998).

2.1.3.1.5. Proteoglikanlar

Proteoglikan, bir protein çekirdek ve ona bağlanan glikozaminoglikan (GAG) zincirlerinden oluşur (Comper ve Laurent 1978). GAG, tekrarlayan disakkarid ünitelerinden oluşmuş, lineer polimer olan heteropolisakkariddir (Antoniou 1996). Ayrıca yapısında yer alan negatif yüklü karboksil ve sülfat grupları pozitif yüklü iyonları çekerek %70-90 oranında su tutmasını sağlar (Antoniou 1996). Bu sebeple GAG'ların NP'ye yüksek ozmotik potansiyel özelliği kazandırıp, dokuya su girmesini ve hacminin artmasını etkilediği düşünülmektedir (Comper ve Laurent 1978). Negatif yüklü GAG, pozitif yüklü nukleus ve uç tabla içerisindeki ana proteoglikanın (% 50) Aggrekan olduğu düşünülmektedir (Annunen ve ark 1999). Aggrekan'da iki adet glikozaminoglikan zinciri bulunmaktadır. Bunlar; kondroidin sülfat (CS) ve keratan sülfat (KS)' dir (Annunen ve ark 1999). KS/CS oranı nukleusta yüksek iken, anulusta bunun tam tersidir (Inkinen ve ark 1998). Normal ve dejenere insan intervertebral disk

dokularının proteoglikan içeriklerinin incelendiği bir çalışmada, daha kısa ve daha az su tutan dekorin ve biglikan miktarlarının dejenere disk dokusunda arttığı, daha uzun olan kondrotin sülfat zincirlerinin ise azaldığı ya da tamamen yok olduğu düşünülmektedir (Inkinen ve ark 1998).

Melrose ve ark (1997) oluşturdukları deneysel disk dejenerasyonu modeli ile sağlam disklerden aldıkları hücreleri karşılaştırdıklarında aggrecan sentezinin anlamlı derecede azaldığını saptamışlardır. Bu da intervertebral diskin hidrodinamik ve viskoelastik özelliklerinin Aggrecan'a bağımlı olduğunu göstermektedir (Eser ve ark. 2010).

2.2. İntervertebra Disk Herniasyonu

İntervertebral Disk Herniasyonu (IVDH), ilk olarak Mixter ve Barr tarafından, annulus fibrozusun yırtılması ve nukleus pulposusun intervertebral boşluğa sızmasıyla tanımlanmıştır (Mixter ve Barr 1936). IVDH, Lomber, servikal ve torasik vertebra da görülebilir.

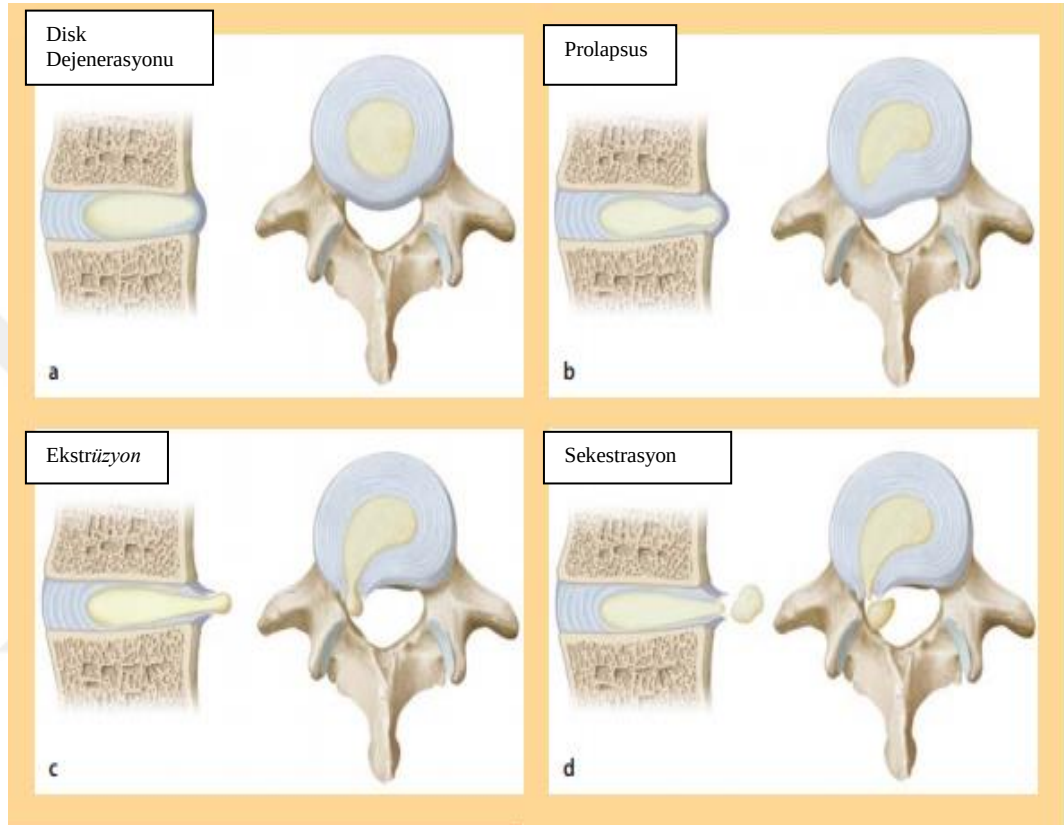
Disk herniasyonu farklı tip ve derecelerde oluşabilir (Sinaki ve ark. 1996). Şekil 2.4'de görüldüğü gibi disk herniasyonunda patoloji şu şekilde sınıflandırılır (Sinaki ve ark. 2006; Borenstein ve ark.1995):

Disk Dejenerasyonu (Bulging): Nukleus pulposus, diskteki kimyasal değişiklikler nedeniyle zayıflar ve sonrasında annulus fibrosusa doğru hareket eder. Anulus fibrozus lifleri zarar görmemiştir (Şekil 2.4.a).

Protrüzyon (Prolapsus): Nukleus pulposusun yırtılan annulus fibrozus lifleri içine hareket etmesidir. Anulus fibrozusun dış lifleri intaktır. Geçiş sırasında, diskin şekli veya konumu değişir. Omuriliği veya omurilik sinirlerini (bulging bulunduğu yere bağlı olarak) sıkıştırmaya başlayabilen hafif bir çıkıntı oluşmaya başlar (Şekil 2.4.b).

Ekstrüzyon: Nukleus pulpozusun annulus fibrozusu yırtarak vertebral kolon içine hareket etmesidir; ancak yine de disk içinde kalır (Şekil 2.4.c).

Sekestrasyon: Disk materyalinin koparak serbest halde vertebral kolon içinde olmasıdır (Şekil 2.4.d).



Şekil 2.4. Disk Herniasyonu Sınıflandırılması (Boss ve ark. 2008)

2.2.1. Disk Herniasyonu Etiyolojisi

Disk herniasyonuna neden olabilecek faktörler arasında dejeneratif değişikliklerin en yaygın olduğu düşünülmektedir (Beattie 2008; Frymoyer 1988). Disk dejenerasyonu, genler ve çevre arasındaki etkileşimin belirlediği zayıflatıcı, karmaşık multifaktöriyel bir hastalık olarak kabul edilir (Chan ve ark. 2006). Bununla birlikte, disk hernisi morbidite eğrisi, disk dejenerasyonu için karşılık gelen eğriye uymaz

(Kraemer 1995). Disk dejenerasyonu yaşılanan omurgada en çok görülen olsa da, orta yaşta lomber disk herniasyon semptomları en sık görülür (Kraemer 1995; Beattie 2008).

Etiyolojide Değişik Modeller Öne Sürülmektedir:

Genetik eğilim, mekanik kompresyon gerilimi, düşük frekanslı titreşimler, travma ve psikosozyal stres disk dejenerasyonu ve sonrasında herniasyona neden olan faktörlerin tümü olduğu bilinmektedir (Jansson 2005; Ostelo ve ark. 2005). Çevresel faktörler, mesleki faaliyetler, boy, obezite, vücut ağırlığı ve hatta sigara gibi yaşam tarzı faktörlerinin de IVDH' de önemli bir rol oynadıkları düşünülmektedir (Kim ve ark. 2003; Schumann ve ark. 2011). Son yıllarda yapılan araştırmalar, disk dejenerasyonunun etiyolojisindeki ana risk faktörünün ağır fiziksel yüklemekten, genetik eğilime doğru kayması ile sonuçlandığı düşünülmektedir (Battie ve ark. 2004; Rhee ve ark. 2006; Rydevik ve ark. 1984).

2.2.1.1 *Nutrisyonel Problemler*

Disk dejenerasyonunun en temel nedenlerinden birisinin disk hücrelerinin nutrisyonel desteğinin yetersizliği olduğu düşünülmektedir (Holm 1990). Tüm hücreler gibi disk hücrelerinin de oksijen ve glikoza ihtiyaçları vardır. Beslenme için gereken maddeler, diske konsantrasyon gradyantine göre diffüzyonla alınırlar (Holm 1990). Diskin oksijen konsantrasyonu, anulusun periferinde yüksek, nukleusta ise en düşüktür (Holm 1990). Nukleustaki bu düşük oksijen konsantrasyonu ise anaerobik enerji üretimine neden olur, böylece metabolik atık olarak laktik asit, nukleusta en fazladır (Holm 1990). Buradaki laktat konsantrasyonu plazmadan 5-18 kat yüksekken, anulustaki oran yaklaşık olarak plazma kadardır. Laktatın değerinin artması pH'ı düşürür, bu sebeple nukleusun pH'ı 5,6'dır (Holm 1990). İn vitro çalışmalarda asidik pH ve düşük oksijen konsantrasyonu hücrelerin ölümüne neden olabilir (Holm 1990).

2.2.1.2 Sigara

Nikotin, spinal disklere kan akışını sınırlar, bu da disk dejenerasyonunu hızlandırır ve iyileşmeyi engeller (Huang ve ark. 2015). Dejenere edilmiş disk daha az bükülebilir, bu da herniasyona neden olabilecek yırtılma veya çatlama olasılığını artırır (Shin 2014).

Son yapılan çalışmalar, sigara içen kişilerin bir disektomi sonrası yeni bir herniasyon için büyük risk altında olduğunu iddia etmiştir (Huang ve ark. 2015; Shin 2014; Leven ve ark. 2015).

Sigara içildiğinde, hücresel çoğalma, kan oksijenasyonu ve doku füzyonunu etkilediği bilinen nikotin, karbon monoksit ve hidrojen siyanür dâhil olmak üzere vücudumuzda 4.000'den fazla madde emilebilir (Leven ve ark. 2015). Lomber diskler insan vücudundaki en büyük avasküler yapılardır ve tüm besin maddelerini kandan difüzyon yoluyla alırlar (Holm 1988). Besinler, vertebral damarlardan köken alan kılcal damarlardan yayılır ve subkondral kemikten geçer, kemik-disk bağlantısına ulaşır (Urban ve ark. 2004; Grunhagen ve ark. 2006). Sigara içmek kemik-disk bağlantısına kadar dağılmış olan kılcal damarları daraltır ve diske taşınımını bozar (Holm 1988). Dahası, nikotin, çekirdek sayısının pulposus hücrelerinin çoğalmasını keserek hücre sayısında düşüşe neden olur ve hücre dışı yapıların bozulmasına neden olarak hücre dışı matrisin sentezini bozar. Bu mekanizmaların disk dejenerasyonunun patogenezi ile ilişkili olması muhtemeldir (Akmal ve ark. 2004).

2.2.1.3 Genetik Eğilim

Tıbbi literatür disk dejenerasyonu için kalıtsal bir eğilim göstermiştir ve disk dejenerasyonu herniasyon riskinin artmasıyla ilişkili olduğunu düşünülmüştür (M.C ve ark.2009; Schroeder ve ark.2016). İkizlerde yapılan epidemiyolojik çalışmalar,

intervertebral disk dejenerasyonuna maruz kalmak için en belirleyici bireysel faktörün, genetik eğilim olduğunu göstermiştir (McGregor ve ark. 2004; Patel ve ark. 2011).

2.2.1.4 Obezite

Schroeder ve ark. (2016), fazla kilo almanın omurgada stresi artırdığını ve obez olan kişilerin herniasyona daha yatkın hale geldiğini iddia etmişlerdir (Schroeder ve ark. 2016).

2.2.1.5 Yaş

Disk herniasyonu için en sık görülen risk faktörü 35 ile 50 yaş arasındadır. Bu durum 80 yaşından sonra nadiren semptomlara neden olmaktadır (Ma ve ark. 2013).

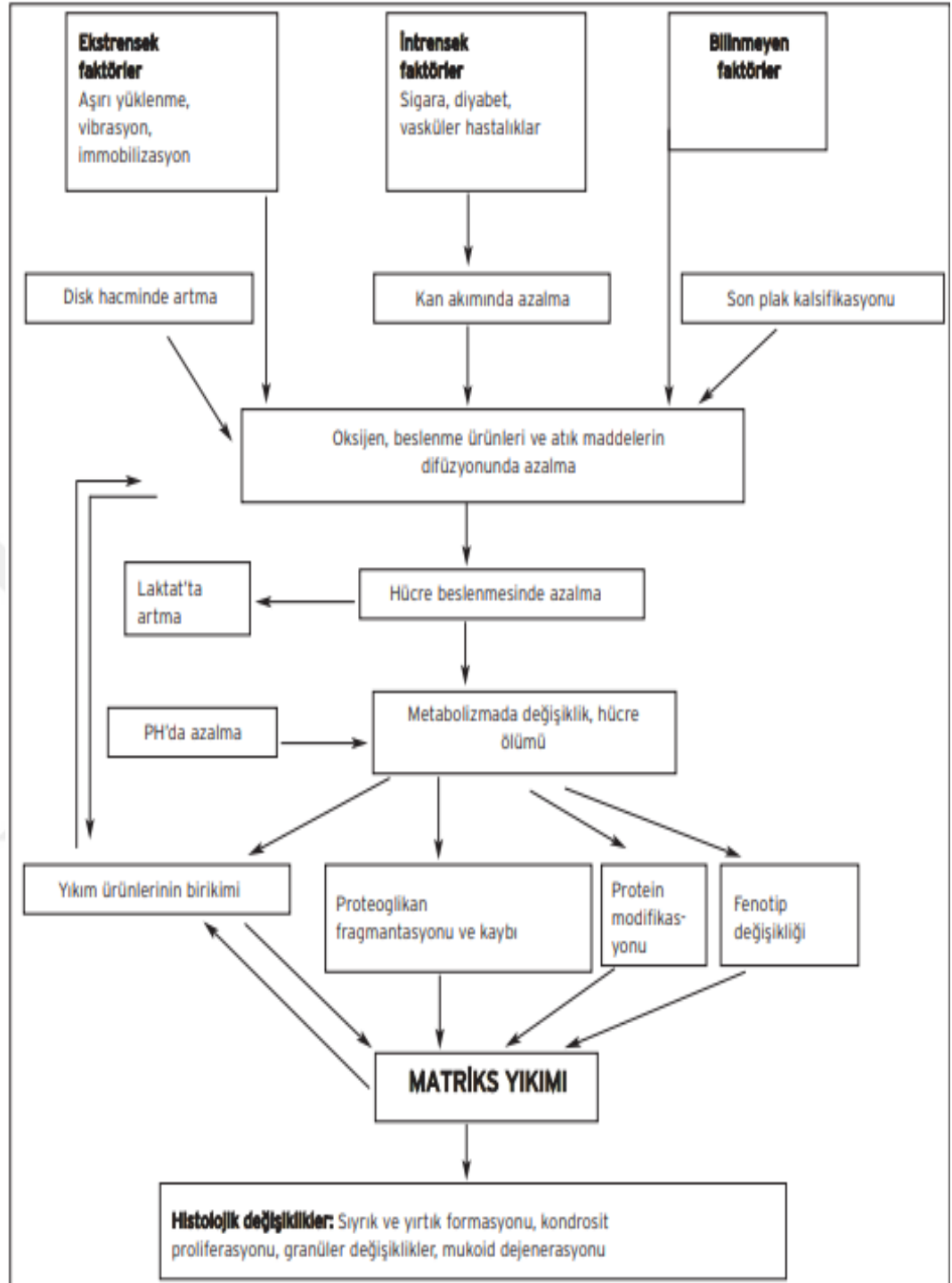
Şekil 2.5’de görüldüğü gibi Nerlich ve ark. (1997) Volvo ödülünü kazandıkları çalışmalarında 229 disk materyalinde diskte yaşlanmaya bağlı oluşan değişiklikleri belirleyerek olası bir şema ile ortaya koymuşlardır (Nerlich ve ark. 1997).

2.2.1.6 Cinsiyet

Erkeklerin kadınlara kıyasla yaklaşık iki katı disk herniasyon riski olduğu düşünülmektedir (Slipped Disk 2014).

2.2.1.7 Fiziksel Olarak Zorlu Çalışma

Ağır kaldırma ve diğer fiziksel emek gerektiren işler, hernili disk ile bağlantılı olduğu iddia edilmiştir (Schroeder ve ark.2016).



Şekil 2.5. Yaşa Bağlı İntervertebral Diskte Oluşan Değişikliklerin Olası Şeması
(Nerlich ve ark. 1997)

2.2.2. Disk Herniasyonu Patogenezi

Disk herniasyonu belirtileri, sinir kökünün mekanik olarak sıkıştırılmasıyla indüklenebilir (Vroomen ve ark. 1999). Belirtiler hernili diskin konumuna ve herniasyon boyutuna bağlı olarak büyük ölçüde değişir. Herniasyon komşu sinir yapılarının kompresyon ve deformasyonuna neden olabilir. Bu duruma bağlı olarak da siyatik ağrı ile sonuçlanabilir (Vroomen ve ark. 1999). Hernili disk bir sinire baskı yapmıyorsa, hasta bel ağrısı veya hiç ağrı hissetmeyebilir. Bir sinire baskı yapıyorsa, sinirin geçtiği vücut bölgesinde ağrı, uyuşukluk veya zayıflık olabilir (Rozen 2001).

