

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN ve SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**DİABETİK VE DİABETİK OLMAYAN LOMBER DİSK
HERNİLİ OLGULARDA KOLLAJEN TİP IX DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Lutfü ARICI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Metin KAPLAN**

**ELAZIĞ
2011**

DEKANLIK ONAYI

Prof.Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Doç. Dr. Fatih Serhat EROL

Beyin ve Sinir Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafınızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Metin KAPLAN

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Fatih Serhat EROL

Doç. Dr. Metin KAPLAN

Yrd. Doç. Dr. Ayşe BELİN ÖZER

TEŞEKKÜR

Fırat Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalıştığım dönem boyunca, bilgi ve tecrübesi ile yetişmemde her türlü destek ve yardımı gösteren sayın Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Fatih Serhat Erol ve tez danışmanım sayın Doç. Dr. Metin Kaplan'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmamda yardımcı olan sayın Doç. Dr. Bengü Çobanoğlu'na teşekkürü bir borç bilirim.

Asistanlık hayatımın her türlü zorluklarını benimle birlikte paylaşan ve desteğini hiç esirgemeyen biriciklerim anneme, babama ve eşime çok teşekkür ederim.

Bu çalışma, FÜBAP (proje no: 1858) tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı kendilerine teşekkür ederim.

Dr. Lutfü ARICI

ÖZET

Günümüzde disk dejenerasyonu patogenezinde rol alan anabolik ve katabolik faktörler modern teknolojik incelemeler sayesinde tanımlanmaktadır. Bu çalışma Tip II diabetin lomber disk yapısındaki kollajen Tip IX'un immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması üzerine yapılan bir ilk çalışmadır. Diabet süresi uzadıkça disk dokusunun beslenmesi ve fonksiyonel devamlılığının sağlanması zordur. Mikro ve makroanjiyopatik komplikasyonlar sonucunda disk ve diğer dokuların beslenmesi bozulur. Biriken toksik oksijen radikalleri ve laktat, kondrosit ve fibroblast benzeri hücrelerin rejenerasyon kabiliyetlerinin bozulmasına yol açar. Diabetik diskteki glikasyon son ürünlerinin kollajenlere enzimatik olmayan yollarla bağlanmaları sonucunda, mekanik özellikler bozulmuştur. Ayrıca büyük çoğunluğu obez olan bu hastalardaki lomber kompresif yüklerin fazlalığı dejeneratif diğer bir durumdur.

Çalışmaya 30 diabetik ve diabetik olmayan toplam 60 hastanın diskektomi materyali dâhil edildi. Bu materyaller patoloji laboratuvarımızda parafin bloklar haline getirildi. Kesitler 4 µm kalınlığında alındı. Rabbit polyclonal anti-human kollajen Tip IX immünohistokimyasal boya ile Ventana cihazında boyandı. Preparatların kollajen Tip IX boyanma şiddeti, boyanma oranı, immünoreaktivite boyanma toplam skorları tespit edildi. Disk dejenerasyonu ile ilişkili diabetik diskektomi materyallerindeki kollajen Tip IX'un immünohistokimyasal boyanma özellikleri diabetik olmayan gruptan daha düşüktü ($p=0,001^*<0,01$).

Diabetik hastaların HbA1c düzeyleri, diabet süresi, yaş ve operasyon seviyeleri ile boyanma toplam skoru arasındaki istatistiksel korelasyonlar incelendi. Diabet süresi ile boyanma toplam skorundaki düşük sonucun regresyon testi anlamlıydı ($\beta=-0,016$, $t=-2,610$, $p=0,015^*<0,05$; $F=3,688$, $p=0,017^*<0,05$; $R^2=0,270$). Bu düşük sonuç HbA1c düzeyiyle ilişkiliydi.

Sonuç olarak, diabet diskin direncine önemli katkısı olan Tip IX kollajen miktarını değiştirerek disk hernisi oluşumunu kolaylaştırıcı bir faktördür. Diabetik hastaların Tip IX kollajen miktarı diabetik olmayan gruptan daha düşüktü. Sonuçlarımız başka çalışmalarla da desteklenmelidir.

Anahtar kelimeler: Lomber disk hernisi, Disk dejenerasyonu, Diabetes Mellitus, İmmünohistokimya, Kollajen Tip IX.

ABSTRACT

COMPARISON OF THE TYPE IX COLLAGEN LEVELS IN THE CASES WITH DIABETIC AND NON-DIABETIC LOMBER DISC HERNIATION

Today, anabolic and catabolic factors involved in pathogenesis of the disc degeneration are described by modern technological investigations. This study is the first study on the comparison of the characteristic immunohistochemical staining of type IX collagen which is in the structure of lumbar disc related to type II diabetes. Longer duration of diabetes, ensuring nutritional and functional sustainability of disc tissue is difficult. As result of micro- and macro-angiopathic complications, the nutrition of the disc and other tissues are impaired. Accumulated toxic oxygen radicals and lactate cause the impairment of regeneration ability of chondrocytes and fibroblast-like cells. As a result of the binding of advanced glycation end products in diabetic discs to collagens with non-enzymatic ways, the mechanical properties deteriorated. In addition, excess lumbar compressive loads in these patients who are mainly obese is another degenerative condition.

Discectomy materials from 30 diabetic and non-diabetic total 60 patients were included in our study. These materials have been prepared as paraffin blocks. Sections were obtained with thickness of 4 μ m from these blocks and stained with polyclonal rabbit anti-human collagen type IX immunohistochemical dye in Ventana instrument. The intensity of collagen type IX staining, immune reactivity staining ratio, total staining score were found. These materials were immunohistochemically stained with Rabbit polyclonal antihuman collagen type IX dye in Ventana instrument. Collagen type IX in the diabetic discectomy materials associated to disc degeneration in diabetic group were found lower than in non-diabetic group ($p=0,001^{**}<0,01^{**}$).

The statistical correlations between the total score of the staining and the level of HbA1c, diabetes duration, age and operation levels were analyzed. The regression test was statistically significant in diabetes duration and the low result in the total score of the staining ($\beta=-0,016$, $t=-2,610$, $p=0,015^{*}<0,05$; $F=3,688$, $p=0,017^{*}<0,05$; $R^2=0,270$). This decrease was associated with HbA1c levels.

As a result, diabetes is a factor changing the amount of type IX collagen which contributes to resistance of the disc, hence diabetes facilitate formation of disc herniation. When the amount of type IX collagen in diabetic patient group was compared with diabetic group, it was found lower in diabetic group. Also our result should be supported by other studies.