Herniasyon disk dokusunda çok yüksek fosfolipaz A2 aktivitesi yanında intersitisyel sıvıda prostaglandin E, histamin benzeri maddeler, potasyum iyonu, laktik asit ve bir çok polipeptid aminlerin primer duysal nöronları uyarması veya uyarılma eşiğini düşürmesiyle ağrıya yol açtığı düşünülmektedir (Rozen 2001).

Lomber omurga da siyatik ağrı sıklıkla alt sırttaki herniye diskten kaynaklanır (Vroomen ve ark.1999). Siyatik sinire katkıda bulunan bir veya birkaç sinir üzerindeki basınç, kalçadan bacağa ve bazen ayağa yayılan ağrı, yanma, karıncalanma ve uyuşmaya neden olabilir: genellikle bir taraf (sol veya sağ) etkilenir (Rhee ve ark. 2006). Yayılan siyatik ağrı ve sırt ağrısı, lomber disk hernisinin ana belirtileridir (Vroomen ve ark.1999; Rhee ve ark. 2006). Bu ağrı genellikle keskin ve elektrik çarpması benzeri olarak tanımlanır. Ayakta durmak, yürümek veya oturmak daha şiddetli olabilir. Bacak ağrısı ile birlikte, bel ağrısı olabilir: ağrıya bağlı bir skolyoz sıklıkla gözlenebilir (Jansson 2005). Lomber ağrı, motor güçsüzlüğü ya da sinir kökü dağılımına özgü duysal ve refleks bozuklukları olan nörolojik bozukluklar diğer yaygın semptomlardır (Deyo ve ark. 1990; Rhee ve ark. 2006).

Servikal omurgada belirtiler; boyunda ve omuzlar arasında keskin bir ağrı, koldan ele veya parmaklara yayılan ağrı, omuz ile kolda uyuşma veya karıncalanma olabilir. Ağrı belirli pozisyonlarda veya boynun hareketleriyle artabilir (Deyo ve ark. 1990).

2.2.3. Disk Herniasyonu Prevelansı

Disk herniasyonunun yaşam boyu yaygınlığı % 1-2'dir (Frymoyer ve ark.1992; Heliovaara ve ark. 1987; Wera ve ark. 2008). Erkekler kadınlardan daha sık etkilenir ve bu oran 1.5-1'dir (Woertgen ve ark. 1999).

MRI incelemesine göre, yaşları 20-80 arasında değişen gönüllü semptomsuz bireylerde disk hernisi görülme oranı %20-30'dur (Boden ve ark. 1990; Jensen ve ark.2006). Buna karşılık, yaş, cinsiyet ve işle ilgili faktörlerle eşleşen semptomatik bireylerde karşılık gelen oran % 76'dır (Jensen ve ark.2006). Semptomu olan ve olmayan bireyler arasındaki en önemli fark, sinir kökü kompresyonunun derecesi olarak gösterilmiştir (Boos ve ark. 1995).

Disk herniasyonları genel olarak en sık 40 ve 50 yaşları arasındadır (Spangfort 1972), çocukluk yaşlarda çok nadirdir (Heliövaara ve ark 1987; Frymoyer 1992) ancak tüm yaş gruplarında da görülebilir (Frymoyer 1988; Spangfort 1972).

Vücut ağırlığının büyük kısmını lomber vertebra taşıır. Bu nedenle disk hernisi lomber bölgede daha sık görülür (Armstrong 1967). Lomber disk hernilerinin % 95'i L4-5 ve L5-S1 seviyelerinde, % 4'ü L3-4 ve geri kalan %1'i ise daha üst seviyelerde görülür (Armstrong 1967).

Servikal disk herniasyonu (SDH), %45 oranla 40-50 yaşları arasında daha yaygındır (Valencia ve ark. 2010). SDH, farklı seviyelerde servikal vertebra da görülür. Bazı araştırmacılar, SDH'lerin C5-C6 ve C6-C7 seviyelerinde yaşlı hastalarda yaygın

olduğunu, C2-C3 aralığının ise en yaygın seviye olduğunu bulmuşlardır (Oka ve ark. 2015; Tsao ve ark. 2008).

2.2.4. Disk Herniasyonu Tedavisi

Çoğu disk herniasyonu zamanla gerileyeceğinden konservatif bir tedavi yaklaşımı genellikle ilk tercihtir (Cribb ve ark. 2007; Jensen ve ark. 2006). Bir doktor yatak istirahati verebilir veya hastaya birkaç günden-haftaya kadar ağrısız, düşük bir aktivite seviyesi sürdürmesini önerebilir. Bu da spinal sinir iltihabının azalmasına yardımcı olur. Hernili disklerin çoğunluğu ameliyat gerektirmez (Deyo ve ark. 1990). Bununla birlikte, fıtıklaşmış, dejenere edilmiş diskleri olan kişilerin çok küçük bir yüzdesi semptomatik veya şiddetli olabilir ve günlük yaşamı önemli ölçüde etkileyen yetersiz bel ağrısı olabilir. Ağrı sadece hafif-orta derecede ise, fıtıklaşmış bir disk sıklıkla steroid olmayan antiinflatuar ilaçlarla tedavi edilir. İlacı disk herniasyonunun tam seviyesine yönlendirmek için X-ışını kılavuzluğu altında bir spinal iğne kullanılarak bir epidural steroid enjeksiyonu yapılabilir (Cribb ve ark. 2007). Doktor fizik tedavi önerebilir. Terapist, doktor teşhisi ile birlikte, fıtık diskleri olan hastalar için özel olarak tasarlanmış bir tedaviyi belirleyecek olan derinlemesine bir değerlendirme yapabilir. Terapi pelvik traksiyon, hafif masaj, buz ve ısı terapisi, ultrason, elektriksel kas stimülasyonu ve germe egzersizlerini içerebilir. Ağrı ilacı ve kas gevşeticiler fizik tedavi ile birlikte faydalı olabilir (Cribb ve ark. 2007). Bu sebeple, engelli semptomlarını azaltmak için fizyoterapi ve tıbbi tedavi sıklıkla önerilmektedir. Altı ila sekiz hafta içinde herhangi bir ilerleme görülmezse ameliyat düşünülebilir. Deyo' ya göre semptomatik lomber disk herniasyonu olan hastaların yaklaşık % 5-10' u cerrahi gerektirir (Deyo ve ark. 1990).

2.3.İntervertebral Disk Dejenerasyonu İle İlişkili Aday Gen Polimorfizmleri

Bir organizmanın benzer çevresel uyaranlara verdiği tepkilerde farklılığa yol açan genetik faktörler arasında gen polimorfizmleri (GP) buluyoruz.GP, bir popülasyonda en az % 1'lik bir frekansta kararlı biçimde var olan bir genin allel bir varyasyonudur. İki tip GP tanımlanmıştır: değişken sayıda tandem tekrar polimorfizmi (VNTR) ve daha sık görülen tek nükleotid polimorfizmini (SNP). Fenotipik ekspresyonunun spesifik bir klinik etkisi yoktur; ancak bir GP, örneğin bir kişinin belirli bir ilaca yanıt verdiğini veya belirli bir hastalığa maruz kalmaya duyarlı olduğunu belirler. Polimorfizmler, daha az yaygın olması ve genellikle hastalıklar ile ilişkilendirilmesi bakımından mutasyonlardan farklıdır.

Aday gen yaklaşımı, seçilen genetik değişkenler ve spesifik hastalığa duyarlılık arasındaki ilişkiyi incelemek için kullanılmıştır (Tabor ve ark. 2002). IVD içindeki metabolik yollarda potansiyel fonksiyonel rolü olan genlerin seçilmesi dejeneratif diskin fenotipiyle ilişkili olabilir. Bir dizi gen çalışılmış ve bu genler diskteki potansiyel fonksiyonlarına göre kategorilere ayrılmıştır (Tabor ve ark. 2002). Tablo 2.2’de gösterildiği gibi: IVD 'nin yapısıyla ilgili genler, katabolik veya anabolik fonksiyonlu disk matrisinin enzimlerinin üretilmesinden sorumlu genler, inflamatuvar gen ve farklı fonksiyonlara sahip genlerdir. IVD dejenerasyonu ile ilişkili incelenen genetik varyantların bir özeti Tablo 2.3’de gösterilmiş ve genler daha ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Tablo 0.2. İnsanlarda IVD Dejenerasyonu İle İlişkili Genlerin Potansiyel Fonksiyonlarına Göre Kategorilenmesi

Kategori	Gen	Gen İsmi
Yapısal	Tip I Kollajen	<i>COL1A1</i>
	Tip IX Kollajen	<i>COL9A1,COL9A2,COL9A3</i>
	Tip XI Kollajen	<i>COL11A1,COL11A2</i>
	Aggrekan	<i>ACAN</i>
	Asporin	<i>ASPN</i>
	Kıkırdak Ara Tabaka Proteini	<i>CILP</i>
	Thrombospondins	<i>THBS</i>
Matriks Parçalayısı	Matris metaloproteinaz 1	<i>MMP1</i>
	Matris metaloproteinaz 2	<i>MMP2</i>
	Matris metaloproteinaz 3	<i>MMP3</i>
	Metalloproteinazın Doku İnhibitörleri	<i>TIMP</i>
Enflamatuar	İnterlökin 1	<i>IL1</i>
	İnterlökin 6	<i>IL6</i>
Diğer	Vitamin D Reseptörü	<i>VDR</i>

2.3.1. Matris Degredasyonu

Matris metaloproteazları, ECM'nin düzenleyicileri ile birlikte yeniden yapılanmasına katılan kilit proteinlerdir. Metaloproteinazların (TIMP) ve THBS'lerin doku inhibitörleridir (Seguin ve ark. 2005). Diskin bütünlüğünü koruyabilmesi için, ECM'nin parçalanması ve yeniden şekillenmesi dengede kalmalıdır. Bu nedenle, bu proteinlerin ifadesindeki değişiklikler disk dejenerasyonu ile ilgili olabilir (Seguin ve ark. 2005).

2.3.1.1. Matris Metaloproteinaz 1

Song ve ark. MMP1 promotör bölgesinde G insersiyonu olmayan bireylerin, insersiyona sahip bireylere kıyasla artmış dejenerasyon riski olduğunu bildirmiştir (Song ve ark. 2008). Guanin sokulması, promotör aktivitesini artırır ve bunlardan biri, MMP1 üretiminin dejenerasyonla ilişkilendirilmesini artırır (Song ve ark. 2008).

2.3.1.2. Matris Metaloproteinaz 2

Dong ve ark. MMP2 genindeki SNP rs243865'in CC genotipinin taşıyıcılarının, en az bir T aleli taşıyan bireylerin aksine semptomatik disk dejenerasyonu riskinin arttığını bildirmiştir (Dong ve ark. 2007). Bu polimorfik bölge, transkripsiyon aktivitesinin azalmasına neden olan Sp1 transkripsiyon faktörü bağlama bölgesinin bozulmasına neden olduğu düşünülmektedir (Price ve ark. 2001).

2.3.1.3 Matris Metaloproteinaz 3

Takahashi ve ark. yaşlı Japon deneklerde MMP3 (5A / 6A) polimorfizmi ile IVD dejenerasyonu arasında bir ilişki olduğunu bildirmiştir. 5A5A veya 5A6A genotipini taşıyan bireyler, 6A6A genotipini taşıyanlara kıyasla daha fazla disk dejenerasyonu riski taşıdığı iddia edilmiştir (Takahashi ve ark. 2001).

Bu bulgu İngiltere (Valdes ve ark. 2005) ve Çin popülasyonlarında (Yuan ve ark. 2010) doğrulanmış; ancak incelenen bir Finlandiya popülasyonunda doğrulanamamıştır (Nojonen-Hietala ve ark. 2003b).

2.3.2. İnflamatuvar Genler

2.3.2.1. İnterlökin 1

İnterlökin 1, enfeksiyon veya yaralanmaya yanıt olarak üretilen bir sitokindir. IL-1 gen ailesinde üç üye: IL1 α , IL1 β ve IL-1RN vardır (Solovieva ve ark. 2004). IL1 α 'da SNP rs1800587 ile disk dejenerasyonu ve hernisiyle; IL1 β 'de SNP rs1143634 ile orta yaşlı Finlandiya'da çalışan erkekler arasında disk dejenerasyonu ile bir ilişki olduğunu bildirmiştir (Solovieva ve ark. 2004). Daha fazla literatür incelendiğinde, IL1 α polimorfizmi ile semptomatik disk dejenerasyonu arasındaki başka bir ilişki Finlandiya meslek örneğinde gözlenmiştir (Virtanen ve ark. 2007a). Ek olarak

Danimarkalı genç kızlar arasında IL1 α T allelinin taşıyıcıları, disk dejenerasyonu olasılığını arttırdığı iddia edilmiştir (Eskola ve ark. 2010).

2.3.2.2 İnterlökin 6

İnterlökin 6 (IL-6), low back pain ve siyatikte yer alan bir iltihap önleyici sitokindir (Burke ve ark. 2002). Üç promotörün (rs1800795, rs1800796, rs1800797) ve bir ekzonik (rs13006435) SNP'nin disk dejenerasyonu ile ilişkili olduğu iddia edilmiştir (Burke ve ark. 2002). Daha spesifik olarak, bir eksonik SNP'nin Finlandiyalı siyatik hastalarında disk dejenerasyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Nojonen-Hietala ve ark. 2005).

2.3.3 Vitamin D Reseptörü (VDR)

İki VDR polimorfizmi FokI ve TaqI, disk dejenerasyonu ile yoğun olarak çalışılmıştır (Arai ve ark. 1997; Eser ve ark. 2010; Videman ve ark. 1998b). VDR'nin 2 ekzonunda bir FokI polimorfizmi bulunur ve T allelini taşıyan kişiler tam uzunlukta bir VDR proteini üretirken C allelini taşıyan bireyler daha kısa bir protein üretir (Arai ve ark. 1997). T allelinin disk dejenerasyonu için risk alleli olduğu ancak proteinin spesifik fonksiyonunun iyi anlaşılmadığı bildirilmiştir (Eser ve ark. 2010, Videman ve ark. 1998b).

TaqI polimorfizmi ekzon 9' da bulunur ve pek çok çalışmada disk dejenerasyonu için risk alleli olarak gösterilmiştir. Bu ilişkiyi bildiren ilk kişi Jones ve ark. risk alleli için homozigot bireylerin bulunduğu yaşlı bir Avustralya popülasyonunda, osteofit ve disk daralması riskinin arttığını bildirmişlerdir (Jones ve ark. 1998). Videman ve ark. tt genotipinin erkek taşıyıcılarının, TT genotipini taşıyanlara kıyasla daha düşük disk yoğunluğu ve daha fazla sayıda annular tear gözüküğünü bildirmiştir (Videman ve ark. 1998a). Cheung ve ark. Çin örneğinde t allel ve disk dejenerasyonu arasındaki ilişkiyi

göstermiştir. Ayrıca, 40 yaşın altındaki bireylerde 5 kat artış bildirdikleri için derneğin yaş korelasyonunu göstermişlerdir (Cheung ve ark. 2006).

Bu nedenle, VDR geninden bugüne kadar bildirilen deneklerin, farklı etnik topluluklarda kopyalandıkları ve doğrulandıkları için çok sağlam oldukları düşünülmektedir.

2.3.4 Yapısal Genler

2.3.4.1 Tip I Kollajen

COL1A1 ve COL1A2 genleri tarafından kodlanan bir trimerik molekül olan Tip I kollajen, cilt bağlarında ve kemikte majör bir proteindir: özellikle dış AF'de bulunur (Pluijm ve ark. 2004). COL1A1'in promotör bölgesinin bir polimorfizmi, disk dejenerasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Pluijm ve ark. 2004; Tilkeridis ve ark. 2005a). Hollandalı yaşlı bireyler, T alleli için homozigot olanlar, heterozigot olanlara göre daha yüksek risk göstermiştir (Pluijm ve ark. 2004). Bu birliktelik, çalışma örneği çok küçük olmasına rağmen, Yunan askerleri ile yapılan bir çalışmada da rapor edilmiştir (Tilkeridis ve ark. 2005b). Daha önce bu polimorfizmin osteoporoz ile ilişkili olduğu ve T allelinin gen düzenlemesi üzerinde yüksek mRNA ve protein ekspresyonu sağlayan fonksiyonel bir etkiye sahip olduğu iddia edilmiştir (Tilkeridis ve ark. 2005b). Bu dengesizliğin zayıf bir kemik yapısı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Mann ve ark. 2001). Videman ve ark. iki COL1A1 varyantının, disk dejenerasyonunun ilerlemesinde Tip I kollajenin olası rolü hakkında daha fazla kanıt sağlayan diskteki sinyal yoğunluğu kaybı ile ilişkili olduğunu iddia etmiştir (Videman ve ark. 2009).

2.3.4.2 Tip IX Kollajen

Tip IX kollajen, sırasıyla COL9A1, COL9A2 ve COL9A3 genleri tarafından kodlanan üç farklı α zincirini ($\alpha 1$, $\alpha 2$ ve $\alpha 3$) içeren trimerik bir moleküldür. AF, NP ve

CEP'te Tip IX kollajen bulunur ve Col9a1'deki mutasyonların murin modellerinde IVD dejenerasyonunu etkilediği iddia edilmiştir (Kimura ve ark. 1996). Mutant bir $\alpha 1$ kollajenini aşırı eksprese eden transgenik fareler ve inaktive edilmiş bir Col9a1'e sahip fareler, IVD dejenerasyonunu ve disk kontrolünün insidansını, kontrollere göre yüksek oranlarda hızlandırmış olduğu düşünülmektedir (Kimura ve ark. 1996). Annunen ve ark. Finlandiyalı siyatik hastaları arasında COL9A2'nin Trp2 alleli ile IVD dejenerasyonu arasında bir ilişkiyi iddia eden ilk kişi olmuştur (Annunen ve ark. 1999). Bu bulgu, hem destekleyici hem de destekleyici olmayan kanıtlarla kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır (Wrocklage ve ark. 2000; Kales ve ark. 2004; Jim ve ark. 2005; Seki ve ark. 2006; Higashino ve ark. 2007). Benzer şekilde, Paassilta ve ark. bir Finlandiya siyatik hastası seti kullanılarak COL9A3'ün bir başka Trp allelinin (Trp3) tanımlanması ile sonuçlanmıştır (Paassilta ve ark. 2001). En az bir Trp3 alleli olan kişilerde hastalık riski üç kat artmıştır. Bu bulgunun doğruluğu, Trp3'ün disk dejenerasyonu ile ilişkili olduğu başka bir çalışmada da desteklenmiştir (Solovieva ve ark. 2006). Başka bir çalışmada ise doğrulanamamış: Japon veya Çin halklarında çoğaltılmamıştır (Jim ve ark. 2005; Higashino ve ark. 2007). Ayrıca Güney Avrupa'daki bir çalışmada, Trp3 allelinin vakalardaki varlığı istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır (Kales ve ark. 2004).