Keywords: Lumbar disc herniation, Disc degeneration, Diabetes Mellitus, Immunohistochemistry, Collagen type IX.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Lomber Disk Hernisi	2
1.2. Epidemiyoloji	3
1.3. Etiyoloji	3
1.4. Lomber Disk Anatomisi ve Fonksiyonel Spinal Ünite	3
1.5. İntervertebral Disk Embriyolojisi	5
1.6. İntervertebral Disk Fonksiyonları	5
1.7. İntervertebral Disk Dejenerasyonu	6
1.8. Lomber Disk Hernisi ve Diabetes Mellitus	7
1.8.1. Lomber Disk Hernisi ve Diabetes Mellitus Prevalansı	7
1.8.2. Tip 2 Diabetes Mellitus Epidemiyolojisi	8
1.8.3. Diabetes Mellitus'un Teşhisi	8
1.8.4. Akut ve Kronik Dönem Komplikasyonları	8
1.8.5. Akut ve Kronik Dönemde Diabetes Mellitus'un Bağ Doku Üzerine Olan Etkileri	9
1.9. Kollajenler ve İntervertebral Disk	13
1.9.1. Kollajenler ve Klinik Özellikleri.	13
1.9.2. İntervertebral Disk ve Tip IX Kollajen	14
2. GEREÇ VE YÖNTEM	17
2.1. Çalışma Grupları	17
2.2. Cerrahi Teknik	17

2.3. İmmünohistokimyasal İnceleme Yöntemi	17
2.4. Değerlendirme	18
2.5. İstatistiksel Yöntem	19
3. BULGULAR	20
3.1. Diabetik olmayan hastaların Tip IX kollajen boyanma şiddeti ve oranları	22
3.2. Diabetik olan hastaların Tip IX kollajen boyanma şiddeti ve oranları	24
3.3. Her iki grubun Tip IX kollajen boyanma şiddetlerinin ve oranlarının karşılaştırılması	25
3.4. Tip IX kollajen boyanma toplam skoru ile HbA1c arasındaki ilişki	29
3.5. Tip IX kollajen boyanma toplam skoru ile diabet süreleri arasındaki ilişki	30
3.6. Tip IX kollajen boyanma toplam skoru ile yaş arasındaki ilişki	32
3.7. Tip IX kollajen boyanma toplam skoru ile operasyon seviyeleri arasındaki ilişki	33
3.8. Tip IX kollajen boyanma toplam skoru ile diabetik hastaların parametreleri arasındaki regresyon testleri	34
4. TARTIŞMA	35
5. KAYNAKLAR	41
6. ÖZGEÇMİŞ	61

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1. İntervertebral disk içeriği	15
Tablo 2. Diabetik olmayan diskektomi yapılan hasta grubunun genel özellikleri	20
Tablo 3. Diabetik lomber diskektomi yapılan hastaların genel özellikleri	21
Tablo 4. Diabetik ve diabetik olmayan grupların kollajen Tip IX boyanma şiddet ve oranları	26
Tablo 5. Gruplar arası kollajen Tip IX boyanma şiddetleri ve oranları	28
Tablo 6. Gruplar arası kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorlarının karşılaştırma tablosu	28
Tablo 7. Diabetik hastaların HbA _{1c} düzeyleri	29
Tablo 8. Diabetik grubun HbA _{1c} ile kollajen Tip IX boyanma toplam skorları arasındaki korelasyon tablosu	30
Tablo 9. Diabetik hastaların DM (ay) süreleri	31
Tablo 10. Diabetik grubun DM (ay) süreleri ile kollajen Tip IX boyanma toplam skorları arasındaki korelasyon tablosu	31
Tablo 11. Diabetik grubun yaşları ile kollajen Tip IX boyanma toplam skoru arasındaki korelasyon tablosu	32
Tablo 12. Diabetik grubun operasyon seviyeleri ile kollajen Tip IX boyanma toplam skorları arasındaki korelasyon tablosu	33
Tablo 13. Kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorları ile gruptaki parametrelerin regresyon analizi ile incelenmesi	34

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. Kollajen Tip IX'un Tip II kollajenle ve diğer kollajenlerle olan çapraz bağ bölgeleri ELISA çalışmaları sonucunda ortaya konuldu	16
Şekil 2. Grupların yaş ortalamalarını gösteren saplı kutu diyagramı	22
Şekil 3. Diabetik olmayan hastanın diskektomi materyalinde yoğun kollajen Tip IX boyanma özelliği görülmektedir.	23
Şekil 4. Diabetik olmayan hastanın diskektomi materyalinde soluk kollajen Tip IX boyanma özelliği görülmektedir.	23
Şekil 5. Diabetik hastanın diskektomi materyalinde perisellüler bölgede yoğun kollajen Tip IX boyanma özelliği görülmektedir.	24
Şekil 6. Diabetik hastanın diskektomi materyalinde soluk kollajen Tip IX boyanma özelliği görülmektedir.	25
Şekil 7. Gruplar arasındaki kollajen Tip IX boyanma şiddetleri	27
Şekil 8. Gruplar arasındaki kollajen Tip IX boyanma oranları	27
Şekil 9. Her iki grubun kollajen Tip IX toplam boyanma skorları saplı kutu diagramında karşılaştırılmıştır	29
Şekil 10. Diabetik grubun HbA _{1c} düzeyleri ile kollajen Tip IX boyanma toplam skorları arasındaki korelasyon diyagramı	30
Şekil 11. Diabetik grubun DM (ay) süreleri ile kollajen Tip IX boyanma toplam skorları arasındaki korelasyon diyagramı	31
Şekil 12. Diabetik grubun yaşları ile kollajen Tip IX boyanma toplam skoru arasındaki korelasyon diyagramı	32
Şekil 13. Diabetik grubun operasyon seviyeleri ile kollajen Tip IX boyanma toplam skoru arasındaki korelasyon diyagramı	33

KISALTMALAR LİSTESİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AGEs	: Advanced Glycation End-products
CILP	: Cartilage Intermediate Layer Protein
CML	: Carboxy Methyl-Lysin
COL9A1	: Collagen type 9 A1
COL9A2	: Collagen type 9 A2
COL9A3	: Collagen type 9 A3
DCCT	: Diabetes Control and Complication Study
DM	: Diabetes Mellitus
DNA	: Deoxyribonucleic acid
ECM	: Extracellular Matrix
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FACITs	: Fibril Associated Collagens with Interrupted Triple Helices
GIP	: Glucose Dependent Insulinotropic Polypeptide
GLUT1	: Glucose Transporter 1
HbA1c	: Glycated Hemoglobin A1c
Hz	: Hertz
IL	: Interleukin
IL-1R1	: Interleukin 1 receptor
IL-2Ra	: Interleukin 2 receptor a chain
IL-6R	: Interleukin 6 receptor
kDa	: Kilo Dalton
MACITs	: Membran Associated Collagens with Interrupted Triple Helices
MAPK	: Mitogen-Activated Protein Kinase
MMPs	: Matrix Metallo Proteinases
MÖ	: Milattan Önce
MPa	: Megapascal (MPa=N/mm ²)
MR	: Magnetic Resonance
MULTIPLEXINs	: Multiple Triple-Helix Domains and Interruptions
NAD(P)H	: Nicotin Adenin Dinucleotid Phosphate
NC1	: Collagen cross domain

NFκB	: Nuclear Factor Kappa B
NO	: Nitröz Oksit
OGTT	: Oral Glikoz Tolerans Testi
PARP 1	: Poly (ADP-ribose) Polymerase–1
PDI	: Protein Disulphit İsomeras
RAGE	: Receptors of Advanced Glycation Endproduct
TGF-β	: Transforming Growth Factor β
TNF-α	: Tumor Necrosis Factor α

1. GİRİŞ

Lomber disk hernisi, intervertebral disk dejenerasyonu neticesinde gelişmektedir. Lomber disk herniasyonları erişkin yaş hastalardaki boyun, bel ve bacak ağrılarının en sık sebebidir. Erişkin yaşı en yaygın morbid hastalıklarındandır (1,2). Protein enjeksiyonu, gen transferi, hücre implantasyonu ve apoptozis baskılanması gibi tekniklerin araştırıldığı günümüzde minimal invaziv tedavi yöntemleri popülerlik kazanmıştır. Moleküler düzeydeki incelemelerle lomber disk hastalığı patolojisinin aydınlatılması neticesinde yeni teşhis ve tedavi stratejileri geliştirmek mümkün olacaktır.