2.3.4.3 Tip XI Kollajen

Tip XI kollajen $\alpha 1$, $\alpha 2$ ve $\alpha 3$ zincirlerinden oluşur (Videman ve ark. 2009). Farklı Finlandiya çalışmalarında belirli SNP'lerin disk dejenerasyonu ile birkaç ilişkisi bulunmuştur; ancak bu bulgular diğer topluluklarda çoğaltılmamıştır (Nojonen-Hietala ve ark. 2003). Farklı bir intronik varyasyon ile artan disk hernisi ilişkisinin olduğu iddia etmişlerdir (Nojonen-Hietala ve ark. 2003a; Solovieva ve ark. 2006). İki

COL11A1 ve üç COL11A2 varyantının MRI tanımlı disk herniasyonu ve yoğunluğu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Videman ve ark. 2009).

2.3.4.4 Asporin

Asporin, lösince zengin PG ailesinin küçük bir üyesidir (Song ve ark. 2008). Asporin mRNA, diğer dokularda olduğu gibi eklem kıkırdağında da ifade edilir (Lorenzo ve ark. 2001). Asporin, amino terminalinde 11 ila 15 arasında değişen ardışık bir aspartik asit kalıntısı içerir (Lorenzo ve ark. 2001). Çinli ve Japon denekler arasında, 14 aspartat tekrarlı polimorfik allel, disk dejenerasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Song ve ark. 2008).

2.3.4.5 Kıkırdak Ara Tabaka Proteini (CILP)

Ekzon 8' deki bir CILP polimorfizminin, Japon deneklerin semptomatik dejenerasyonla bağlantılı çalışmasında IVD dejenerasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Seki ve ark. 2005). Fonksiyonel analiz, C allelinin risk alleli olduğunu ve TGF- β 'nın bağlanma ve inhibisyonu ile sonuçlandığına dair başka kanıtlar sunmuştur (Seki ve ark. 2005). Bu bulgu, Japon judo sporcuları arasında da desteklenmiş: C allelini taşıyan erkek deneklerin daha fazla disk dejenerasyonu riski altında olduğu iddia edilmiştir (Seki ve ark. 2005). İlginç bir şekilde, kadın sporcularda böyle bir ilişki bulunamamıştır (Min ve ark. 2009; Min ve ark. 2010).

2.3.4.6 Trombospondinler (THBS)

THBS, ECM ile ilgili çeşitli fonksiyonlara sahip glikoproteinlerdir (Bornstein 1995). Disk dejenerasyonunun patogenezinde önemli olan MMP2 ve MMP9 seviyelerinin düzenlenmesinde yardımcı oldukları düşünülmektedir (Bornstein 1995; Bein ve 2000). Kollajene bağlanma ve doku üretimi sırasında hücre-hücreye ve hücre-matris bağlantılarına katılma eğilimi gösterirler (Friedl ve ark. 2002).

Hirose ve ark. Japon popülasyonunda THBS2 gen varyantı ile disk herniasyonu arasında bir ilişki olduğunu iddia etmiştir (Hirose ve ark. 2008).

Tablo 0.2. IVD Dejenerasyonundaki Genetik Varyantların Özeti

Gen	Polimorfizm	Populasyon	Referans
<i>COL1A1</i>	rs1800012 rs2075555,rs1007086	Hollanda Yunanistan Finlandiya	Plujim ve ark. 2004 Tilkeridis ve ark. 2005 Videman ve ark. 2009
<i>COL9A2</i>	Trp2 allel	Finlandiya Çin	Annunen ve ark. 1999 Jim ve ark. 2005
<i>COL9A3</i>	Trp3 allel	Finlandiya	Paassilta ve ark. 2001
<i>COL11</i>	rs1800587 rs1337185/rs1463035/rs2072915 rs9277933/rs2076311	Finlandiya Finlandiya	Noponen ve ark. 2003 Videman ve ark. 2009
<i>ACAN</i>	VNTR VNTR rs1042631/rs1516797	Japonya Kore Finlandiya Türkiye Finlandiya	Kawaguchi ve ark. 1999 Kim ve ark. 2001 Solovieva ve ark. 2007 Eser ve ark. 2011 Videman ve ark. 2009
<i>ASPN</i>		Çin/Japonya	Song ve ark. 2008
<i>CILP</i>	rs2033711	Çin Japonya	Seki ve ark. 2005 Minet ve ark. 2009/10
<i>MMP1</i>	rs1799750	Çin	Song ve ark. 2008
<i>MMP2</i>	rs243865	Çin	Dong ve ark. 2009
<i>MMP3</i>		Japonya İngiltere Çin	Takahashi ve ark. 2001 Valdes ve ark. 2005 Yuan ve ark. 2010
<i>TIMP</i>	C124T	İngiltere	Valdes ve ark. 2005
<i>IL1A</i>	rs1800587 rs2071375	Finlandiya Finlandiya Danimarka Finlandiya	Virtanen ve ark. 2007 Solovieva ve ark. 2004 Eskola ve ark. 2010 Videman ve ark. 2009
<i>IL1B</i>	rs1143634	Finlandiya	Solovieva ve ark. 2006
<i>IL6</i>	rs13006435 rs1800797/rs1800796/rs1800795	Finlandiya Danimarka	Noponen ve ark. 2005 Eskola ve ark. 2010
<i>VDR</i>	rs2228570 rs731236	Finlandiya Avustralya İngiltere Çin Türkiye	Videman ve ark. 1998 Jones ve ark. 1998 Valdes ve ark. 2005 Valdes ve ark. 2005 Eser ve ark. 2010
<i>PARK2</i>	rs926849	Kuzey Avrupa	Williams ve ark. 2013

2.4. AggreCAN Geni

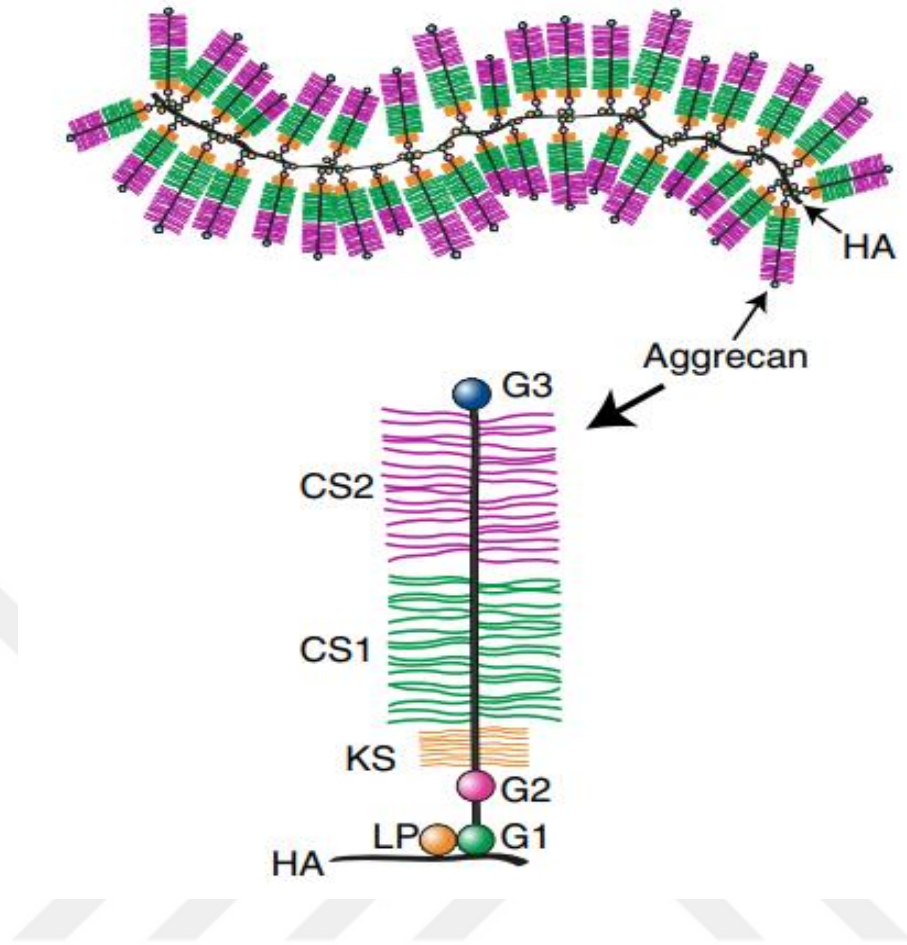
2.4.1. AggreCAN Proteini

AggreCAN (ACAN), ECM' de bulunan ana yapısal proteoglikandır, ACAN' ın ana izoformu yaklaşık 240-270 kD'dir (Vilim ve Fosang, 1993). Kıkırdak fonksiyonunu, kondroitin sülfat (CS) ve keratin sülfat alanlarını (KS) çevreleyen çok sayıda glikozaminoglikan (GAG) ile belirler (Valhmu ve ark. 1995; Kiani ve ark. 2002).

Şekil 2.6'da görüldüğü gibi HA (hyaluronik asit), çözeltide uzun zincirli bir biyopolimer olarak görev yapan büyük bir glikozaminoglikandır (Peter ve John 2014). HA, ACAN' ın tutulmasında link proteinleri ile stabilize edilmiş agregalar oluşturarak kolaylaştırır. ACAN-HA kompleksi, hücre yüzeyinde HA sentaz veya CD44'e bağlı HA ile tutulur (Şekil 2.7). GAG'lar, negatif yüklüdür; bu sebeple, oluşturulan yüksek bir ozmotik şişme basıncı ve yüksek sabit yük yoğunluğu nedeniyle su moleküllerini lokal alana tutan doku sıvısından pozitif yüklü sodyum iyonu çekmektedir (Kiani ve ark. 2002; Roughley 2006; Johnson ve ark. 2014).

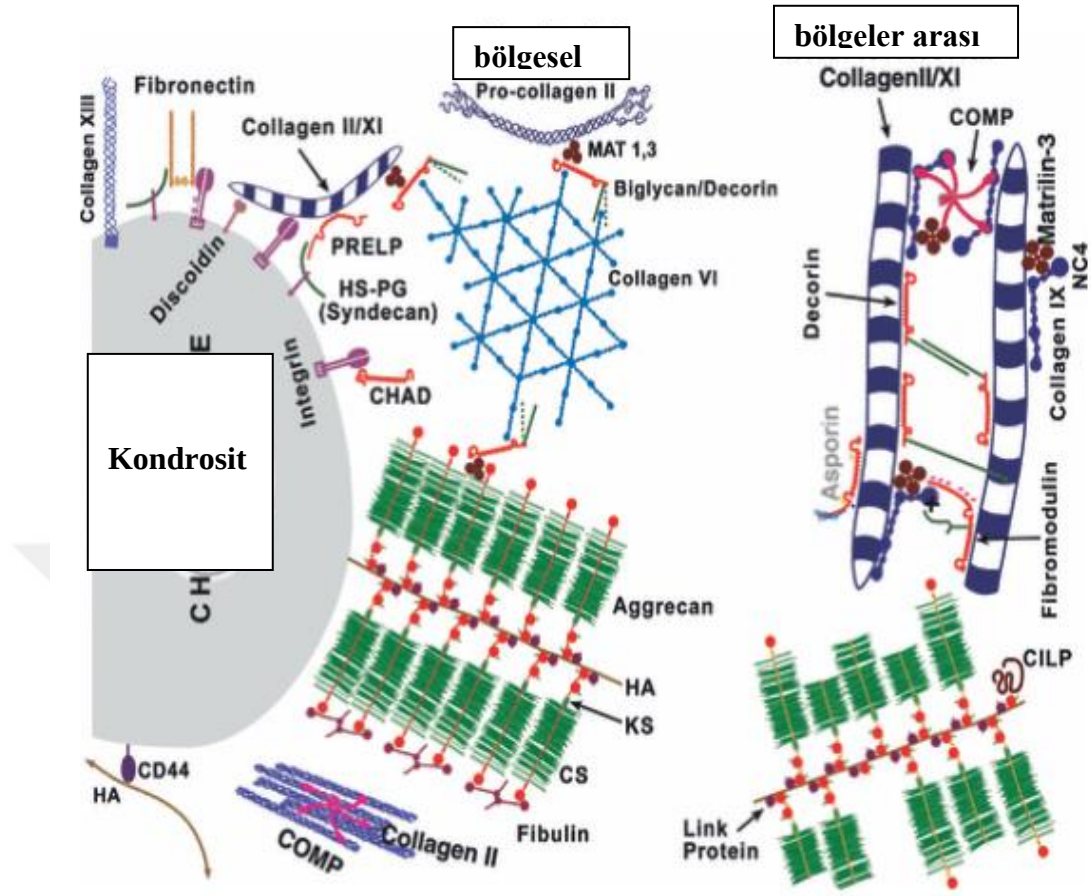
ACAN yeniden yayılmak için çok büyüktür; bu nedenle, basınca dirençli bir jel oluşturur. Ek olarak, ACAN dengede olan ve sistemin gerilme dayanıklılığını sağlayan kollajen çatısı ile sınırlı sulu bir ortamda şişer (Watanabe ve ark. 1998; Kiani ve ark. 2002). Basıncı kuvvet uygulandığında, su yer değiştirir ve ACAN konsantrasyonu artar, bu yük çıkarıldığında denge geri kazanılır. (Watanabe ve ark. 1998; Kiani ve ark. 2002).

ACAN ekspresyonu evrimde iyi korunmuştur: ksenopus, memeliler ve diğer hayvanlarda tarif edilmiştir (Doege ve ark. 1991, Walcz ve ark. 1994, Li ve Schwartz, 1995, Doege ve ark. 2002).



Şekil 2.6. Proteoglikan Agrega Yapısı (Peter ve John 2014)

Kondrosit, kıkırdakta bulunan tek hücre tipi olup, kıkırdak fonksiyonunu veren matrisin tüm gerekli elemanlarını üretir (Heinegard 2009). Aggrecan hem bölgesel hem de bölgeler arasında en bol bulunan proteindir (Heinegard 2009). Şekil 2.7’de görüldüğü gibi ozmotik dengeyi kıkırdakta tutmak için Aggrecan’lar CS ve KS alanlarına bağlanan GAG’lara (yeşil renk) bağlıdır. Kollajen, Aggrecan’ın hareketini engelleyen kondrositin etrafını saran bir ağ oluşturur ve fibrillerin gerginliği, GAG’lerin yarattığı osmotik basıncı dengeler (Heinegard 2009).



Şekil 2.7. Kondrosit Ortamı (Heinegard 2009)

2.4.2. Aggrecan Protein Yapısı

ACAN, olgun 270 kDa proteinlerini ve diğer izoformlarını yapmak için translasyon sonrası modifikasyonlara tabi tutulan bir 370 kDa çekirdek protein öncüsü olarak sentezlenir (Watanabe ve ark. 1997). ACAN, 15q26 kromozomu üzerinde bulunur ve 77 ila 4224 bp arasında değişen 19 ekzondan oluşur (Watanabe ve ark. 1997). GAG bağlanma bölgesinin çoğu ekzon 12 tarafından kodlanmıştır (Watanabe ve ark. 1997).

Şekil 2.8’de görüldüğü gibi ACAN’ ın protein yapısında üç globüler domain, bir interglobüler alan (IGD) ve iki GAG bağlanma alanı, *G2 ve G3 arasında bulunan CS ve KS*, vardır (Morawski ve ark. 2012). G1 ve G2, iki N-terminal globüler domain, disülfid bağlı yapısal motifler göstermektedir. G1, link proteinine benzer üç loop benzeri subdomain-loop A, B ve B’ ’den oluşur. B ve B’ döngüleri, hyaluronik asit bağlama aktivitesi için kritik olan ve bu nedenle ECM ağının oluşumunda önemli olan tandem homolog bir tekrar oluşturur (Morawski ve ark. 2012).

G2, HA bağlama aktivitesinden yoksundur (Watanabe ve ark. 1997). Hem G1 hem de G2 yüksek oranda korunmuştur (Watanabe ve ark. 1997). IGD, matris metaloproteinazlar (MMP’ler) ve Agrekanazlar dahil proteinazlarla bölünmeye karşı hassastır (Watanabe ve ark. 1997). G2 alanı, disülfid bağlı B ve B’ alanlarından oluşur ancak HA ile etkileşime giremez (Watanabe ve ark. 1997). KS domeni, prolin ve serinin 6-kalıntı amino asit tekrarlarından oluşan GAG bağlanmasına izin verir (Watanabe ve ark. 1997). O, O-bağlantılı oligosakaritler veya KS zincirleri ile değiştirilebilir (Watanabe ve ark. 1997). CS alanı, amino asit kompozisyonları ile farklılaştırılmış iki CS1 ve CS2’ye bölünmüş KS alanını takip eder (Watanabe ve ark. 1997). CS1, iki glisin-serin dizisinin 19 amino asit tekrarına sahiptir, insanlarda bu 13-33 tekrar arasında değişir; Bunun sebebi açık değildir (Watanabe ve ark. 1997).

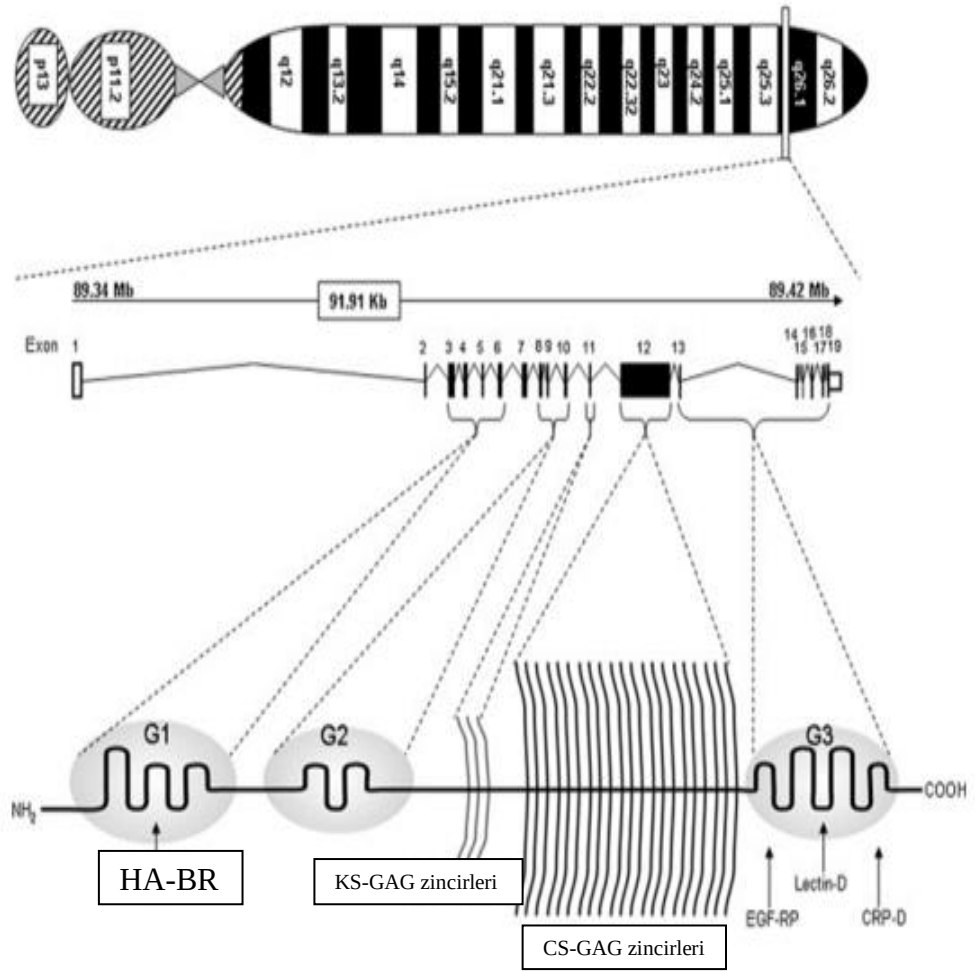
CS, GAG’ler üzerindeki serin kalıntılarına bağlanır. CS2, CS zincirlerinin rastgele dağılımına izin veren değişken miktarda amino aside sahiptir (Watanabe ve ark. 1997). Bununla birlikte, bu bölge Agrekanazlardan ayrılmaya yatkındır. CS alanı en büyük alandır ve Aggrekan çekirdek proteininin ortasında bulunur (Melin Furst ve ark. 2013). CS1 ve CS2 olarak iki alt alana bölünmüştür; Tek bir ekzon için kodlanan CS zincirleri, tekrarlayan disakaritler N-asetilgalaktozamin ve glukronik asit birimlerinden

oluşur, N-asetilgalaktozamin karbon 6 ve 4 sülfatlanma yerleridir. Son olarak, G3 alanı, hücre içi değiş-tokuşlarda ve moleküllerin salgılanması için esastır (Melin Furst ve ark. 2013). Üç yapısal motiften oluşur: EGF benzeri, Lectin ve CRP benzeri. Lektin alanı, diğer ECM proteinleriyle in vitro etkileşime girebilir. Lektin benzeri alanın, kompleman yolunu aktive ettiği bulunmuştur (Melin Furst ve ark. 2013). Proteoliz nedeniyle, G3 alanı normalde olgun Aggreacan molekülünde parçalanır (Watanabe ve ark. 1997). Hyaluronan, her yerde bulunan bir disakarit zincirleridir ve B ve B'lerin bölgelerindeki ACAN' a kovalent olmayan bir şekilde bağlanır ve Agregatları oluşturur (Watanabe ve ark. 1997).

ACAN, ECM' ye monomerler olarak salgılandıktan ve ara bağ proteini ile matrilin-1'le hyaluronana bağlandıktan sonra, kondrositin ECM' sinin farklı bölgeler oluşturmasını sağlar (Heinegard 2009) ve bu da Şekil: 2.7'de görüldüğü gibi kollajen fibrillerinin ACAN' ın bir ağ oluşturduğu bölgede işlevini zorlaştırır (Heinegard 2009)

2.4.3. Aggreacan'ın İşlevi

Aggreacan, intervertebral disk ve kıkırdakta basınç yüklerine dayanma yeteneği sağlar. Lokalize yüksek Aggreacan konsantrasyonları normal doku fonksiyonu için gerekli olan ozmotik özellikleri sağlar (Urban ve ark. 2000) ve GAG'lar dokudaki basınç yüklerini önleyen şişme basıncını üretir. Bu işlevsel yetenek, doku hücre dışı matrisinde bulunan yüksek bir GAG / Aggreacan konsantrasyonuna bağlıdır. Büyük proteoglikan agregalarının oluşumu, Aggreacan'ın hücre dışı kıkırdak matrisindeki hareketini sınırlandırmak ve bu nedenle basınç altında bölgeden difüzyonu engellemek için gereklidir (Urban ve ark. 2000).



Şekil 2.8. ACAN Proteini ve Gen Organizasyonu (Morawski ve ark. 2012)

Proteoglikanın büyüklüğü, intervertebral disk içerisinde tutulmada kritik bir faktör gibi görünmemektedir; burada, eşsiz fibrocartilagin organizasyonu, hyaluronan etkileşiminden bağımsız olarak Aggrecan'ın proteolitik bozunma ürünlerinin birikmesine izin vermektedir (Walsh ve Lotz 2004). Eklem kıkırdağında bu tür bozunma ürünleri sinovyal sıvıya kaybedilir. Aggrecan bozunumunun kapsamı, intervertebral disk ile kıkırdak arasında değişebilir, disk Aggrecan'ı yetişkinlerde genellikle daha kapsamlı bir bozulmaya uğramıştır (Walsh ve Lotz 2004).

Hücre dışı matristeki Aggreacan/GAG içeriğinde bir azalmaya neden olan herhangi bir faktör, dokunun yük altında aşırı sıkıştırılmasına neden olabilir. Bu da artmış proteinaz salgılanması ve daha sonra doku dejenerasyonu ile disk hücreleri veya kondrositler tarafından olumsuz bir tepkiye neden olabilir (Walsh ve Lotz 2004).

2.4.4. ACAN Polimorfizmi ve Doku Dejenerasyonu

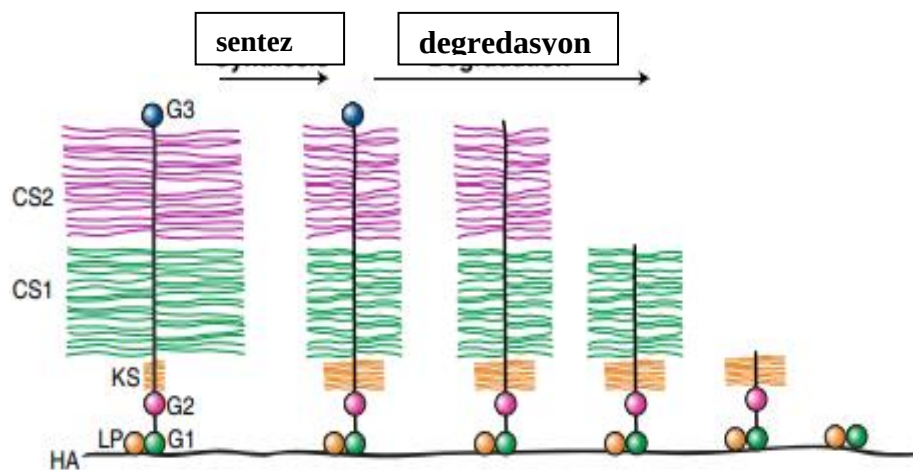
ACAN çekirdek proteininin CS1 alanı, 19 amino asidin çoklu tekrarlarından oluşur (Doege ve ark. 1997). Her tekrar, iki CS zinciri için potansiyel ek siteleri içerir (Doege ve ark. 1997). ACAN, CS1 alanını şifreleyen ekson 12'nin bir bölümünde değişken sayıda tandem tekrar (VNTR) polimorfizmine sahip olduğu türler arasında benzersizdir (Doege ve ark. 1997). Alleller, CS1 tekrar sayıları 13 ila 33 arasında değişmektedir. En yaygın alleller 26, 27 veya 28 tekrara sahiptir (Doege ve ark. 1997). ACAN genine ait alleller A13–26 kısa, A27 normal ve A28–33 uzun aleller olmak üzere üç gruba ayrılmıştır (Doege ve ark 1997). Daha uzun allellere sahip olan bireylerin daha fazla sayıda CS zincirini taşıyan Aggreacan üretme potansiyeline sahip oldukları düşünülmektedir (Doege ve ark. 1997). CS ikamesi, en kısa ve en büyük allellerinin ürünleri arasında Aggreacan çekirdek proteini başına yaklaşık olarak 40 CS zinciri ile değişir (Doege ve ark. 1997).

En kısa Aggreacan alleleline sahip olan bireyler, Aggreacan molekülleri üzerinde en az sayıda CS zincirine sahip olacaktır ve bu, Aggreacan fonksiyonunun bozulmasına neden olabilir (Peter ve John 2014). Bu durum doku dejenerasyonuna karşı artan bir duyarlılığa yol açabilir. CS1 polimorfizminin sonuçları Aggreacan'ın CS içeriğinde, çekirdek proteinin proteolitik işleminin kümülatif etkileri nedeniyle yetişkinlerde daha belirgin olacaktır (Peter ve John 2014). Bu tür işlemlerin, metaloproteinazların, özellikle de Agrekanazların etkisine bağlı olduğu ve CS2 bölgesinin bir kısmının veya

çoğunun uzaklaştırılmasıyla sonuçlandığı düşünülmektedir. Bu durum, CS1 bölgesinin, Aggrecan fonksiyonuna katkısını büyütür ve erişkinlerde yaşla birlikte artan doku dejenerasyonuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Peter ve John 2014).

Şekil 2.9’da Aggrecan yapısındaki sentez ve bozunma nedeniyle meydana gelen değişiklikler tasvir edilmiştir (Peter ve John 2014). Sentezden kaynaklanan değişiklikler kondroitin sülfat uzunluğunda bir artışa ve keratan sülfat uzunluğunda bir azalmaya neden olur. Bozulmaya bağlı değişiklikler, G3 bölgesinin çıkarılması, GAG bağlanma bölgesi içindeki kesim ve G1 ile G2 bölgeleri arasındaki kesilme yoluyla, Aggrecan çekirdek proteininin uçtan kesilmesine neden olur (Peter ve John 2014).

Bu sebeple, en kısa allel boyuna sahip bireylerin, yaşa bağlı erken yaşta intervertebral disk ve eklem kıkırdak dejenerasyonu için risk altında olabileceğini düşünmek mantıksız değildir. Bununla birlikte, böyle verilerin yorumlanması zordur, Aggrecan CS1 polimorfizminin, intervertebral disk ve kıkırdak dejenerasyonunun bir göstergesi olarak kullanılmasıyla ilgili potansiyel değer ve sınırlamaları gözden geçirmek için uygun bir zamandır.



Şekil 2.9. Aggrecan Proteininin Yapısında Yaşa Bağlı Oluşan Dejeneratif Değişiklikler (Peter ve John 2014)

Aggreccan geninin IVD ile ilişkisini araştırmak için farklı populasyonlarda çalışmalar yapılmıştır (Kawaguchi ve ark. 1999; Videman ve ark. 2001; Solovieva ve ark. 2007).

Kawaguchi ve ark. MR'da çok düzeyli disk dejenerasyonu olan Japon kadınlarda bu polimorfizm ile disk dejenerasyonu arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk kişilerdir. Daha az tekrara sahip olan alleller (18 veya 21), IVD dejenerasyonuna sahip olanlar arasında fazla miktarda temsil edilmiştir (Kawaguchi ve ark. 1999). Bu bulguya, disk dejenerasyonu olan bireylerde 21 tekrarlı allellerin fazla temsil edildiğini bildirdikleri bir Kore araştırması destek olmuştur (Kim ve ark. 2011). Videman ve ark. Aggreccan gen polimorfizmlerinin MRG'de spesifik dejeneratif fenotiplerle ilişkilerini bildirmişlerdir. Daha spesifik olarak varyant rs1042631, disk herniasyonu ve sinyal yoğunluğu kaybı ile ilişkiliyken varyant rs1516797, disk daralması ile ilişkilendirilmiştir (Videman ve ark. 2009).

3. MATERYAL METOD

3.1 Çalışma Grupları

T.C. Sağlık Bakanlığı DPÜ Kütahya Evliya Çelebi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahi Servisine başvuran ve IVDH tanısı konan 150 hasta grubu ile sağlıklı 110 birey çalışma grubunu oluşturmuştur. Hasta ve kontrol grubundaki bireylerden çalışmamıza dâhil edildiklerine dair izinleri alınmıştır. IVDH hastalarının ve kontrol grubundaki bireylerin çalışmaya dahil edilip edilmeme kriterleri Tablo 3.1'de verilmiştir. Bu çalışma için, Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır. Çalışmanın tamamı Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Tablo 3.1. Hastaların ve Kontrol Grubundaki Kişilerin Araştırmaya Dâhil Edilme ve Edilmeme Kriterlerinin Gösterimi

Dâhil Edilme Kriterleri	Araştırmanın hasta grubu için dâhil etme ölçütleri; 1.IVDH tanısı konmuş hastalar, 2.Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamış olması, 3.18 yaşından büyük olması,
	Araştırmanın kontrol grubu için dâhil etme ölçütleri; 1.IVDH tanısı almamış olmak, 2.Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamış olması, 3.18 yaşından büyük olması,
Dâhil Edilmeme Kriterleri	Araştırmanın hasta grubu için dâhil etmeme ölçütleri; 1.IVDH tanısı almamış olmak, 2.Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamamış olması, 3.18 yaşından küçük olması,
	Araştırmanın kontrol grubu için dâhil etmeme ölçütleri; 1.Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamamış olması, 2.18 yaşından küçük IVDH tanısı almış olmak

3.2 Çalışmada Kullanılan Alet Ve Cihazlar

Tez çalışmasında kullanılan cihaz isimleri ve markaları Tablo 3.2’ de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar

CİHAZLAR	MARKALAR
PZR	5 Prime Termal Cyclers, 5PRIMEG102
Bilgisayar	Eperintelcore
Jel Görüntüleme Cihazı	Transilluminator
Santrifüj	Zentrifugen, D-78 532
Vorteks	Velp Scientifica, F20220176)
Su Banyosu	Nüve BM 302
Hassas Terazı	KERN,ABJ 220-4M
Manyetik Karıştırıcı	VELP Scientifica,F20520162
pH Metre	İhanna, 507702
Mikrodalga Fırın	Arçelik MD554
Elektroforez Tankı	Cleaver Scientifica,MHCHOİCE
Elektroforez Güç Kaynağı	Consort, EV26
Buzdolabı	Vestel, BZP-L3302W
Etüv	Memmert, Beschickung-Loading 100- 800
Otoklav	HMC Hirayama, HV-25L

3.3. Metod

3.3.1. Genomik DNA İzolasyonu

Çalışma grubundaki bireylerden EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetik Asit) içeren tüplere alınan 5 ml kan örnekleri, çalışma yapılınca kadar buzdolabında +4°C’de saklandı. Bu kanlardan 200 µl alınarak Thermo Scientific DNA izolasyon kiti ile hasta ve kontrol gruplarının DNA’ları elde edildi.

DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler:

- Genomic DNA Purification Kit, lot: 00208193)
- Proteinaz K (Thermo Scientific, lot: 00200657)
- RNaz (Thermo Scientific, lot: 1383185)
- Lysis solution (Thermo scientific, lot:00205333)

- Ethanol (96–100%) (Emsure, K45813683 431)
- Wash buffer I (Thermo scientific, lot: 00203716)
- Wash buffer II (Thermo scientific, lot:00203067)
- Elution buffer (Thermo scientific, lot:00200529)

DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Sarf Malzemeler:

- Filtreli tüpler
- Receiver tüpleri
- Eppendorf tüpleri
- Otomatik pipetler (10–100 µl ve 100–1000 µl)
- Steril sarı ve beyaz pipet uçları
- 1.5 ml'lik Eppendorf tüpleri
- Steril eldiven
- Rak
- Etiket

DNA İzolasyonunda Uygulanan Protokol:

EDTA'lı tüpler homojenize olabilmesi için vortekslenilir.

1. EDTA'lı tüplerden 200 µl kan eppendorf tüplere aktarılır.
2. Üzerine 20 µl proteinaz K ile 20 µl RNaz her bir tüpe eklenir. Eppendorf tüpler kısa bir şekilde vortekslenir.
3. 400 µl Lysis solüsyonu eklenerek 7-8 saniye vortekslenir. 55°C'de su banyosunda 10 dakika inkübe edilir.
4. Spin filtreler, Receiver tüplerine yerleştirilir.