Günümüzdeki en önemli metabolik hastalıklardan birisi olan Tip 2 diabetes mellitus, disk hernileri açısından predispozan faktörlerden sayılmaktadır (3). Temelde insülin eksikliğine veya dokuların insülin direncine bağlı olarak yüksek plazma glikoz düzeyi sonucunda, laktat, NO (*Nitroz oksit*) gibi ürünlerin birçok dokuda artarak hücrelerde ve DNA (*Deoxyribonucleic acid*)'nın sentez ve yapısında bozulmalara sebep oldukları bilinmektedir. Bu nedenle protein ve glikoproteinlerin sentezinde artma ve azalma sözkonusudur (4,5).

İntervertebral diskteki annulus fibrozusun dış katmanı haricindeki yapıların çoğunluğu avaskülerdir. Annulus fibrozusun yapısında hücresel elemanlar azdır. Annulus fibrozusun büyük çoğunluğunu ekstrasellüler matriks bileşenleri oluştururlar. Hücresel düzeyde beslenme son plaklar aracılığıyla pasif difüzyonla olur (6,7). Histomorfolojik çalışmalardan nükleus pulpozus ve annulus fibrozusun lameller yapısındaki organizasyon bozukluğu, son plak kalsifikasyonu ve incilmesi gibi birçok patolojik sürecin, hücre düzeyinde kayıp ve ekstrasellüler matriks yapısındaki değişimin intervertebral disk herniasyonunda rol oynadığını göstermektedir (8–10). Disk matriksinin %99'u kollajen, glikoprotein, proteoglikan, kollajen dışı proteinlerden oluşur (11). Kollajenler protein ailesinin bağ dokularındaki hücre dışı başlıca yapısal komponentidir (12). Annulus fibrozusdaki kollajenin %65'i Tip II, kalanı ise Tip I kollajendir. Tip IX kollajen ise disk içeriğinin %1-2'sini oluşturur (11). Tip IX kollajen, FACIT (*Fibril Associated Collagen with Interrupted Triple Helices*) grubunda yer alan minör bir kollajendir. Bu grubun özelliği diğer kollajen tiplerinin aksine üçlü heliks biçimindeki yapının arada kesintiye uğraması ve kollajen liflerinin matriksin

kollajen dışı bileşenleri ile bağlantılar kurabilmesidir. Tip IX kollajen COL9A1, COL9A2 ve COL9A3 genleri tarafından kodlanan farklı 3 alfa zincirinden oluşan proteinlerdir. Tip II kollajene kovalent bağla bağlanırlar (12–14).

Diabet, dokuların ekstrasellüler matrikslerinde farklı değişikliklere yol açar (15). Mürin mezengial hücre kültüründe yüksek glikoz oranının endojen TGF- β (*Transforming Growth Factor β*) mürin mezenkimal hücre biyoaktivitesini ve kollajen gen yapımını artırarak protein sentezinin aktivasyonunu artırdığı gösterilmiştir (16).

Bu çalışmamızdaki amacımız disk hernisi gelişimi sürecinde diabetik ve diabetik olmayan hastaların disk materyallerinde ekstrasellüler mezangial matriksin en önemli bileşenlerinden olan Tip IX kollajen düzeylerini araştırmak ve disk dejenerasyonunda diabet ile Tip IX kollajen düzeyinin ilişkisini tartışmaktır.

1.1. Lomber Disk Hernisi

Lomber disk hastalığı ve siyatik ağrısı Hipokrat dönemine dayanmaktadır. Milattan Önce (MÖ:460–377) yaşamış olan Hipokrat, sakrumdan başlayan kalçada lokalize, uyluğa yayılan bir ağrıyı tanımlayan ilk hekimdir (17). *Sciatica* terimini ilk kullananlardan birisi Shakespeare'dir (18). 1858'de Von Luschka, posteriora protrüde olan disk olgusunu tanımlamıştır (17,19,20).

1910'larda faset ekleminin siyatik ağrıya yol açtığı belirtilirken, 1920'lerde birçok araştırmacı spinal disseksiyon yaparak lumbosakral kemiksel ve ligamentöz anatomiye detayları ile tanımladılar. Zamanla siyatiksin, siyatik sinir kökünün reseste basıya uğraması, ligaman basısı veya transvers çıkıntıyla kord arasında sıkışmasına bağlı geliştiği anlaşılmıştır (21).

İntervertebral diskteki annulus fibrozus ve nükleus pulpozusun dejenerasyonla vertebral kanal içerisine yer değiştirmesine fitik oluşumu anlamına gelen lomber disk herniasyonu denir. En yaygın kas-iskelet sistemi hastalıklarından birisidir. Görülme sıklığı ve ekonomik sonuçlarından dolayı çalışan toplumun çok önemli bir sağlık sorunudur (22). Gençlerde disk yapısı sağlam olup travma ve zorlanmalara karşı dirençlidir. İkinci dekatla birlikte dejeneratif süreç disklerde nükleusta atrofi ve bozulma, annulusta yumuşama ve zayıflamayı başlatır. Minör gerilmelerde ise içteki nükleus pulpozusun çevreye

doğru yer değiştirmesi ve dış kısmında bozulmalar gelişir. Nükleus ileri doğru fırlar, annulus yarılr ve genellikle posterolateral bölümde protrüzyon meydana gelir. Öncelikle düzensiz gerilmelerde adale spazmı ve ani şiddetli ağrı ile karakterize akut lumbago gelişir. Daha sonra lomber bölgede nükleusun herniasyonu sinir köklerine bası yaparsa birlikte siyatik ağrısı ve siyatik sendromu gelişir. Bu hastalıkta motor defisit ve refleks kaybı da ortaya çıkar (23–25).

Flebografi tekniği sayesinde venöz yapılar incelenmiştir. Disk arka kısmındaki epidural mesafede longitudinal venöz plexus bulunur. Bu plexusun ligamentum longitudinale posterius ile sıkı bağlantısı vardır ve vertebra gövdesinden gelen büyük venöz yapılarlada bağlantılıdır. Longitudinal venöz plexus, anterior internal ve anterior eksternal bölümleri vasıtasıyla disk ile irtibatlıdır. Bu plexuslar metamerik orijinli intervertebral venler üzerinden spinal kanal dışı venler ile bağlantılıdır. Venöz plexusun bu yakınlığı, annulusun posterior deplasmanında venöz kompresyon ile sonuçlanır (25,26). Bu venöz kompresyonunda oluşan klinik tabloda katkısı olduğu düşünülmektedir.