5. Üzerine 200 µl Ethanol (% 96-% 100) eklenir, 7-8 saniye vortekslenir ve filtreli tüplere aktarılır.
6. 11.000 rpm'de 1 dakika boyunca filtreli tüpler santrifüje edilir. Filtreler, Recevier tüplerinden çıkarılır. Filtreler tekrar Recevier tüplerine yerleştirilir.
7. Filtrelerin üzerine 500 µl Wash Buffer I eklenir ve 11.000 rpm'de 1 dakika santrifüje edilir. Tekrar filtreler, Recevier tüplerinden çıkarılır. Filtreler tekrar Recevier tüplerine yerleştirilir.
8. Filtrelerin üzerine 500 µl Wash Buffer II eklenir ve 13.000 rpm'de 3 dakika boyunca filtreli tüpler santrifüje edilir ve Recevier tüpleri boşaltılarak filtreler Eppendorf tüplerine alınır.
9. Elution Buffer her örnek için 200 µl olmak üzere filtrelerin üzerine bırakılır. 13.000 rpm'de 1 dakika santrifüje edilir.
10. Eppendorf tüplerine hasta ve kontrol grubu numaraları yazılarak DNA izolasyon aşaması bitirilir.
11. PZR işlemi yapılana kadar buzdolabında -20°'de saklanır.

3.3.2. Genomik DNA'nın Kalitatif Tayini

1,2 g agaroz, 60 ml 1×TBE içerisinde mikrodalgada kaynatılarak çözündürüldü, 60°C'ye kadar soğutulduktan sonra 1,8 µl etidyum bromür (10mg/ml) eklendi. Sıvı haldeki jel, tarakları yerleştirilmiş olan agaroz jel elektroforez kabına dökülerek donmaya bırakıldı. 1-2 µl DNA, toplam hacim 4 µl olacak şekilde 10×yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklendi. Örnekler 1×TBE tamponu içerisinde, 125 voltta (v)

25 dakika yürütüldükten sonra jel, UV altında incelendi ve genomik DNA'nın kalitesi analiz edildi.

3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Amplifikasyonu

3.3.1. Aggrecan Gen Polimorfizminde Uygulanan PZR Protokolü

Çalışmamızda *Aggrecan* geninin 12. ekzonunda yer alan hedef CS1 kodlama domaini VNTR polimorfizmini araştırmak için Kawaguchi ve arkadaşlarının (1999) kullandığı primer çiftleri tercih edilmiştir (**Tablo 3.3**).

Tablo 3.3. ACAN Geni VNTR Polimorfizminin Analizinde Kullanılan Primerler ve Hedef Gen Uzunluklarının Gösterimi

Gen	Spesifik Primerler
ACAN (forward)	5'-TAGAGGGCTCTGCCTCTGGAGTTG-3'
ACAN (reverse)	5'-AGGTCCCCTACCGCAGAGGTAGAA-3'

PZR için DNA replikasyonu sırasında gerekli olan temel bileşenler kullanılmaktadır (**Tablo 3.4**).

Tablo 3.4. ACAN Gen Bölgesi İçin Kullanılan PZR Karışımının Gösterimi

PZR Bileşenleri	µl/Tüp (Tek örneklik)
Steril bidistile Su	18
10×Tampon(Buffer)(GeneAll,CatNo: 501-310)	2,5
MgCl ₂ (25mM) (Thermo Scientific; Lot: 00134257)	0,4
dNTP (100 mM, Thermo, Lot: 00119169)	0,3
Forward primer (10p/mol)	0,8
Revers primer (10p/mol)	0,8
Taq DNA polimeraz (GeneAll Lot:501-020)	0,2
Hedef DNA	2
Toplam	25

Thermal Cycler (Techne, TC 4000, TC 412) PZR cihazı, kullanılarak **Tablo 3.5**'de gösterilen PZR programı uygulanmıştır.

Tablo 3.5. ACAN Gen Bölgesi İçin Kullanılan PZR Programının Gösterimi

	Sıcaklık (°C)	Zaman (sn)	Döngü Sayısı
İlk denatürasyon	94°C	4dk	32
Denatürasyon	94°C	30	
Bağlanma	66°C	30	
Uzama	72 °C	30	
Final Uzama	72 °C	5 dk	

3.3.2. PZR Ürünlerinin Elektroforezde Değerlendirilmesi

3.3.2.1. Elektroforezde Kullanılan Solüsyonlar

EDTA Solüsyonu (Amresco; Lot: 3228B038) (0,5 M) Hazırlanışı: 18,16 gr $\text{Na}_2\text{EDTA} \times 2\text{H}_2\text{O}$ 80 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çözülmenin oluşabilmesi için 2,0 gr NaOH (Riedel-de Haen, Lot:70440) karışma eklendi (pH: 8,0 olacak). pH ayarlaması HCl ile yapıldı ve 100ml'ye tamamlandı (distile su ile). pH metre (HANNA, 507702) ile pH 8'e ayarlandıktan sonra hazırlanan EDTA solüsyonu, otoklavlanıp (121°C 20 dk) oda sıcaklığında saklandı.

5×TBE (Tris-Borat-EDTA) Tamponu: 54 gr Trisma Base (Sigma; Lot:SLBF2582V), 27,5 gr Borik Asit (Carlo Erba; Lot: 0L057180L) ve 20 ml EDTA 500 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Homojen olunca 1 litreye distile su ile tamamlanarak çözüldü. Çözelti oda ısısında saklandı.

Etidyum Bromid (EtBr) Solüsyonu (Serva, 090107) (10mg/ml): 0,1 gr EtBr 10 ml distile su içerisinde bir gece boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Kullanılacak tüpler alüminyum folyo ile kaplandı. Hazırlanan solüsyon +4°C'de saklandı.

Elektroforez Yürütme Tamponu: 5×100 ml TBE tamponu 400 ml distile su ile seyreltilerek 1×TBE hazırlandı.

3.3.2.2. %2'lik Agaroz Jel Hazırlanması (100ml)

PZR ürünlerinin yükleneceği kutucukların oluşması için elektroforez tankına konan jel kasetinin tarakları takılır. 2 gr agaroz (Prona, Lot: 134527PR) hassas terazide tartılıp, 100 ml 1×TBE erlenmayer içerisine eklenir ve karıştırılır. Mikrodalga fırında 2 dakika ısıtılarak çözünmesi sağlanır. Çözelti sıcaklığı yaklaşık 60-70°C'de olacak şekilde soğumaya bırakılır. 3 µl EtBr (10mg/ml) soğuyan çözeltiye eklenir, hızlı bir şekilde iyice karıştırılır. EtBr; jel görüntüleme cihazında, UV ışını altında agaroz jeldeki çift zincirli DNA'nın bazları arasına girerek PZR ürünlerinin görünmesini sağlar. Hazır halde bekletilen jel kasetinin içerisine jel çözeltisi dökülerek donması için yaklaşık 25 dakika beklenilir. Jel donduktan sonra taraklar çıkartılır. Hazırlanan %2'lik agaroz jel, kaset içerisinde elektroforez tankına yerleştirilir.

3.3.2.3. PZR Ürünlerinin Agaroz Jele Yüklenmesi

Elektroforez tankının içerisine, elektroforez güç kaynağı özelliğinden yararlanmak için jel içerisinde DNA'nın (-) kutuptan (+) kutba doğru göç etmesini sağlayan ve elektriksel ortam için gerekli olan 1×TBE çözeltisinden konulur.

ACAN PZR ürünlerinden ayrı ayrı 5 µl alınır. PZR ürünlerini jelde takip etmek için yaklaşık 1 µl (6×) jel yükleme tamponu (Loading Dye) (Lot: 00216922) ile pipetaj yapılır. PZR ürünleri elektroforez tank içerisindeki jel kutucuklarına yüklenir. Jeldeki orta kuyucuğa ürünün bant boyutunu belirleyebilmek için, uzunluğu bilinen kontrol (marker) yüklenir. PZR ürünleri 125 volt'ta 25 dakika yürütülür. Yürütme işleminden sonra jel, jel görüntüleme cihazında UV ışığı altında görünür hale getirilir.

3.4. İstatistiksel Yöntemler

Veriler IBM SPSS İstatistik Paket Program Versiyon 20.0 ve Openepi 3.01 (www.openepi.com) yazılım programlarına aktarılarak değerlendirildi. Ortalama değerler "aritmetik ortalama±standart sapma" olarak verildi. *ACAN* gen polimorfizmi ile klinik ve demografik özellikler arasındaki anlamlılık ve farklar Ki-kare, Fisher exact veya varyans analizi (ANOVA testleri) yapılarak belirlendi. Risk faktörlerinin belirlenmesi için Olasılıklar Oranı (OR) ve %95 Güven Aralığı (CI) kullanıldı. Bütün p değerleri iki uçluydu ve $p<0.05$ olması durumu istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Belirlenen genotip sıklıklarında, Hardy-Weinberg dengesinden yararlanarak hastalarda sapma olup olmadığı; kontrollerde ise uyumlu olup olmadığı Ki-kare (χ^2) testi ile belirlendi.

4. BULGULAR

Çalışma grupları, DPÜ Kütahya Evliya Çelebi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahi Servisine başvuran IVD hastalarından ve hasta olmayan kontrol grubundan oluşturuldu. Çalışmamız *ACAN* gen polimorfizminin disk hernili hastalara etkisini belirlemek için yaş ortalaması $51,46 \pm 16,35$ olan 150 IVD hastası ile yaş ortalaması $48,29 \pm 11,89$ olan 110 sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplamda 260 birey üzerinden yürütüldü. (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Hasta Ve Kontrol Grubunun Cinsiyet, Yaş Ortalamalarına Ait İstatistiksel Bulguların Gösterimi

		Deneygrubu			p
		Hasta (n=150)	Kontrol (n=110)	Total	
Yaş		$51,46 \pm 16,35$	$48,29 \pm 11,89$	$50,12 \pm 14,92$	0,086
Cinsiyet	kadın	83(55,3)	63(57,3)	146(56,2)	0,756
	erkek	67(44,7)	47(42,7)	114(43,8)	

IVD hastaları ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaş ortalamaları birbiri ile uyumlu idi. Bu çalışmada; *ACAN* gen VNTR polimorfizmlerinin analizi PZR yöntemiyle gerçekleştirildi.

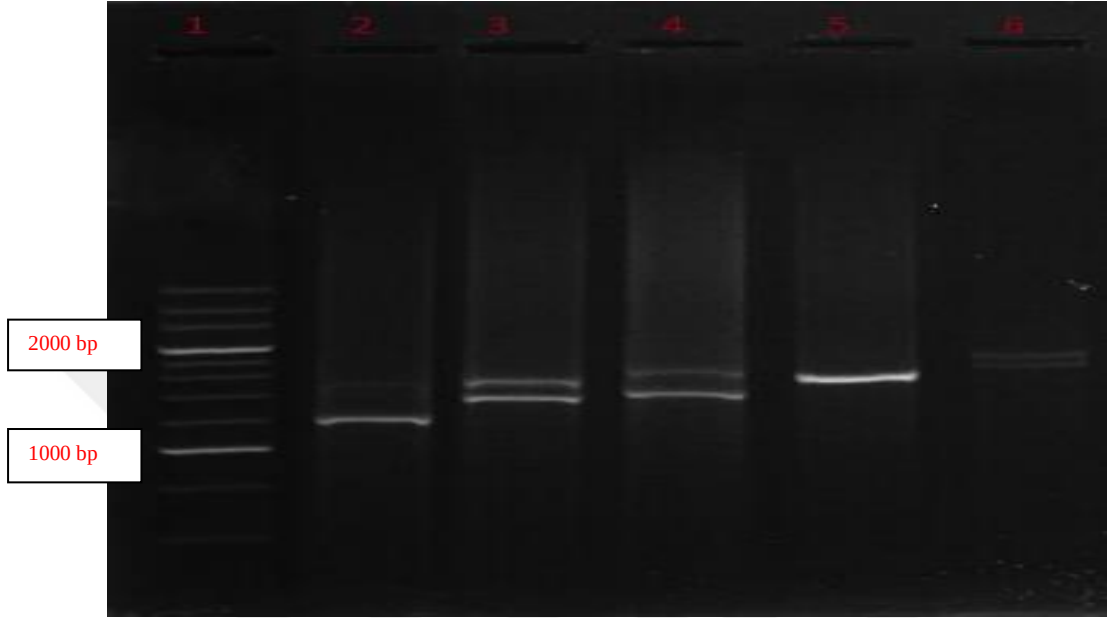
4.1. DNA'nın Kalitatif Tayini

Genomik DNA'lar %2'lik agaroz jel elektroforezinde her bir bölge için analiz edildi. Genomik DNA'lara ait bantlar ultraviyole (UV) ışık altında gözlemlendi.

4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Analizleri

ACAN geni VNTR polimorfizmi, Tablo 3.4'te gösterilen PZR karışımı ve Tablo 3.5'te belirtilen PZR programına göre çoğaltılarak %2'lik agaroz jel elektroforezinde incelendi.

Şekil 4.1’de görüldüğü gibi, UV’ de belirlenen bant boylarına göre PZR ürünleri değerlendirildi.



Şekil 4.1. *ACAN* geni PZR ürünlerinin %2'lik Agaroze Jeldeki Görünümleri

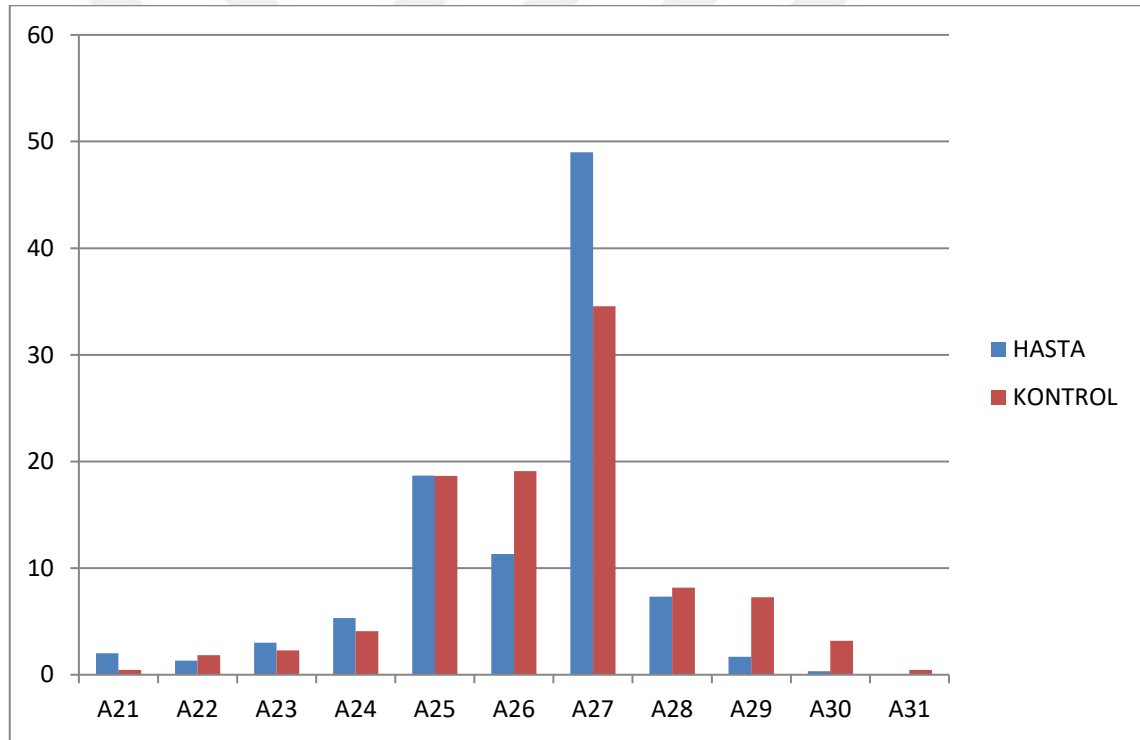
(1.sıra 200 bp DNA Marker, 2.sıra A21/A26, 3.sıra A23/A26, 4.sıra A24/A27, 5.sıra A26, 6.sıra A27/A29)

Çalışmamızda *ACAN* geninin 12. ekzonundaki VNTR polimorfizminde 11 allel açısından değerlendirme yapıldı. Hasta grubunda uzun allellerden A31’e rastlanılmadı. En sık rastlanan allel A27 olup, A26 ($p=0,013$), A27 ($p = 0.001$), A29 ($p=0,001$), A30 ($p=0,001$) hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark rastlanmıştır ($p < 0,05$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Gruba Göre Genotip Dağılımı

Allel	Hasta (n=300)	Kontrol (n=220)	p
A21 (1231 bp)	6(2)	1(0,45)	0,130
A22 (1288 bp)	4(1,33)	4(1,82)	0,657
A23 (1345 bp)	9(3)	5(2,27)	0,613
A24 (1402 bp)	16(5,33)	9(4,09)	0,513
A25 (1459 bp)	56(18,67)	41(18,64)	0,993
A26 (1516 bp)	34(11,33)	42(19,09)	0,013
A27 (1573 bp)	147(49)	76(34,55)	0,001
A28 (1630 bp)	22(7,33)	18(8,18)	0,719
A29 (1687 bp)	5(1,67)	16(7,27)	0,001
A30 (1744 bp)	1(0,33)	7(3,18)	0,001
A31 (1801 bp)	0(0)	1(0,45)	0,242

Ki-kare testi kullanıldı.

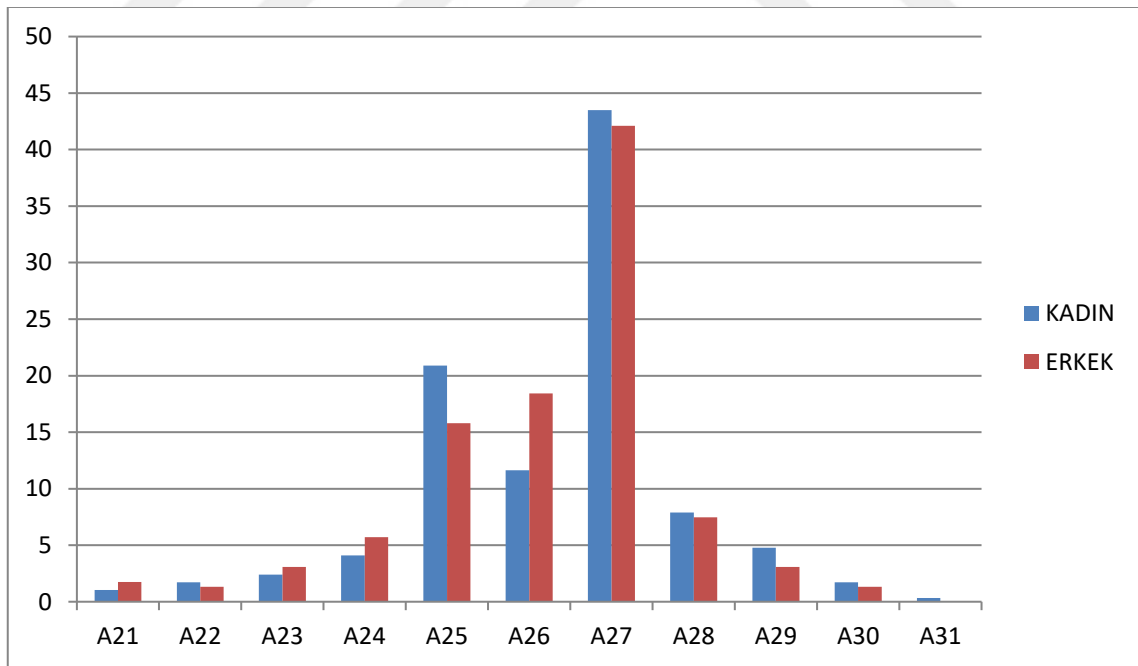
**Şekil 4.2.** Hasta ve Kontrol Grupların Allel Frekanslarının Karşılaştırılması

ACAN geninin 12. ekzonundaki VNTR polimorfizmin cinsiyete göre genotip dağılımında A26 allelinde anlamlı bir fark çıkmıştır ($p < 0,05$).

Tablo 4.3. Cinsiyete Göre Genotip Dağılımı

Allel	Kadın (n=146)	Erkek (n=114)	p
A21	3(1,03)	4(1,75)	0,475
A22	5(1,71)	3(1,32)	0,715
A23	7(2,4)	7(3,07)	0,638
A24	12(4,11)	13(5,7)	0,399
A25	61(20,89)	36(15,79)	0,138
A26	34(11,64)	42(18,42)	0,030
A27	127(43,49)	96(42,11)	0,751
A28	23(7,88)	17(7,46)	0,858
A29	14(4,79)	7(3,07)	0,321
A30	5(1,71)	3(1,32)	0,715
A31	1(0,34)	0(0)	0,377

Ki-kare testi kullanıldı.



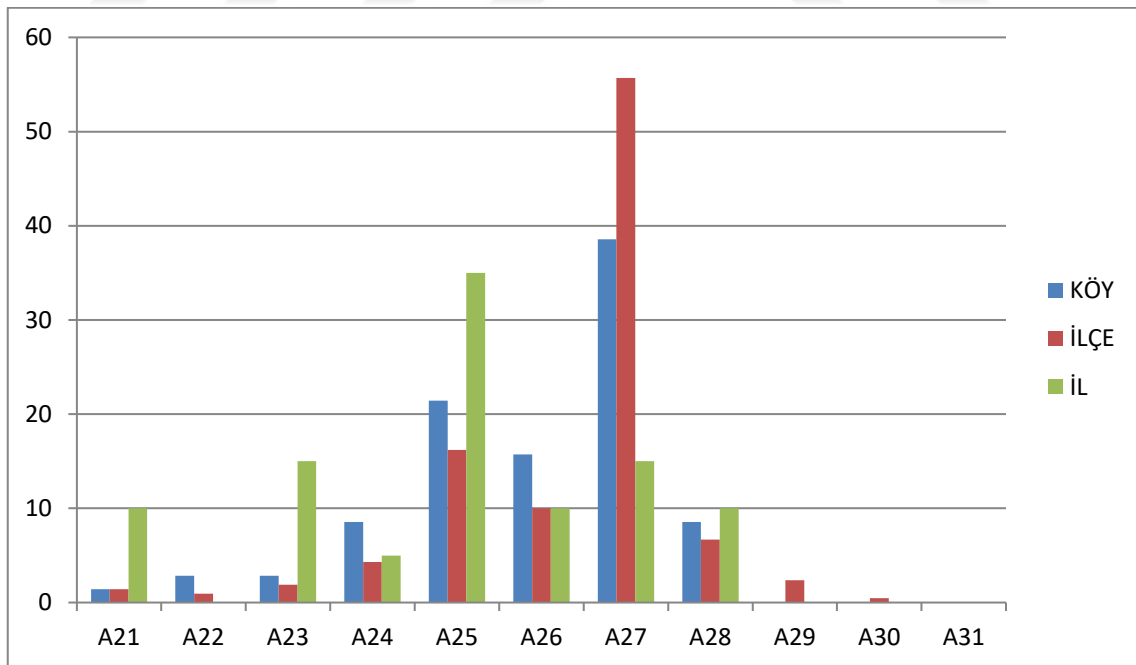
Şekil 4.3. Cinsiyete Göre Allel Frekanslarının Karşılaştırılması

ACAN geninin 12. Ekzonundaki VNTR polimorfizminin hastaların yaşadığı yere göre incelenmesinde A27,A23, A21 allellerinde anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$).

Tablo 4.4. Yaşadığı Yer Göre Genotip Dağılımı

Allel	Köy (n=70)	İlçe (n=210)	İl merkezi (n=20)	p
A21	1(1,43)	3(1,43)	2(10)	0,030
A22	2(2,86)	2(0,95)	0(0)	0,419
A23	2(2,86)	4(1,9)	3(15)	0,005
A24	6(8,57)	9(4,29)	1(5)	0,384
A25	15(21,43)	34(16,19)	7(35)	0,095
A26	11(15,71)	21(10)	2(10)	0,418
A27	27(38,57)	117(55,71)	3(15)	<0,001
A28	6(8,57)	14(6,67)	2(10)	0,777
A29	0(0)	5(2,38)	0(0)	0,336
A30	0(0)	1(0,48)	0(0)	0,807
A31	0(0)	0(0)	0(0)	-

Ki-kare testi kullanıldı.



Şekil 4.4. Yaşadığı Yere Göre Allel Frekanslarının Karşılaştırılması

5.TARTIŞMA

İntervertebral Disk Dejenerasyonu (IVDD), Low Back Pain'e (Kronik bel ağrısı) neden olan önemli bir patolojik süreçtir ve servikal ile lomber disk herniasyonunun ön şartıdır (Rannou ve ark. 2004). IVDD, “normal” yaşlanma değişikliklerine dayatılan, başta mekanik hareket ve travma olmak üzere çevresel faktörlerin birikimine bağlıdır (Chan ve ark. 2006). Bununla birlikte, aileler ve ikizler üzerindeki epidemiyolojik çalışmalar, kalıtımın IVDD' nin ana belirleyicisi olabileceğini göstermiştir (Battie ve ark. 1995; Matsui ve ark. 1998; Sambrook ve ark. 1999). Son çalışmalar, çeşitli gen polimorfizmlerinin IVDD riskleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Kalb ve ark. 2012).

Aggrekan, intervertebral disk ve eklem kıkırdağının fonksiyonel olarak önemli bir bileşeni olan büyük bir agrega proteoglikanıdır. İnsan Aggrekan genlerinin (ACAN) CS1 domaini içerisinde değişken sayıda tandem tekrar (VNTR) polimorfizmi sergiledikleri bilinmektedir (Doege ve ark. 1997). Aggrekan gen ürünü için cDNA sekansı 7137 baz çiftidir ve gen, 15q25 →q26.2'ye lokalize edilir (Just ve ark. 1993). Aggrekan, amino terminalindeki iki küresel domainden (G1 ve G2), keratan sülfat (KS) bölgesi, kondroitin sülfat (CS) domeni ve G3 domaininden oluşur. Doege ve ark. (1997), CS domaininde 13 farklı allel tanımlamış ve bu polimorfizmin Aggrekan çekirdek proteininin uzunluğundaki farkı ürettiğini gözlemlemiştir. ACAN VNTR polimorfizmi ile IVDD riski arasındaki ilişki yeni birçok çalışmada incelenmiştir. Kawaguchi ve ark. (1999) ilk olarak, ACAN'ın daha kısa VNTP uzunluğuna sahip bireylerinin IVDD riski oluşturduğunu bildirmiştir. ACAN gen polimorfizmleri ile intervertebral disk dejenerasyonu arasında korelasyon gösteren ilk çalışmadır. Ortalama yaşları 21.3 olan 64 genç kadın (32 hasta, 32 kontrol) incelenmiş; en yaygın allel A27

bulunmuştur. A18 veya A21 tekrarlı alleller (kısa) şiddetli veya çoklu disk dejenerasyonu olan kişilerde daha yaygın bulunmuştur. Bu verilere dayanarak, araştırmacılar kısa tekrarlayan allellere sahip bireylerin kısa kondroitin sülfat-1 (CS1) alanlarına sahip oldukları ve dolayısıyla erken disk dejenerasyonu gelişme riskinin daha yüksek olduğu sonucuna varmışlardır (Kawaguchi ve ark. 1999). Ayrıca Solovieva ve ark. (2007), Cong ve ark. (2010), Mashayekhi ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmalarla bu fikir desteklenmiştir. Bununla birlikte, Roughley ve ark. (2006), Noponen-Hietala ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmalar böyle bir ilişki göstermemiştir.

Disk dejenerasyonu, disk herniasyonu riski oluşturabilir (Wiesel ve ark. 1996). Disk herniasyonu mekanizması karmaşıktır, Dejenere diskte moleküler bir bozulmanın meydana geldiği tahmin edilmektedir (Wiesel ve ark. 1996). Bu durum, diskteki suyun depolanmasından kaynaklanan ozmotik basıncı artırabilir; özellikle anulusta önceden mevcut dejeneratif yırtık varsa, diskin yırtılmasına yol açan intradiskal basınçta artış meydana gelebilir (Wiesel ve ark. 1996). Ayrıca, disk herniasyon gelişiminin, aşırı fiziksel yük (Kelsey ve ark. 1984) ve motorlu taşıt kullanımından (Pope ve ark. 1992) kaynaklanan mesleki faktörlerle ilişkili olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle, disk herniasyonunun başlaması çeşitli çevresel risklere ihtiyaç duyabilir.

Aggrekan dışında diğer aday genler servikal ve lomber disk hastalığının gelişmesine neden olabilir. Kollajen, intervertebral diskteki ana yapısal proteinlerden biridir. Kollajen çatı yapısı diskin yapısal bütünlüğünü ve mekanik dayanımını belirler. İntervertebral diskte yedi tip kollajen olduğu iyi bilinmektedir: Tip I, II, III, V, VI, IX ve XI (Beard ve ark. 1981). Ayrıca, hızlandırılmış intervertebral disk dejenerasyonu, mutant $\alpha 1$ (IX) kollajenini eksprese eden transgenik farelerde bulunmuş; Tip IX kollajen

mutasyonlarının omurgada dejeneratif hastalığa neden olabileceğini düşündürmüştür (Kimura ve ark. 1996).

Çalışmamız *ACAN* gen polimorfizminin CDH ve LDH hastalığına etkisini belirlemek için yaş ortalaması $51,46 \pm 16,35$ olan 150 hasta ile yaş ortalaması $48,29 \pm 11,89$ olan 110 kontrol grubu olmak üzere toplamda 260 birey üzerinden yürütüldü. *ACAN* gen polimorfizmi ile disk herniasyon hastalarında anlamlı bir fark bulunmuştur. *ACAN* gen polimorfizm bölgesinde (VNTR) 11 farklı allel tanımlamış, tekrarları A21-A31 arasında değişmiştir. Hem hasta olan hem de kontrol grubundaki katılımcılar arasında en yaygın allel A27 olmuştur. Cinsiyete göre karşılaştırıldığında A26 allelinde anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Denekler yaşadığı yere göre incelendiğinde A27 alleli, hasta/kontrol grubunda ise A27, A26, A29, A30 allelleri arasında anlamlı bir fark gözlemlenmiştir. Ancak polimorfizm çalışmalarının farklı ırklar ve etnik gruplar arasında değişkenlik göstermesi nedeniyle elde ettiğimiz bulguların farklı çalışmalarla desteklenmesine gereksinim duyulmaktadır.

Casa ve ark. (2016), *ACAN* gen polimorfizm bölgesinde (VNTR) 13 farklı allel tanımlamış, tekrarları 17 ila 31 arasında değişmiştir; istisna allel A21 olup, hem LDH olan katılımcılar arasında hem de kontrol grubundaki en yaygın alleller sırasıyla, A28, A27, A29 olmuştur. Bununla birlikte, araştırılan Brezilya popülasyondaki allel A28'in sıklığı, Kore (Kim ve ark. 2011), Çin (Cong ve ark. 2010; Cong ve ark. 2014), Türkiye (Eser ve ark. 2010) ve İran (Mashayekhi ve ark. 2010) popülasyonlarındakinden daha yüksek çıkmıştır. Genetik değişkenliği etkileyen faktörlerden biri, bu popülasyonlar arasındaki etnik fark olabilir.

Bizim çalışmamızın bulguları Eser ve ark. (2011) benzerdir. Eser ve ark. (2011) LDH olan ve olmayan 100 kişiyi araştırmıştır. En yaygın alleller A28, A27 ve A29'dur.

Kim ve ark. (2011), 89'u disk herniasyonu olan 104 Koreli denek (66 erkek ve 38 kadın) araştırmıştır. En yaygın alleler sırasıyla A27, A26 ve A28 bulunmuştur.

Eser ve ark. (2010), Mashayekhi ve ark. (2010) da çalışmamıza benzer sonuçlar bulmuştur. Eser ve ark. (2010) yaptığı çalışma, Türk popülasyonundaki 20-30 yaşları arasındaki 300 genç kişiyi eşit sayıda, bir hasta grubuna (disk dejenerasyonu ve/veya LDH'li) ve kontrol grubuna ayırmıştır. Araştırmacılar gruplarda A14-A33 allelerinde prevalansı daha yüksek olan sırayla A27, A28 ve A26 allellerini belirlemişlerdir. Mashayekhi ve ark. (2010), İran popülasyonundan lomber disk dejenerasyonu olan 71 hasta ve 108 kontrol çalışmıştır. En sık görülen alleller A27 ve A28 olup ve A18 -A29 tekrar arasında değişen alleller tespit etmiştir.

Roughley ve ark. (2002, 2006), ACAN'ı, CS1 alanını kodlamaktan sorumlu ekson 12'de VNTR polimorfizmi bulunduran bir gen olarak tanımlanmıştır. Bu alan 19 amino asidin çoklu tekrarlarından oluşur ve her tekrar kondroitin sülfat (CS) zincirlerinin bağlanması için potansiyel bir yer içerir. Kısa allelli bireyler, daha az tekrarla, Aggrecan moleküllerinde en az CS zincirine sahiptir ve Aggrecan fonksiyonunun bozulmasına neden olur. Bu polimorfizmin sonucu, Aggrecan çekirdek proteininin proteolitik işleminin kümülatif etkileri nedeniyle yetişkinlerde daha belirgindir. Bu işlem metaloproteinazların, özellikle agrekanazların, etkisiyle gerçekleşir, bu da CS zincirlerinin de bağlandığı CS2 alan bölgesinin bir kısmının veya çoğunun çıkarılmasıyla sonuçlanır. Böylelikle yaşla birlikte doku dejenerasyonuna neden olur (Roughley ve ark. 2006).

Cong ve ark. (2014) ACAN gen VNTR bölgesindeki polimorfizmler ve obezite arasındaki etkileşimi araştırmış ve çalışılan bireylerin LDH' ye duyarlılık gösterdiğini bulmuştur. 259 Çinli erkeği araştırmışlar (61 hasta ve 198 kontrol) polimorfizmin

sıklığını bulmuşlardır. Bulgular A25 veya daha az tekrarlı allellerin LDH için artan risk ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Araştırma ayrıca, obezite ve LDH arasında bir etkileşim önermiştir.

Roughley ve ark. (2006) , Xu ve ark. (2012) kısa tekrarlı allellerin baskınlığı ile disk dejenerasyonu arasındaki ilişkiyi; Mashayekhi ve ark. (2010), Kim ve ark. (2011), Eser ve ark. (2010, 2011) ve Cong ve ark. (2010, 2014) kısa tekrarlayan allellerin baskınlığı ile LDH arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır.

Solovieva ve ark. (2007), Finlandiya populasyonunda VNTR polimorfizmleri ve disk dejenerasyonu arasındaki ilişkiyi doğrulamak için çalışma yapmıştır; uzun allelleri olan bireylerin intervertebral disk dejenerasyonuna daha az eğilimli olduğunu bulmuştur.

Kısa allelleri olan bireyler, daha az tekrar ile Aggrekan üretir bunun sonucunda, intervertebral diskteki proteoglikana bağlı kondroitin sülfat zincirleri daha azdır. Bu durum, engellenmiş hidrasyona ve LDH'ye duyarlılığın artmasına neden olur.

6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada multifaktöriyel bir hastalık olan dejeneratif disk hernisi ile Aggrecan geni VNTR polimorfizmlerinin ilişkisi araştırılmıştır. Genlerin bağımsız bir etkiye sahip olabileceği ancak çevresel etkileşimlere de duyarlı olduğu göz önüne alındığında, ailede IVDH genetik yatkınlığı olan kişilerde, hastalığın ortaya çıkmasını önlemek için risk faktörleri konusunda daha etkili rehberlik edilmelidir. Çalışmamızın sonuçları koruyucu önlemleri formüle ederken sağlık çalışanlarına yardımcı olabilir.