1.2. Epidemiyoloji

Endüstriyel batı toplumunun %75–85'i yaşamlarının en az bir döneminde, omurga etkilenmesine bağlı bel ağrısı yaşadıkları tespit edilmiştir (1,2,27–29). Disk dejenerasyonuna bağlı bel ağrısı değişik bağımsız çalışmalarda %7–72 düzeylerindedir (30–32).

1.3. Etiyoloji

Etiyopatogenezi henüz tam olarak bilinmemektedir. Lomber disk hernisi etiyojisinde; yaş, cinsiyet, meslek (ağır yük kaldırma), sigara, kilo, boy, sistemik hastalıklar (Diabetes Mellitus), kullanılan araçlardaki titreşim gibi çevresel risk faktörleri ve kalıtsal (genetik) etkenler yer alırlar. Bel ağırlı hastaların tüm yaşamları boyunca disk herniasyonu olma riski %2-5'tir (33–36).

1.4. Lomber Disk Anatomisi ve Fonksiyonel Spinal Ünite

Omurga, vücudun stabilitesini ve hareketini sağlayan ve her bir segmental düzeyde sinir kökleri ile spinal kordu koruyan çok segmentli bir yapıdır. Omurganın en küçük ünitesi temelde karakteristik hareket segmenti veya "fonksiyonel omurga ünitesi" olarak adlandırılır. İlk kez Schmorl ve Junghanns tarafından tanımlanmıştır (37,38). Her bir segment, bitişik iki vertebra ve

aralarındaki intervertebral disk, arkadan fasetler ve onunda arkasındaki apofizeal bölgeden oluşur. Omurgalar spinal ligamentler ve eklem kapsülleri ve segmental kaslarla bir bütün halindedir. Spinal ligamentler interspinöz, supraspinöz, intertransvers, sarı, anterior ve posterior longitudinal ligamentlerden oluşur. Omurga hareketini, stabilitesini, dengesini, antagonist güçte çalışan fleksör ve ekstensör kas grupları sayesinde gerçekleştirir (38,39).

Lomber omurgadaki disk yaklaşık olarak 7–10 mm kalınlıkta, anterior-posterior çapı ise 40 mm olup, omurganın üçte bir yüksekliğindedir. Genellikle disk üç spesifik yapıdan oluşur. Annulus fibrozus, nükleus pulpozus ve diskin alt ve üst vertebralara bitişik yüzlerindeki son plaklardır (38,39). Disk omurganın stabilizasyonun yanında her yöne kısıtlı olsa fleksiyon ve rotasyona izin verir. Diskler vücut ağırlığını ve aksiyel plandaki kompresif kuvvetleri absorbe ettikleri için yastıkçıklar olarak kabul edilmektedirler (39,40). Nükleus pulpozus jelatin çekirdekten oluşur. Nükleus matriksi kollajenler, radyal uzanımlı elastin lifler, yüksek orandaki hidrate agregan ve proteoglikan jelden oluşur. Yoğunluğu düşük olan fibroblast benzeri hücreler matriks tarafından çepeçevre sarılmıştır. Merkezdeki nükleus pulpozusun kompresyon emici özelliği, jel yapısıyla açıklanmaktadır (38,39,41). Annulus fibrozus 15–20 adet iç içe geçmiş halka şeklindeki katmanlardan oluşur. Kollajen ve elastin, katmanların önemli bir kısmını oluşturur. Kollajen lifler her katmanda vertikal eksenle yaklaşık 60° açı yapacak şekilde düzenlenmiştir (39,40). İnce yapılı fibroblast benzeri hücreler kollajen lifler arasında bulunurlar (42,43). Annulus iç katmanlarıyla nükleusa, kenar katmanlarındaki sharpey lifleriyle de vertebra cisminde bağlanmıştır. Bu sayede annulus fibrozus üzerindeki basınç kuvvetlerini radial sistemle nükleus pulpozusa ve son plaklara iletir (40,44). Bu her iki yapının mekanik özellikleri birbirinden farklıdır. Fakat su, protein, kollajen gibi temel yapıları ortaktır. Canlı disklerinde annulus fibrozusun %70'i, nükleus pulpozusun ise %80'i sudan oluşur (38,39). İntervertebral disk hayatın ilk 2 yılı içerisinde yapısındaki vasküler yapılarla beslenir. Daha sonra bu vasküler yapılar gerilerler. Bu esnada beslenme ve metabolik atıkların uzaklaştırılmasını son plaklardaki küçük perforan damarlar gerçekleştirir. Bu perforan damarlar hayatın üçüncü dekatında hızla geriler. Bu aşamadan sonra, avasküler son plaklar diskin difüzyonla beslenmesinden ve

metabolik atıkların uzaklaştırılmasından sorumludur. Beslenme yetersizliği ve artan laktik asitin olumsuz etkileriyle disk dejenerasyonu hız kazanır (45).

1.5. İntervertebral Disk Embriyolojisi

Kolumna vertebralis 4. haftada embriyonik mezodermden gelişir. Vertebraların gelişmesi *Tubus Nöralis* ve *Notochord'un* (*chorda dorsalis*) etkisiyle olur. *Tubus Nöralis* ve *Notochord* sklerotomal ve myotomal segmentasyonun başlaması için gereklidir. Aortik orijinli segmental metamerik damarlar 2 sklerotomal zonun arasından geçerler. Bu iki zon daha sonra vertebranın mezenşimal merkezini teşkil etmek üzere füzyon yaparlar. Bundan sonra birkaç kan damarı bulunan bir ortamda disk gelişmeye başlar. Disk daha sonra *ligamentum longitudinale anterius* ve *posteriusun* gelişeceği perikondral tabaka ile çevrilir. İntersegmental arterler vertebra gövdelerinin her iki yanında uzanırken, intervertebral disk ile sinirler yaklaştırmaya başlarlar. *Notochord*, gelişmekte olan vertebra gövdeleri tarafından çevrilerek dejenerasyona uğrar ve proteoglikan matriks içerisinde lokal hücre kümeleri halinde genişleme gösterir. Sonuçta; vertebralar arasında diskus intervertebralisin jelatinöz merkezi olan nükleus pulpozus teşekkül eder. Nükleus daha sonra, perikordal mezenşimden kaynaklanan annulus fibrozusun sirküler olarak dizilen lifleriyle sarılır. Bu iki yapı embriyonik diskus intervertebralisini meydana getirir (25,46).

1.6. İntervertebral Disk Fonksiyonları

İntervertebral disk dokusu hücreden fakirdir. Matriksini oluşturan su, kollajenler ve agregandan oluşur. Agregan, sülfatlanmış glikozaminoglikan zincirlerinin protein çekirdeğe kovalent bağla bağlanmış proteoglikan kümeleridir. Aslında hücreden fakir olan disk dokusunda kondrosit ve fibrosit olmak üzere iki tip hücre bulunur. Annulus fibrozustaki hücrelerin yoğunluğu her mm³ te 9000, nükleus pulpozusta ise mm³ te 4000 hücre mevcuttur (41,47). Nükleus pulpozusta kondrosit benzeri hücreler bulunurken, annulus fibrozus iç kısmında fibrokartilajinöz hücreler, annulus fibrozus dış kısmında ise fibroblast benzeri hücreler bulunur (48). Bu az sayıdaki hücrelerin çok önemli görevleri mevcuttur. Mezenkim kökenli bu kondrositler proteoglikan ve kollajenlerin dolayısıyla matriks yapımını üstlenmişlerdir. Makromoleküllerin yapım ve yıkımının dengede olması durumu disk bütünlüğü için çok önemlidir. Matriks bileşenlerinin

yıkımının daha fazla olduğu durum disk dejenerasyonudur (47,49). Disk hücrelerinin aktivitelerini; büyüme faktörleri, sitokinler, interlökinler, mekanik yükler ve Diabetes Mellitus gibi metabolik faktörler etkilerler (50–54).

1.7. İntervertebral Disk Dejenerasyonu

Disk dejenerasyonunun patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte yaşlanmaya bağılı gelişen yapısal kompleks değışiklikler, biyomekanik stresler, biyokimyasal değışiklikler ve genetik yapıdaki farklılıklar önemlidir (55–61).

Disk dejenerasyon modellerinin çoğunda yaşa bağılı derecelendirme sistemlerinin geliştirilmiş ve kullanılmış olduğunu görüyoruz. Thompson ve ark. (10) yaşlanmaya bağılı makroskopik disk dejenerasyonunu inceledirler. Boos ve ark. (62) ise diskteki dejenerasyonu yaşla ilişkili mikroskobik histolojik dejenerasyonu incelediler.

Thompson ve ark. (10), makroskobik derecelendirme sisteminde genç sağlıklı disk ile ileri yaştaki dejenere intervertebral diskleri 5 aşamalı yaş-dejenerasyon ilişkisi ile derecelendirdiler.

Boos ve ark. (62), geliştirdikleri mikroskobik histolojik derecelendirmede ise intervertebral diskteki; kondrosit proliferasyonu, müköz dejenerasyon, hücre ölümü, çatlak ve yırtık oluşumları, granüler değışiklikler dikkate alınır. Kartilaj son plaktaki hücre proliferasyonu, kırıldak düzensizliğı, kırıldakta çatlakların görülmesi, mikrofraktürlerin varlığı, yeni kemik oluşumları, kemik sklerozu dejenerasyonun belirlenmesinde önemlidir.

Diskteki ilk yıkım 10–16 yaşları arasında nükleus pulpozusta fokal hücre proliferasyonu ve granüler matriks yapımıyla gerçekleşir. Buna paralel olarak asidik mukopolisakkaridler matrikste artar. Bu yaş grubunda annulus fibrozus ve nükleus pulpozus yapısında genellikle bu yapı hâkimdir. Genç erişkin ≤ 30 yaş grubunda ise daha önceki değışikliklere ilaveten nükleus pulpozusta ileri değışiklikler olur. Nükleus matriksinde çok sayıda çatlak ve yırtıklar ile önemli granüler değışiklikler görülür. Genç erişkin yaş grubu annulus fibrozusta ilk histolojik değışikliklerin görüldüğü yaş grubudur. Erişkin 30–50 yaş grubunda ise ileri düzeyde artmış değışiklikler vardır. Bu yaş grubu annulus fibrozusun en çok etkilendiğı dönemdir. Ayrıca nükleus ile annulus sınırı kaybolur. 50–70 arası yaşlı grupta, diskte çok büyük çatlak ve yarıklar hücre proliferasyon kümeleri ve

granüler materyaller tarafından doldurulmuştur. Daha ileri >70 yaş grubunda ise yapısal anormal değişikliklerden ziyade skar benzeri doku ve geniş doku defektleri mevcuttur. Bu aşamadan itibaren anatomik farklılaşma bitmiştir. Böylelikle intervertebral diskin histolojik özellikleri tamamlanmıştır. Son dönemlerde ise patolojik teşhise yönelik olarak önemine izafeten immünohistokimya tekniği ile yaşa bağlı değişiklikleri gösteren moleküler belirteçler tanımlanmıştır (12,63–65). Yine diskte gerilmelere neden olan ve dejenerasyonun en temel mekanizmalarından kabul edilen mekanik faktörlerin fizyopatolojileri üzerine çok sayıda çalışmalar yapılmaktadır (58,66,67). Disk dejenerasyonunu etkileyen biyomekanik faktörler değişik geometrik ve analitik modellerle incelenmiştir (58). Bütün bu çalışmalarda temel olarak, disk homeostazisindeki değişikliklerin dejenerasyonda kilit rol oynadığıdır (68–72). Disk homeostazisinde bozulmaya sebep olan en bariz faktör ise yüksek laktik asit düzeyi kabul edilmektedir (7,55,56).

1.8. Lomber Disk Hernisi ve Diabetes Mellitus

1.8.1. Lomber Disk Hernisi ve Diabetes Mellitus Prevalansı

Lomber diskektomi yapılan hastalarda Diabetes Mellitus (DM) görülme oranı %9,1'dir. Diabetes mellitus hastalarında diskektomiden ancak %60'ında iyi sonuç alınırken, %28'inde ise tekrardan disk hernisi gelişir. Bu durum kontrol grubundan daha yüksektir. Kontrol grubunda ise %3,5 tekrarlayan disk hernisi gelişmektedir (73). Hem görülme sıklığı hem de nüks oranlarındaki yükseklik diyabetik olmayan kişilerle karşılaştırıldığında dikkat çekmektedir. Birçok çalışmada temel olarak diyabete bağlı gelişen bağ dokusu yapısındaki değişikliklerin lomber disk hernisi ile ilişkisine vurgu yapılmaktadır.

Günümüz tıbbi diyabet ve başlıca komplikasyonları olan kardiyovasküler ve renal hastalıklar, nöropati, retinopati, mikroanjiyopati, obezite ile ciddi mücadele etmektedir. Bu nedenle hastalığın etiyolojisindeki pankreas kaynaklı sebeplere yönelik genetik ve sosyokültürel çalışmalar, cerrahi tedavi şekilleri ve çeşitli farmasötik ilaç uygulamaları üzerinde yoğun bir şekilde çalışılmaktadır (74).

1.8.2. Tip 2 Diabetes Mellitus Epidemiyolojisi

Epidemiyolojik çalışmalar, son 40 yıl içinde Amerika Birleşik Devletleri'nde diabetes mellitus sıklığının yaklaşık altı kat arttığını göstermektedir (75). Uluslararası Diabet Federasyonu (IDF)'nin, 128 ülkeden elde edilen bilgilere dayanarak yayınladığı Diabetes Atlas 2000'e göre, bu ülkelerde 20–79 yaşları arasındaki diabetli hastaların sayısı 151 milyon (%4,6) ve bu değerin sadece 4,9 milyonunu (%0,09) Tip 1 diabet hastası olduğunu tespit etmiştir. Ülkemizde ise diabet sıklığı %7,2'dir. Hastalık kadınlarda daha sıktır (76).

1.8.3. Diabetes Mellitus'un Teşhisi

Günümüzde kullanılan diabet tanı kriterleri aşağıda sıralanmıştır:

1- HbA_{1c} $\geq$ %6,5 veya

2-Anlık Plazma Glikoz Düzeyi $\geq$ 200mg/dl (11,1mmol/l) hastada hiperglisemi semptomlarının bulunması veya

3-Açlık Plazma Glikoz düzeyi $\geq$ 126mg/dl ($\geq$ 7,0mmol/l) veya

4-OGTT (*Oral Glukoz Tolerans Test*) sonrası 2. saat plazma glikoz düzeyinin $\geq$ 200mg/dl (11,1mmol/l) olmasıdır (77).