Çalışma sonuçlarımız, disk dejenerasyonu ve herniasyonun *Aggrecan* geni VNTR polimorfizmleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Disk herniasyon tipleri ile *Aggrecan* genine ait allel gruplarının karşılaştırılması sonucu; hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Çalışmamızda yer alan hasta sayısının azlığı nedeniyle, disk herniasyonu patofizyolojisine gen polimorfizmlerinin katkısının belirlenmesi için fonksiyonel çalışmalar ile birlikte Türk toplumunda daha geniş hasta-kontrol çalışmaları yapılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

- Adams P, Eyre D, Muir H, (1977).** Biochemical aspects of development and ageing of human lumbar intervertebral discs. *Rheumatology*. 16 (1), 22-29
- Akmal M, Kesani A, Anand B, Singh A, Wiseman M, Goodship (2004) A.** Effect of nicotine on spinal disc cells: a cellular mechanism for disc degeneration. *Spine (Phila Pa 1976)* 2004;29:568-75
- Annunen S, Paassilta P, Lohiniva J, Perälä M, Pihlajamäki T, Karppinen J, Tervonen O, Kröger H, Lähde S, Vanharanta H, Ryhänen L, Göring HH, Ott J, Prockop DJ, Ala-Kokko L.(1999)** An allele of COL9A2 associated with intervertebral disc disease. *Science*. 1999;285(5426):409-12.
- Antoniou J, Steffen T, Nelson F, Winterbottom N, Hollander AP, Poole RA, Aebi M, Alini M.(1996)** The human lumbar intervertebral disc: Evidence for changes in the biosynthesis and denaturation of the extracellular matrix with growth, maturation, ageing, and degeneration. *J Clin Invest* 98(4):996-1003, 1996
- Arai H, Miyamoto K, Taketani Y, Yamamoto H, Iemori Y, Morita K, Tonai T, Nishisho T, Mori S & Takeda E (1997)** A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. *J Bone Miner Res* 12(6): 915-921.
- Armstrong JR (1967)** Lumbar Disk Lesions. Edinburg, E. S. Livingstone
- Battie M, Videman T, Gibbons LE, Fisher LD, Manninen H, et al. (1995)** 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* 20:2601.
- Battié MC, Videman T and Parent E (2004).** Lumbar disc degeneration: epidemiology and genetic influences. *Spine* 29: 2679-2690.
- Beard HK, Roberts S, O'Brien JP.(1981)** Immunofluorescent staining for collagen and proteoglycan in normal and scoliotic intervertebral discs. *J Bone Joint Surgery [Br]* 1981;63:529-34
- Beattie P, (1996).** The relationship between symptoms and abnormal magnetic resonance images of lumbar intervertebral disks. *Physical therapy*. 76 (6), 601-608
- Beattie PF (2008)** Current understanding of lumbar intervertebral disc degeneration: a review with emphasis upon etiology, pathophysiology, and lumbar magnetic resonance imaging findings. *J Orthop Sports Phys Ther* 38:329-40
- Bein K & Simons M (2000)** Thrombospondin type 1 repeats interact with matrix metalloproteinase 2. Regulation of metalloproteinase activity. *J Biol Chem* 275(41): 32167-32173
- Boden SD, Davis DO, Dina TS, Patronas NJ, Wiesel SW (1990)** Abnormal magnetic-resonance scans of the lumbar spine in asymptomatic subjects. A prospective investigation. *J Bone Joint Surg Am* 72:403-8
- Boos N, Rieder R, Schade V, Spratt KF, Semmer N, Aebi M (1995)** 1995 Volvo Award in clinical sciences. The diagnostic accuracy of magnetic

- resonance imaging, work perception, and psychosocial factors in identifying symptomatic disc herniations. *Spine* 20:2613-25
- Boos Norbert, Aebi Max (Editors) (2008)**, *Spinal Disorders Fundamentals of Diagnosis and Treatment*
- Borenstein DG, Wiesel SW, Boden SD.** Clinical evaluation of low back pain. *Low Back Pain, Medical Diagnosis and Comprehensive Management*, 2nd Ed., Philadelphia: W.B. Saunders Comp 1995; 63-182
- Bornstein P (1995)** Diversity of function is inherent in matricellular proteins: an appraisal of thrombospondin 1. *J Cell Biol* 130(3): 503-506
- Brioni Nunes FT, Tedeschi Conforti-Froes ND, Negrelli WF and Rossi Silva Souza D (2007).** Fatores genéticos e ambientais envolvidos na degeneração do disco intervertebral. *Acta Ortop. Bras.* 15: 9-13
- Buckwalter JA (1995)** Aging and degeneration of the human intervertebral disc. *Spine (Phila Pa 1976)* 20(11): 1307-1314.
- Burke JG, Watson RW, McCormack D, Dowling FE, Walsh MG & Fitzpatrick JM (2002)** Intervertebral discs which cause low back pain secrete high levels of proinflammatory mediators. *J Bone Joint Surg Br* 84(2): 196-201.
- Casa N.L.L, Casa Junior A.J , A.V. Melo (2016)** Association between an ACAN gene variable number tandem repeat polymorphism and lumbar disc herniation: a case control study
- Chan D, Song Y, Sham P, Cheung KMC, (2006)**, Genetics of disc degeneration. *European Spine Journal* 15:317–325.
- Cheung KM, Chan D, Karppinen J, Chen Y, Jim JJ, Yip SP, Ott J, Wong KK, Sham P, Luk KD, Cheah KS, Leong JC & Song YQ (2006)** Association of the Taq I allele in vitamin D receptor with degenerative disc disease and disc bulge in a Chinese population. *Spine (Phila Pa 1976)* 31(10): 1143-1148
- Colombier P, Clouet J, Hamel O, Lescaudron L & Guicheux J (2014)** The lumbar intervertebral disc: from embryonic development to degeneration. *Joint Bone Spine* 81(2): 125-129
- Comper WD, Laurent TC, (1978)** Physiological function of connective tissue polysaccharides. *Physiol Rev.* 1978;58(1):255-315.
- Cong L, Pang H, Xuan D, Tu GJ (2010)** Association between the expression of aggrecan and the distribution of aggrecan gene variable number of tandem repeats with symptomatic lumbar disc herniation in Chinese Han of Northern China. *Spine* 35:1371.
- Cong L, Zhu Y, Pang H and Guanjuan TU (2014)** The interaction between aggrecan gene VNTR polymorphism and obesity in predicting incident symptomatic lumbar disc herniation. *Connect. Tissue Res.* 55: 384-390
- Cramer GD, Darby SA, (2005)** *Basic and Clinical Anatomy of the Spine, Spinal Cord and ANS.* 2nd Ed, Missouri: Mosby, 2005: 18-69.
- Cramer, Gregory D., Darby, Susan A., Cramer, Gregory D., (2014)** *Clinical anatomy of the spine, spinal cord, and ANS.* St. Louis, Mo., Elsevier.
- Cribb GL, Jaffray DC, Cassar-Pullicino VN (2007)** Observations on the natural history of massive lumbar disc herniation. *J Bone Joint Surg Br* 89:782-4

- Deyo RA, Loeser JD, Bigos SJ (1990)** Herniated lumbar intervertebral disk. *Ann Intern Med* 112:598-603
- Deyo RA, Rainville J, Kent DL (1992)** What can the history and physical examination tell us about back pain. *JAMA* 268:760-5
- Doege KJ, Coulter SN, Meek LM, Maslen K, Wood JG (1997)** 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* 272:13974–13979.
- Doege, K. J. Sasaki, M., Kimura, T. & Yamada, Y. 1991.** Complete coding sequence and deduced primary structure of the human cartilage large aggregating proteoglycan, aggrecan. Human-specific repeats, and additional alternatively spliced forms. *J Biol Chem*, 266, 894-902.
- Doege, K., Hall, L. B., Mckinnon, W., Chen, L., Stephens, D. T. & Garrison, K. (2002).** A remote upstream element regulates tissue-specific expression of the rat aggrecan gene. *J Biol Chem*, 277, 13989-97
- Dong DM, Yao M, Liu B, Sun CY, Jiang YQ & Wang YS (2007)** Association between the -1306C/T polymorphism of matrix metalloproteinase-2 gene and lumbar disc disease in Chinese young adults. *Eur Spine J* 16(11): 1958-1961
- Eser B, Cora T, Eser O, Kalkan E, et al. (2010).** Association of the polymorphisms of vitamin D receptor and aggrecan genes with degenerative disc disease. *Genet. Test. Mol. Biomarkers* 14: 313-317
- Eser O, Eser B, Cosar M, Erdogan MO, et al. (2011).** Short aggrecan gene repetitive alleles associated with lumbar degenerative disc disease in Turkish patients. *Genet. Mol. Res.* 10: 1923-1930
- Eskola Pasi J, Kjaer Per, Daavittila Iita M, Solovieva Svetlana, Okuloff Annaleena, Sorensen Joan S, Wedderkopp Niels, Ala- Kokko Leena & Männikkö Minna and Karppinen Jaro I (2010)** Genetic risk factors of disc degeneration among 12-14-yearold Danish children: a population study. *Int J Mol Epidemiol Genet* 1(2): 158- 165.
- Eskola PJ, Lemmelä S, Kjaer P, Solovieva S, et al. (2012).** Genetic association studies in lumbar disc degeneration: a systematic review. *PLoS One* 7: e49995
- Eyre DR (1988)** Collagens of the disc. In: Gosh P (ed) *The biology of the intervertebral disc*. CRC Press, Boca Raton, pp 171–188
- Freemont AJ (2009)** The cellular pathobiology of the degenerate intervertebral disc and discogenic back pain. *Rheumatology (Oxford)* 48(1): 5-10.
- Friedl P, Vischer P & Freyberg MA (2002)** The role of thrombospondin-1 in apoptosis. *Cell Mol Life Sci* 59(8): 1347-1357.
- Frymoyer JW (1988)** Back pain and sciatica. *N Engl J Med* 318:291-300
- Frymoyer JW, Pope MH, Clements JH, Wilder DG, MacPherson B, Ashikaga T (1983)** Risk factors in low-back pain. An epidemiological survey. *J Bone Joint Surg Am* 65:213-8
- Geiss A, Rohleder N, Kirschbaum C, Steinbach K, Bauer HW, Anton F (2005)** Predicting the failure of disc surgery by a hypofunctional HPA axis: evidence from a prospective study on patients undergoing disc surgery. *Pain* 114:104-17

- Goupille P, Jayson MI, Valat JP, Freemont AJ (1998)** Matrix metalloproteinases: the clue to intervertebral disc degeneration? *Spine*. 1998;23(14):1612-26.
- Gray H (1918)** *Anatomy of the human body*. Lea & Febiger,
- Gruber HE, Hanley EN Jr (1998)** Analysis of aging and degeneration of the human intervertebral disc. Comparison of surgical specimens with normal controls. *Spine*. 1998;23(7):751-7.
- Grunhagen T, Wilde G, Soukane DM, Shirazi-Adl SA, Urban JP (2006)** Nutrient supply and intervertebral disc metabolism. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88 Suppl 2:30-5.
- Heinegard, D. 2009.** Proteoglycans and more--from molecules to biology. *Int J Exp Pathol*, 90, 575-86
- Heliövaara M, Impivaara O, Sievers K, Melkas T, Knekt P, Korpi J, Aromaa A (1987)** Lumbar disc syndrome in Finland. *J Epidemiol Community Health*. 1987 Sep;41(3):251-8
- Higashino K, Matsui Y, Yagi S, Takata Y, Goto T, Sakai T, Katoh S & Yasui N (2007)** The alpha2 type IX collagen tryptophan polymorphism is associated with the severity of disc degeneration in younger patients with herniated nucleus pulposus of the lumbar spine. *Int Orthop* 31(1): 107-111.
- Hirose Y, Chiba K, Karasugi T, Nakajima M, Kawaguchi Y, Mikami Y, Furuichi T, Mio F, Miyake A, Miyamoto T, Ozaki K, Takahashi A, Mizuta H, Kubo T, Kimura T, Tanaka T, Toyama Y & Ikegawa S (2008)** A functional polymorphism in THBS2 that affects alternative splicing and MMP binding is associated with lumbar-disc herniation. *Am J Hum Genet* 82(5): 1122-1129.
- Holm S, Nachemson A (1988)** Nutrition of the intervertebral disc: acute effects of cigarette smoking. An experimental animal study. *Ups J Med Sci* 1988;93:91-9.
- Holm SH (1990).** Nutrition of the intervertebral disc. In: Weinstein JN, Wiesel SW, eds. *The lumbar spine*. Philadelphia: W.B. Saunders Corp., 1990. p. 244-60
- Huang W, Qian Y, Zheng K, Yu L, Yu X (2016).** Is smoking a risk factor for lumbar disc herniation? *European Spine Journal*. January 2016, Volume 25, Issue 1, pp 168-176. First online: 10 July 2015. link.springer.com/article/10.1007%2Fs00586-015-4103-y.
- Iatridis JC, Weidenbaum M, Setton LA & Mow VC (1996)** Is the nucleus pulposus a solid or a fluid? Mechanical behaviors of the nucleus pulposus of the human intervertebral disc. *Spine (Phila Pa 1976)* 21(10): 1174-1184.
- Inkinen RI, Lammi MJ, Lehmonen S, Puustjärvi K, Kääpä E, Tammi MI (1998)** Relative increase of biglycan and decorin and altered chondroitin sulfate epitopes in the degenerating human intervertebral disc. *J Rheumatol*. 1998;25(3):506-14.
- Ioannidis et al. 2009.** Reprinted with permission from Macmillan Publishers Ltd: *Nature Materials* 2009)

- Jansson K-Å (2005)** On lumbar spinal stenosis and disc herniation surgery. Doctoral Thesis, Department of surgical sciences, Karolinska Institutet, Stockholm
- Jensen MC, Brant-Zawadzki MN, Obuchowski N, Modic MT, Malkasian D, Ross JS (1994)** Magnetic resonance imaging of the lumbar spine in people without back pain. *N Engl J Med* 331:69-73
- Jensen TS, Albert HB, Soerensen JS, Manniche C, Leboeuf-Yde C (2006)** Natural course of disc morphology in patients with sciatica: an MRI study using a standardized qualitative classification system. *Spine* 31:1605-12; discussion 1613
- Jim JJ, Noponen-Hietala N, Cheung KM, Ott J, Karppinen J, Sahraravand A, Luk KD, Yip SP, Sham PC, Song YQ, Leong JC, Cheah KS, Ala-Kokko L & Chan D (2005)** The TRP2 allele of COL9A2 is an age-dependent risk factor for the development and severity of intervertebral disc degeneration. *Spine (Phila Pa 1976)* 30(24): 2735-2742.
- Johnson Z, Shapiro I. M. & Risbud, M. V. (2014)** Extracellular Osmolarity Regulates Matrix Homeostasis in the Intervertebral Disc and Articular Cartilage: Evolving role of TonEBP. *Matrix Biol.*
- Jones G, White C, Sambrook P & Eisman J (1998)** Allelic variation in the vitamin D receptor, lifestyle factors and lumbar spinal degenerative disease. *Ann Rheum Dis* 57(2): 94-99.
- Just W, Klett C, Vetter U, Vogel W. (1993)** Assignment of the human aggrecan gene AGC1 to 15q25-.q26.2 by in situ hybridization. *Hum Genet* 1993;92:516-8.
- Kalb S, Martirosyan NL, Kalani MY, Broc GG, Theodore N (2012)** Genetics of the degenerated intervertebral disc. *World Neurosurg* 77:491-501.
- Kales SN, Linos A, Chatzis C, Sai Y, Halla M, Nasioulas G & Christiani DC (2004)** The role of collagen IX tryptophan polymorphisms in symptomatic intervertebral disc disease in Southern European patients. *Spine (Phila Pa 1976)* 29(11): 1266-1270.
- Karppinen J, Shen FH, Luk KD, Andersson GB, et al. (2011).** Management of degenerative disk disease and chronic low back pain. *Orthop. Clin. North Am.* 42: 513-528, vii
- Kawaguchi Y, Osada R, Kanamori M, Ishihara H, Ohmori K, et al. (1999)** Association between an aggrecan gene polymorphism and lumbar disc degeneration. *Spine* 24:2456.
- Kelempisioti, Anthi, 2016,** Genetic Risk Factors For Intervertebral Disc Degeneration
- Kelsey JL, Githens PB, Walter SD, et al.(1984)** An epidemiological study of acute prolapsed cervical intervertebral disc. *J Bone Joint Surg [Am]* 1984;66:907-14.
- Kepler CK, Ponnappan RK, Tannoury CA, Risbud MV & Anderson DG (2013)** The molecular basis of intervertebral disc degeneration. *Spine J* 13(3): 318-330.
- Kiani, C., Chen, L., Wu, Y. J., Yee, A. J. & Yang, B. B. 2002.** Structure and function of aggrecan. *Cell Res*, 12, 19-32.