1.8.4. Akut ve Kronik Dönem Komplikasyonları

Akut komplikasyonlar;

Diabetli hastalarda erken mortalite ve morbiditeden sorumludurlar. Bunlar;

1-Diabetik ketoasidoz

2-Nonketotik hiperozmolar koma

3-Hipoglisemik koma

4-Laktik asidoz.

Kronik komplikasyonlar;

1-Mikrovasküler komplikasyonlar; diabetik retinopati, nefropati ve nöropatidir (78–80).

2-Makrovasküler komplikasyonlar; koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık, periferik arter hastalığı, diabetik ayak ve enfeksiyonlarıdır (78–80).

Diabetin bağ dokusu üzerine olan etkileri kronik dönem komplikasyonlar içerisinde değerlendirilmelidir (78–80).

Diabetik komplikasyonlarla, HbA_{1c} (*Glycated hemoglobin A1c*) düzeyleri arasındaki ilişki hastalığın takibinde oldukça anlamlıdır. Diabetik

komplikasyonların önlenmesinde iyi glisemik kontrol şarttır (80,81). HbA1c düzeyi, diabetik hastalarda 2–3 ay öncesi ve bu süreçteki glisemik kontrolü gösterir (82). HbA1c düzeyinin temel değerinden çok yüksek olması diabetik komplikasyonların risk ve şiddetinin arttığını gösterir. Diabet Kontrolü ve Komplikasyonları Çalışması (DCCT), yoğun tedavi ile tüm komplikasyonların yaklaşık olarak %50 oranında gerilediğini bildirmektedir (83).

1.8.5. Akut ve Kronik Dönemde Diabetes Mellitus'un Bağ Doku Üzerine Olan Etkileri

Diabetes Mellitus'a bağlı gelişen bağ dokusu etkilenmelerinde hem mekanik hem de biyokimyasal süreçler önemli rol oynar. Tip 2 DM hastalarının büyük çoğunluğu obezdirler. Bu durumu açıklayan birçok nöroendokrin yolların olmasına rağmen aşırı beslenme davranışı sonucunda vücutta GIP (*Glucose Dependent Insulinotropic Polypeptide*) polipeptid düzeyi ve reseptörlerinin adipoz dokuda aktivasyonu sonucunda obezite geliştiği bilinmektedir. Dolaylı olarak GIP sekresyonundaki artış β hücre hiperplazisine, hiperinsülinemiye ve obeziteye sebep olur. Ayrıca bu peptidin vücutta uzun süre yüksek düzeyde seyrettiği durumlarda insülin rezistansı ve sonuçta Tip 2 diabete sebep oldukları bilinmektedir. Obezite ve diabet iki ayrı hastalık kabul edilmelerine rağmen birbirleriyle yakından ilişkilidirler. Sonuç olarak diabetik hastaların büyük çoğunluğu aşırı yeme sonucu gelişen obez hastalardır (84–87).

Nükleus pulpozus, agregan gibi proteoglikanlardan ve Tip 2 kollajenden ve sudan zengindir (88). Deformasyonel yüklerin fizyolojik etkileri ve frekansları incelendiğinde düşük frekanslı dinamik kompresyon modelinde ekstrasellüler matriks makromoleküllerinde kollajen Tip II, glikozaminoglikanlar artarken, MMPs (*Matrix Metallo-Proteinases*) gibi katabolik faktörler de artarlar (89,90). Obezite sonucunda omurgaya binen yük artmaktadır. Düşük frekanslı dinamik kompresyon modelinde (0,01Hz, 1MPa) *in vivo* rat kuyruk sokumu modelinde Nükleus pulpozus hücrelerinde ECM (*Extracellular Matrix*) gen üretimi olurken, yüksek frekanslı kompresyonlarda (1Hz) katabolik faktör üretimi artmaktadır (91). Gerilme kuvveti (%1–8;1Hz) olduğunda annulus fibrozus hücrelerini çevreleyen kollajen yapıda Tip 2 kollajende, agregan gen üretiminde artma olurken, MMP–3 (*Matrix Metallo-Proteinase-3*) üretimi azalır (92). Bu durum

intervertebral disk üzerindeki mekanik yükü artırarak dejenerasyonu hızlandırmaktadır (93–98).

NFκB (*Nuclear Factor Kappa B*)' yi oksidatif stresler (99), diabetteki yüksek glukoz düzeyi (100) ve ileri glikasyon son ürünleri (101) aktive ederler. Özellikle vücuttaki birçok apoptozis mekanizmalarından NFκB aktivasyonu sorumlu tutulmaktadır (99).

Ayrıca diabetin mezenkimal dokuda ve diğer dokulardaki çoğu etkileri NAD(P)H oksidaz enzim düzeyinde artma ve bunun sonucunda reaktif oksijen metabolitleriyle olmaktadır. Diabetik retinopatide gelişen endotel hücre tahribatının sorumlusu MMP–2 ve mitokondrial disfonksiyondur (102). *N-(Carboxymethyl) lysine* (CML) serum ve intervertebral diskteki seviyesi yüksektir ve oksidatif tahribatın endojen belirteci olarak kabul edilmektedir. Ayrıca en büyük glikozile oksidatif proteindir. Diabetik hastaların intervertebral disk yapılarında ölçümleri yüksek düzeyde bulunmuştur. Glikooksidasyon reaksiyonu sadece oksijen varlığında gerçekleşen hidrojen peroksit ve süperoksit radikallerindeki gibi serbest radikal oluşum mekanizmayla oluşur. Yaş aralığı (55–82) arasındaki yaşlı grubun nükleus pulpozusunda CML miktarı immünohistokimyasal olarak kuvvetli (+++) boyanma özelliği gösterirken, annulus fibrozusta ise orta düzeyde (++) bir boyanma özelliği gösterir. Erişkin 30–54 yaş grubunun nükleus pulpozuslarında yok denecek kadar az veya hafif (+/-) boyanma olmuştur. Çocukluk yaş grubunda ise boyanma olmamıştır. Fetal, çocuk ve genç erişkin yaş gruplarında ise annulus fibrozusta CML immün boyanma özelliği tespit edilmemiştir (103).

Disk hücrelerinin beslenmesi bilindiği gibi diffüzyonla olmaktadır. Buna göre besin öğelerinin tamamı oksijen ve glikoz da dâhil disk dokusunda düşük yoğunluktadır. Disk hücreleri GLUT 1 (*Glucose Transporter 1*) reseptörleri ile glikoz transportu yaparlar (104). Kondrositlerde GLUT transportörlerinin glikoz transport saturasyonu >1mmol/L'dir (105). Disk hücrelerinin glikoz tüketim saturasyonu çok daha az farklı oranla 1–5 mmol/L'dir. Disk nükleus hücreleri için kullanılan pozitif pastör etkisi olarak kabul edilen görüşe göre düşük oksijen konsantrasyonunda glikolizis yoluyla özellikle laktik asit üretiminde artar (106). IGF (*Insulin Like Growth Factor*), insülin ve oral antidiabetiklerin disk

hücrelerine glikoz transportundaki etkisiyle ilgili çalışmalar henüz yeterli düzeyde değildir. Yine sağlıklı insan disk hücrelerinde glikoz transport saturasyonunu etkileyen faktörlerin irdelenmesi gereklidir. Diabette bu duruma mikrovasküler atheroskleroz faktörünü de ekleyerek değerlendirmekte fayda vardır. Normal diskte laktik asit konsantrasyonundaki artış dejenerasyon bulgusudur. Düşük oksijen konsantrasyonu glikolizis yoluyla matriks-hücre ilişkisini ekstrasellüler matriks ozmotik yapısını bozarak etki eder. Sonuçta dejenere disklerde, matriks kaybı ve ozmotik basınçla ödem gelişir. Bunun tam tersine yüksek glikoz, düşük oksijen konsantrasyonu olan ortamdaki laktik asit üretimiyle ilgili çalışmalar önem arz etmektedir. Bu çalışmalardan elde edilecek sonuçlar diyabetin disk dejenerasyonu ile ilişkisini anlayabilmemiz için önemli katkı sağlayacaktır.

Advanced Glycation Endproducts (AGEs) ürünler diyabetik hastaların vücutlarında yüksek miktarda bulunur (107,108). AGEs ürünler enzimatik olmayan glikasyonla veya karbonhidratların ve proteinlerin yıkımıyla birlikte tüm dokularda birikirler (109). AGEs ürünler kondrositlerde ve uzun ömürlü proteinlerde, örneğin kollajen ve proteinlerde daha fazla birikmektedir. Mezenkimal hücrelerde proliferasyonu inhibe ederler ve apoptozisi uyarırlar. Glikoz son yıkım ürünlerinden olan gliseraldehit ve glikolaldehit doz bağımsız apoptozisi uyarırlar. Hücre içi reaktif oksijen metabolitlerini artırır (110,111).

Mezenkimal hücrelerde glikasyon son ürünlerinin AGE'lerin Western-bloot çalışmasında, AGE-2 ve AGE-3, RAGE (*Receptors of AGE*) oranını, 1,5 kat arttırdığı tespit edilmiştir (108). Gliseraldehit ve glikolaldehit mezenkimal hücrelerin tamir ve olgunlaşmasını inhibe edip doku kitlesinde azalmaya sebep olurlar. RAGE etkileşimi sonucunda dokular için çok toksik olan reaktif oksijen metabolitlerinin üretilmesine sebep olurlar. Çoğu dokularda olduğu gibi intervertebral disk mezenkiminde de bu şekilde dejenerasyona ve degradasyona sebep olurlar (109,112). ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) incelemeleri sonucunda AGE'lerin mezenkimal dokulardaki kondrojenik diferansiyasyona etkileri şöylece özetlenebilir. AGE- 2 ve AGE-3'ün, Tip II kollajen ve kondrosit spesifik matriks komponent üretimini yaklaşık olarak bir buçuk kat daha da geriletirler (109). AGEs ürünlerin bağ doku üzerine olan etkileri diyabetik vasküler komplikasyonların patofizyolojisiyle de ilişkilidir (113).

Yaşlanmaya bağlı glikasyon son ürünlerinin üretimindeki artma sonucunda kemik dokuda kırılabilirlik artışı streptozosinle diabetes mellitus yapılan ratlarda doz bağımsız olarak osteoblastlardan Tip I kollajen sentezindeki azalmayla ilişkilidir (114). Ayrıca hücre düzeyinde AGE-RAGE ilişkisine dayalı yapılan incelemeler neticesinde intrasellüler reaktif oksijen metabolitlerinin arttığı gösterilmiştir (115,116). AGE ürünlerin oksidasyon ürünleriyle yaptıkları çapraz bağlar ile degradasyon enzimlerine hassasiyet ve çözünürlükte artma meydana gelir. Glikasyon çapraz bağlanmaya, enzimik çapraz bağlanmalar eklendiğinde varolan fonksiyonel fibril üretiminde fibrillerin niteliklerinde bozulmalar meydana gelir (109). Kollajen fibrillerin dokuya uyum yetersizliği nedeniyle gerilme ve streslere dayanıksızlık gelişir. En erken dejenerasyon bulgusu mekanik olarak kendisini ortaya koyar (117).

Diabetik ve özellikle Metabolik Sendrom'lu hastalarda TGFβ1 düzeyi tüm vücutta olduğu gibi disk ekstrasellüler matriksinde de yüksek oranda bulunmaktadır. Diabetes mellitus vasküler endotelinden ve fibroblastlardan diaçilgliserol protein kinaz-C subünitelerinin aktivasyonu neticesinde TGFβ1 aşırı miktarda salınımı gerçekleşir. TGFβ1 hücre proliferasyonu ve mezenkimal hücrelerden kollajen üretimini artırmaktadır (118). Dolayısıyla endotelde ve disk mezenkimal dokusunda fibrozis gelişimine neden olur. Ayrıca fibronektin sentezini de artırır. TGFβ1 heksozamin *glikoz-6- fosfat* yolağını *glikozamin-6-fosfat* yolağının aktivasyonu ile birlikte fibronektin ve laminin düzeylerini artırıp böbrek hastalığında rolü olduğu gösterilmiştir. Diabetes mellitus mononükleer fagosit fonksiyonları da bozuktur. Yaşlı disklerde bulunmayan, fakat daha çok genç disklerde bulunan monosit fonksiyonları gerilemiştir. Bu hücreler histamin, heparin, TNF-α (*Tumor Necrosis Factor α*), proteaz, karbonhidrat enzim, interleükin ve kemoatraktanları üretirler. Bu faktörler neovaskülarizasyon, fibroblast aktivasyonu ve proliferasyonu ile fibrozis üretiminden sorumludurlar (103).

Liu ve ark. (119) hidrostatik basınca tepki olarak genellikle endojen ve eksojen nitrik oksit intervertebral disklerde proteoglikan sentezini inhibe ettiğini gösterdiler. DM'de hücrenin antioksidan savunma güçleri zayıflar. Artmış oksidatif stres altında yüksek düzeydeki nitrik oksit ve proinflatuar

transkripsiyon faktörü NFκB aktivitesindeki artış diabetik hastalardaki bağ doku değişikliklerine yol açar (120,121). Proinflamatuvar sitokinler ve bunların reseptörleri IL-1A, IL-1B, IL-6, IL-1-R1, IL-2 Ra, IL-6R ve TNF-α disk dejenerasyonunu artırır (66,122,123).

1.9. Kollajenler ve İntervertebral Disk

1.9.1. Kollajenler ve Klinik Özellikleri.

Kollajen fibriller belli sayıdaki kollajen geninin ürünleridir. Dokulardaki spesifik kollajen zincir değişiklikleri hemen daima posttranslasyonel modifikasyonla gerçekleşmektedir (124,125). Omurgalılarda en küçüğü 46 polipeptid zinciri içeren 28 değişik tipte kollajenler tanımlanmıştır (126,127). Kollajenlerin Triple- Helix (Üçlü-sarmal) yapıya dönüşmeden önce, büyük çoğunluğu granüllü endoplazmik retikulumda posttranslasyonel modifikasyona uğrarlar (124,125). Birkaç molekül ve enzim tarafından istenilen tipte katlanma ve kesilmelere tabi tutulurlar. Bu reaksiyonlarda çok sayıda *hidroksilaz glikoziltransferaz*, *peptidil cis-izotransferaz* ve *protein disülfid izomeraz* (PDI) enzimleri görev yaparlar (124).