- Kim KS, Yoon ST, Park JS, Li J, Park MS, Hutton WC (2003)** Inhibition of proteoglycan and type II collagen synthesis of disc nucleus cells by nicotine. *J Neurosurg Spine* 99:291–297
- Kimura T, Nakata K, Tsumaki N, Miyamoto S, Matsui Y, et al. (1996)** Progressive degeneration of articular cartilage and intervertebral discs: An experimental study in transgenic mice bearing a type IX collagen mutation. *Int Orthop* 1996; 20:177–81.
- Kivirikko KI (1993)** Collagens and their abnormalities in a wide spectrum of disease. *Ann Med* 25:113–126
- Kraemer J (1995)** Natural course and prognosis of intervertebral disc diseases. International Society for the Study of the Lumbar Spine Seattle, Washington, June 1994. *Spine* 20:635-9
- Leone A, Guglielmi G, Cassar-Pullicino VN, Bonomo L, 2007.** Lumbar Intervertebral Instability: A Review. *Radiology*. 245 (1), 62-77
- Leven D, DO, PT; Peter G. Passias P, MD; Thomas J. Errico T, et al.** Risk Factors for Reoperation in Patients Treated Surgically for Intervertebral Disc Herniation: A Subanalysis of Eight-Year SPORT Data. *J Bone Joint Surg Am*, 2015 Aug 19; 97 (16): 1316 1325
- Li, H. & Schwartz, N. 1995.** Gene structure of chick cartilage chondroitin sulfate proteoglycan (aggrecan) core protein. *Journal of Molecular Evolution*, 41, 878- 885.
- Lorenzo P, Aspberg A, Onnerfjord P, Bayliss MT, Neame PJ & Heinegard D (2001)** Identification and characterization of asporin, a novel member of the leucine-rich repeat protein family closely related to decorin and biglycan. *J Biol Chem* 276(15): 12201-12211
- M.C. Battie, T. Videman, J. Kaprio, et al.(2009)**The twin spine study: contributions to a changing view of disc degeneration. *Spine J*, 9 (1), pp. 47–59.
- Ma D, Liang Y, Wang D, et al.(2013)** Trend of the incidence of lumbar disc herniation: decreasing with aging in the elderly. *Clinical Interventions in Aging*. 2013;8:1047-1050. doi:10.2147/CIA.S49698.
- Mann V, Hobson EE, Li B, Stewart TL, Grant SF, Robins SP, Aspden RM & Ralston SH (2001)** A COL1A1 Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *J Clin Invest* 107(7): 899-907.
- Mashayekhi F, Shafiee G, Kazemi M, Dolati P (2010)** Lumbar disk degeneration disease and aggrecan gene polymorphism in northern Iran. *Biochem Genet* 48:684–689.
- Matsui H, Kanamori M, Ishihara H, Yudoh K, Naruse Y, et al. (1998)** Familial predisposition for lumbar degenerative disc disease: a case-control study. *Spine* 23:1029.
- Mayer JE, Iatridis JC, Chan D, Qureshi SA, et al. (2013).** Genetic polymorphisms associated with intervertebral disc degeneration. *Spine J*. 13: 299-317.
- McGregor AJ, Andrew T, Sambrook PN, Spector TD (2004)** Structural, psychological and genetic influences on low back and neck pain: a study of adult female twins. *Arthritis Rheum* 51:160–167

- Melrose J, Ghosh P, Taylor TK, Latham J, Moore R. (1997)** Topographical variation in the catabolism of aggrecan in an ovine annular lesion model of experimental disc degeneration. *J Spinal Disord.* 1997;10(1):55-67.
- Min SK, Nakazato K, Okada T, Ochi E & Hiranuma K (2009)** The cartilage intermediate layer protein gene is associated with lumbar disc degeneration in collegiate judokas. *Int J Sports Med* 30(9): 691-694.
- Min SK, Nakazato K, Yamamoto Y, Gushiken K, Fujimoto H, Fujishiro H, Kobayakawa Y & Hiranuma K (2010)** Cartilage intermediate layer protein gene is associated with lumbar disc degeneration in male, but not female, collegiate athletes. *Am J Sports Med* 38(12): 2552-2557
- Mixter W, Barr J (1936)** Rupture of the intervertebral disc with involvement of the spinal canal. *N Engl J Med* 211:210-215
- Moore KL, Dalley AF.(2007)** *Kliniğe Yönelik Anatomi.* Çeviren: Şahinoğlu K. 4. baskı, İstanbul: Nobel Kitapevi, 2007, s.432-467
- N'Dri Oka D, Kouakou F, Haro Y et al.(2015)** Cervical spine disc herniation at C2-C3 level: Study of a Clinical Observation and Literature Review. *Romanian Neurosurgery* 2015;4:459-64.
- Nerlich AG, Boos N, Wiest I, Aebi M.(1998)** Immunolocalization of major interstitial collagen types in human lumbar intervertebral discs of various ages. *Virchows Arch.* 1998;432(1):67-76
- Nerlich AG, Schleicher ED, Boos N.(1997)** Immunohistologic markers for age-related changes of human lumbar intervertebral discs. *Spine* 1997;22(24):2781-95
- Noponen-Hietala N, Kyllönen E, Mannikko M, Ilkko E, Karppinen J, et al. (2003)** Sequence variations in the collagen IX and XI genes are associated with degenerative lumbar spinal stenosis. *Annals of the rheumatic diseases* 62:1208– 1214.
- Noponen-Hietala N, Kyllonen E, Mannikko M, Ilkko E, Karppinen J, Ott J & Ala-Kokko L (2003a)** Sequence variations in the collagen IX and XI genes are associated with degenerative lumbar spinal stenosis. *Ann Rheum Dis* 62(12): 1208-1214.
- Noponen-Hietala N, Virtanen I, Karttunen R, Schwenke S, Jakkula E, Li H, Merikivi R, Barral S, Ott J, Karppinen J & Ala-Kokko L (2005)** Genetic variations in IL6 associate with intervertebral disc disease characterized by sciatica. *Pain* 114(1-2): 186-194.
- Ohshima H, Urban JPG (1992)** Effect of lactate concentrations and pH on matrix synthesis rates in the intervertebral disc. *Spine* 1992;17:1079-82
- Ostelo RW, Vlaeyen JW, van den Brandt PA, de Vet HC (2005)** Residual complaints following lumbar disc surgery: prognostic indicators of outcome. *Pain* 114:177-85
- Panjabi M, White A, (1990)** Physical properties and functional biomechanics of the spine. *Clinical biomechanics of the spine.* 2, 1-83
- Patel AA, Spiker WR, Daubs M, Brodke D, Cannon-Albright LA (2011)** Evidence for an inherited predisposition to lumbar disc disease. *J Bone Surg Am* 93:225–229
- Paz Aparicio J, Fernández Bances I, López-Anglada Fernández E, Montes AH, et al. (2011).** The IL-1b (+3953 T/C) gene polymorphism associates

- to symptomatic lumbar disc herniation. *Eur. Spine J.* 20 (Suppl 3): 383-389.
- Peter J Roughley and John S Mort,(2014)**, The role of aggrecan in normal and osteoarthritic cartilage, *Roughley and Mort Journal of Experimental Orthopaedics* 2014, 1:8
- Pina J. A. E ., Lidel, (1999)** *Anatomia Humana da LocomoA*
- Pluijm SM, van Essen HW, Bravenboer N, Uitterlinden AG, Smit JH, Pols HA & Lips P (2004)** Collagen type I alpha1 Sp1 polymorphism, osteoporosis, and intervertebral disc degeneration in older men and women. *Ann Rheum Dis* 63(1): 71-77.
- Pope MH, Hansson TH (1992)** Vibration of the spine and low back pain. *Clin Orthop* 1992;279:49–59
- Price SJ, Greaves DR & Watkins H (2001)** Identification of novel, functional genetic variants in the human matrix metalloproteinase-2 gene: role of Sp1 in allele-specific transcriptional regulation. *J Biol Chem* 276(10): 7549-7558.
- Raj PP, (2008)**, Intervertebral Disc: Anatomy, Physiology, Pathophysiology, Treatment. *Pain Practice.* 8 (1), 18-44
- Rannou F, Lee TS, Zhou RH, Chin J, Lotz JC, et al. (2004)** Intervertebral disc degeneration: the role of the mitochondrial pathway in annulus fibrosus cell apoptosis induced by overload. *Am J Pathol* 164:915–924.
- Rhee JM, Schaufele M, Abdu WA (2006)** Radiculopathy and the herniated lumbar disc. Controversies regarding pathophysiology and management. *J Bone Joint Surg Am* 88:2070-80
- Roberts S, Menage J, Duance V, Wotton S, Ayad S (1991)** 1991 Volvo Award in Basic Sciences. Collagen types around the cells of the intervertebral disc and cartilage end plate: an immunolocalization study. *Spine* 16:1030–1038
- Roughley P, Martens D, Rantakokko J, Alini M, et al. (2006).** The involvement of aggrecan polymorphism in degeneration of human intervertebral disc and articular cartilage. *Eur. Cell. Mater.* 11: 1-7, discussion 7
- Roughley PJ, Alini M and Antoniou J (2002).** The role of proteoglycans in aging, degeneration and repair of the intervertebral disc. *Biochem. Soc. Trans.* 30: 869-874.
- Roughley, P. J. (2006).** The structure and function of cartilage proteoglycans. *Eur Cell Mater*, 12, 92-101
- Rozen D (2001)** Discogenic low back pain. *Pain Practice* 2001;1(3):278-88.
- Sambrook P, MacGregor A, Spector T (1999)** Genetic influences on cervical and lumbar disc degeneration. *Arthritis Rheum* 42:366–372
- Schroeder GD, Guyre C, Vaccaro A (2016)** The epidemiology and pathophysiology of lumbar disc herniations. *Seminars in Spine Surgery.* Volume 28, Issue 1, March , Pages 2-7.
- Schumann B, Bolm.-Audorff U, Bergmann A, Elegast R, Elsner G, Grifka J, Hearting J, Ja"ger M, Michaelis M, Seidler A (2011)** Lifestyle factors and lumbar disc disease: results of a German multi-center case-control study (EPILIFT). *Arthritis Res Ther* 12:R193

- Schunke M, Schulte E, and Schumacher U, Prometheus (2005)** LernAtlas der Anatomie: Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem. Thieme. Thieme,.
- Seeley R. D., Stephens T. D, and P. Tate (1997)**, Anatomia e Fisiologia (Anatomy & Physiology). Lusodidacta,.
- Seguin CA, Pilliar RM, Roughley PJ & Kandel RA (2005)** Tumor necrosis factor-alpha modulates matrix production and catabolism in nucleus pulposus tissue. Spine (Phila Pa 1976) 30(17): 1940-1948.
- Seki S, Kawaguchi Y, Chiba K, Mikami Y, Kizawa H, Oya T, Mio F, Mori M, Miyamoto Y, Masuda I, Tsunoda T, Kamata M, Kubo T, Toyama Y, Kimura T, Nakamura Y & Ikegawa S (2005)** A functional SNP in CILP, encoding cartilage intermediate layer protein, is associated with susceptibility to lumbar disc disease. Nat Genet 37(6): 607- 612.
- Shin B-J(2014)** Risk Factors for Recurrent Lumbar Disc Herniations. Asian Spine Journal. 2014;8(2):211-215. doi:10.4184/asj.2014.8.2.211.
- Sinaki M, Mokri B (1996)** Low Back Pain and Disorders of the Lumbar Spine. Braddom RL (ed), Physical Medicine & Rehabilitation. Philadelphia: WB. Saunders Company, 1996, 813-850
- Skinner BH (1953)** Science and human behaviour. McMillan, New York
- Slipped Disk: Overview, National Library of Medicine, PubMed Health. Oct. 9, 2014.
- Solovieva S, Kouhia S, Leino-Arjas P, Ala-Kokko L, Luoma K, Raininko R, Saarela J & Riihimäki H (2004)** Interleukin 1 polymorphisms and intervertebral disc degeneration. Epidemiology 15(5): 626-633.
- Solovieva S, Lohiniva J, Leino-Arjas P, Raininko R, Luoma K, Ala-Kokko L & Riihimäki H (2006)** Intervertebral disc degeneration in relation to the COL9A3 and the IL-1ss gene polymorphisms. Eur Spine J 15(5): 613-619.
- Solovieva S, Noponen N, Mañnikko M, Leino-Arjas P, Luoma K, et al. (2007)** Association between the aggrecan gene variable number of tandem repeats polymorphism and intervertebral disc degeneration. Spine 32:1700.
- Song YQ, Cheung KM, Ho DW, Poon SC, Chiba K, Kawaguchi Y, Hirose Y, Alini M, Grad S, Yee AF, Leong JC, Luk KD, Yip SP, Karppinen J, Cheah KS, Sham P, Ikegawa S & Chan D (2008)** Association of the asporin D14 allele with lumbar-disc degeneration in Asians. Am J Hum Genet 82(3): 744-747
- Spangfort EV (1972)** The lumbar disc herniation. A computer-aided analysis of 2504 operations. Acta Orthop Scand Suppl 95:1421-1495
- Staubesand J.(1990)** (Çeviri Editörü: Arıncı K.) Sobotta İnsan Anatomisi Atlası Baş, Boyun, Üst Ekstremiteler ve Deri 1. Cilt. Münih: (Jrban-Schwarzenberg; 1990.142-143.
- Tabor HK, Risch NJ & Myers RM (2002)** Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. Nat Rev Genet 3(5): 391-397.
- Takahashi M, Haro H, Wakabayashi Y, Kawa-uchi T, Komori H & Shinomiya K (2001)** The association of degeneration of the intervertebral disc with 5a/6a polymorphism in the promoter of the

- human matrix metalloproteinase-3 gene. *J Bone Joint Surg Br* 83(4): 491-495
- Tilkeridis C, Bei T, Garantziotis S & Stratakis CA (2005a)** Association of a COL1A1 polymorphism with lumbar disc disease in young military recruits. *J Med Genet* 42(7): e44.
- Tsao S, Pidcoe P. (2008)** The Management of a Patient with a Cervical Disc Herniation: A Case Report. *Clinical Medicine. Case Reports* 2008;1:45–9
- Urban JP, Smith S, Fairbank JC (2004)** Nutrition of the intervertebral disc. *Spine (Phila Pa 1976)* 2004;29:2700-9.
- Urban JPG, Roberts S, Ralphs JR (2000)** The nucleus of the intervertebral disc from development to degeneration. *Amer Zool* 40: 53-61
- Valdes AM, Hassett G, Hart DJ & Spector TD (2005)** Radiographic progression of lumbar spine disc degeneration is influenced by variation at inflammatory genes: a candidate SNP association study in the Chingford cohort. *Spine (Phila Pa 1976)* 30(21): 2445- 2451.
- Valencia M R, Perez A M. (2010)** Cervical Disc Hernia. *Revista Espanola de Crugia Ortopedica y Traumatologia* 2010;54(5):314-20.
- Valhmu, W. B., Palmer, G. D., Rivers, P. A., Ebara, S., Cheng, J. F., Fischer, S. & Ratcliffe, A. (1995).** Structure of the human aggrecan gene: exon-intron organization and association with the protein domains. *Biochem J*, 309 (Pt 2), 535-42.
- Vialle LR, Vialle EN, Henao JES and Giraldo G (2010).** Hérnia discal lombar. *Rev. Bras. Ortop.* 45: 17-22
- Videman T, Leppavuori J, Kaprio J, Battie MC, Gibbons LE, Peltonen L & Koskenvuo M (1998b)** Intragenic polymorphisms of the vitamin D receptor gene associated with intervertebral disc degeneration. *Spine* 23(23): 2477-2485.
- Videman T, Leppavuori J, Kaprio J, Battie MC, Gibbons LE, Peltonen L & Koskenvuo M (1998a)** Intragenic polymorphisms of the vitamin D receptor gene associated with intervertebral disc degeneration. *Spine* 23(23): 2477-2485.
- Videman T, Saarela J, Kaprio J, Nakki A, Levalahti E, Gill K, Peltonen L & Battie MC (2009)** Associations of 25 structural, degradative, and inflammatory candidate genes with lumbar disc desiccation, bulging, and height narrowing. *Arthritis Rheum* 60(2): 470-481.
- Vieira TC, Silva DM, Gigonzac MA, Ferreira VL, et al. (2013).** Allelic frequencies and statistical data obtained from 15 STR loci in a population of the Goiás State. *Genet. Mol. Res.* 12: 23-27
- Vilim, V. & Fosang, A. J. (1993).** Characterization of proteoglycans isolated from associative extracts of human articular cartilage. *Biochem J*, 293 (Pt 1), 165-72.
- Virtanen IM, Noponen N, Barral S, Karppinen J, Li H, Vuoristo M, Niinimäki J, Ott J, Ala-Kokko L & Mannikko M (2007b)** Putative susceptibility locus on chromosome 21q for lumbar disc disease (LDD) in the Finnish population. *J Bone Miner Res* 22(5): 701-707.
- Vroomen PC, de Krom MC, Knottnerus JA (1999)** Diagnostic value of history and physical examination in patients suspected of sciatica due to disc herniation: a systematic review. *J Neurol* 246:899-906

- Walcz, E., Deak, F., Erhardt, P., Coulter, S. N., Fulop, C., Horvath, P., Doege, K. J. & Glant, T. T (1994).** Complete coding sequence, deduced primary structure, chromosomal localization, and structural analysis of murine aggrecan. *Genomics*, 22, 364-71.
- Walsh AJ, Lotz JC (2004)** Biological response of the intervertebral disc to dynamic loading. *J Biomech* 37: 329- 337
- Walter BA, Torre OM, Laudier D, Naidich TP, Hecht AC & Iatridis JC (2014)** Form and function of the intervertebral disc in health and disease: a morphological and stain comparison study. *J Anat* .
- Watanabe, H., Cheung, S. C., Itano, N., Kimata, K. & Yamada, Y. (1997).** Identification of Hyaluronan-binding Domains of Aggrecan. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 28057-28065.
- Watanabe, H., Yamada, Y. & Kimata, K. (1998).** Roles of aggrecan, a large chondroitin sulfate proteoglycan, in cartilage structure and function. *J Biochem*, 124, 687-93.
- Wera GD, Dean CL, Ahn UM, Marcus RE, Cassinelli EH, Bohlman HH, Ahn NU (2008)** Reherniation and failure after lumbar discectomy: a comparison of fragment excision alone versus subtotal discectomy. *J Spinal Disord Tech* 21:316-9
- Wiesel SW, Weinstein JN, Herkowitz H, Dvorak J, Bell G.(1996)** The Lumbar Spine. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996:492–4.
- Williams FM, Bansal AT, van Meurs JB, Bell JT, Meulenbelt I, Suri P, Rivadeneira F, Sambrook PN, Hofman A, Bierma-Zeinstra S, Menni C, Kloppenburg M, Slagboom PE, Hunter DJ, MacGregor AJ, Uitterlinden AG & Spector TD (2013)** Novel genetic variants associated with lumbar disc degeneration in northern Europeans: a metaanalysis of 4600 subjects. *Ann Rheum Dis* 72(7): 1141-1148.
- Woertgen C, Rothoerl RD, Breme K, Altmeyen J, Holzschuh M, Brawanski A (1999)** Variability of outcome after lumbar disc surgery. *Spine* 24:807-11
- Xu G, Mei Q, Zhou D, Wu J, et al. (2012).** Vitamin D receptor gene and aggrecan gene polymorphisms and the risk of intervertebral disc degeneration - a meta-analysis. *PLoS One* 7: e50243
- Yuan HY, Tang Y, Liang YX, Lei L, Xiao GB, Wang S & Xia ZL (2010)** Matrix metalloproteinase-3 and vitamin d receptor genetic polymorphisms, and their interactions with occupational exposure in lumbar disc degeneration. *J Occup Health* 52(1): 23-30
- Zhang Y, Sun Z, Liu J and Guo X (2008).** Advances in susceptibility genetics of intervertebral degenerative disc disease. *Int. J. Biol. Sci.* 4: 283-290

ÖZGEÇMİŞ