Canlılardaki önemine göre kollajenlerin temel yapı taşları ihtiyaca göre çok çeşitli özelliklerdedir. Bu özellikler; ısıya dayanıklılık, mekanik kuvvet ve diğer biyomoleküllerle olan özel ilişkileri içerir. Fibril yapıları ve kollajen ağındaki özel yapılarına göre kollajenler beş grupta incelenmektedirler (128).

a-Fibrillar (Lif halinde): Bu grupta Tip I, II, III, V, XI, XXIV ve XXVII yer alır. İntervertebral disk, cilt, tendon, ligament, kıkırdak, vitrea, kan damarı, barsaklar, bazal membranlar kornea, plasenta ve kemikte bulunurlar.

b-Network (Ağ yapısında): Bu grupta Tip IV, VI, VIII, X yer alır. Bazal membranlarda, kemik, kıkırdak, kornea, beyin, kalp ve böbrekte bulunurlar.

c-Anchoring Fibrillar (Çapa şeklinde fibriller): Bu grupta Tip VII, kollajen yer alır. Kollajen Tip VII, daha ziyade cilt ve mesanede bulunur.

d-FACITs (Fibril Associated Collagens with Interrupted Triple Helices): Fibrillerle ilişkili Triple Helix'lerle kesintili bölgeleri olan kollajenler ise farklı ve daha heterojen bir molekül ailesidirler (123,129). Bu grupta ise Tip IX, XII, XIV, XVI, XIX, XX, XXI, XXII ve XXVI kollajenler yer alırlar. Bunlar genellikle sık ve karmaşık yapıda olan her bir fibril arasındaki ve hücre / matriks düzeyindeki

etkileşimin sağlamlığını kontrol eden yapılardır (130). İntervertebral disk ve diğer kıkırdak dokusunda, kornea, vitrea, cilt, tendon, kemik, böbrek, bazal membran, diş, bağ dokusu, testis ve overde bulunurlar. Fibril yüzeylerindeki FACITs kollajenler genellikle fibriller arası hareketin aktarılmasında rol alırlar (123).

e-MACITs (Membrane Associated Collagens with Interrupted Triple Helices): Membran yapısında bulunan *Triple Helix*'lerle kesintili kollajenler grubunda ise Tip XIII, XVII, XXIII ve XXV kollajenler bulunur. Beyin, göz, cilt, kalp ve testiste endotel hücrelerinin epitelyum hemidesmozomlarında bulunmaktadır.

f-MULTIPLEXINs (Multiple Triple-Helix Domains and Interruptions) : Çok sayıda Triple Helix alanlarıyla kesintiler içeren kollajenler grubunda Tip XV, XVIII kollajen yer alır. Bunlar kalp, böbrek, testis, karaciğerde ve bazal membranlarda bulunurlar.

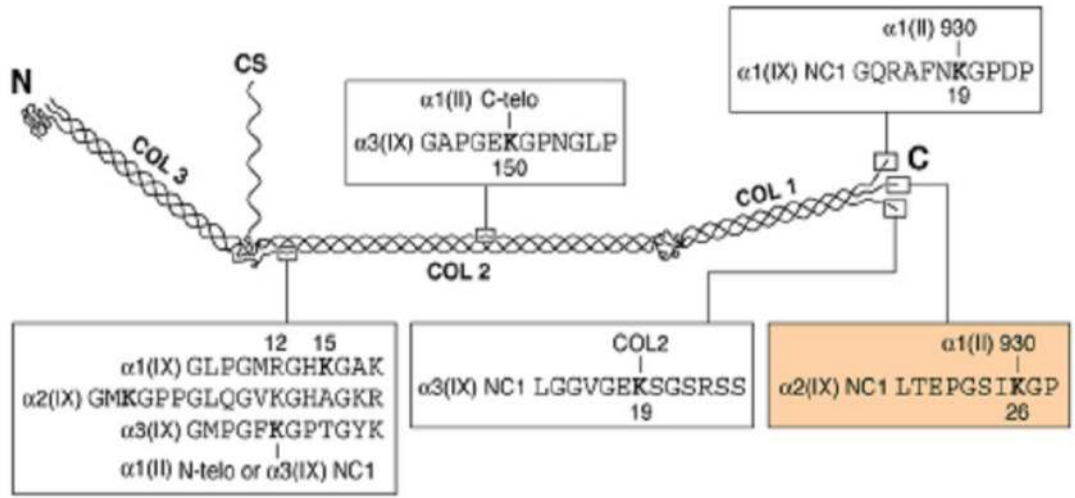
1.9.2. İntervertebral Disk ve Tip IX Kollajen

Mekanik ihtiyaçlara uygun olarak annulus fibrozus ve nükleus pulpozusun ekstrasellüler matriksleri farklı yapısal özellikleri ihtiva eden değişik temel elemanlardan oluşurlar (Tablo 1). Diskin gerilme kuvvetlerine karşı koyabilmesi annulus fibrozus kuru ağırlığının %70'inin, nükleus pulpozus kuru ağırlığının ise %20'sinin Tip I ve Tip II kollajenlerden oluşmasıyla açıklanmaktadır. Kompresif güçler, nükleus pulpozusun içerdiği %50'sinden fazla ve annulus fibrozusun ise %20 kadar proteoglikan içerikleri tarafından absorbe edilmektedir. Diskte bulunan temel kollajenler minör oranlardaki komponentleriyle kollajen Tip III, V, VI, IX, X, XI, XII ve XIV'tür (Tablo 1) (131–137). Kollajen olmayan küçük proteoglikan molekülleri lumikan, biblikan, dekorin, fibromodulin ve fibronektindir (138,139). Kollajen fibrillerin, fibröz yapısı, uzunlukları, fibriller arası mesafeleri ve çapları birbirlerinden farklıdır (133).

Tablo 1. İntervertebral disk içeriği (140).

Disk Proteinleri	Proteoglikan	Kollajen	Disk Proteinazları
Fibronektin	Agregan	Fibril yapıda kollajenler I-%0-80	Metalloproteinazlar (MMPs) Kollajenazlar (MMPs 1,8,13)
Elastin	Versican	II-%0-80	Jelatinazlar (MMP-2 ve 9)
CILP	Decorin	III-<%5	Stromelisin (MMP-3)
Asporin	Biblikan	V-%1-2	ADAMS
	Fibromodülin	XI-%1-2	
	Lumican	Kısa heliks kollajenler	
	Perlecan	VI-%5-20	
		IX-%1-2	
		XII-<%1	

İntervertebral diskte bulunan Tip IX kollajen, Tip II ve Tip XI kollajenler ile çapraz bağlantılar yapmış halde bulunur (140). Disk dokusu içerisindeki miktarı %1-2'lik kısma tekabül etmektedir (140–142). Kıkırdığın gerilme kuvvetlerine dayanıklılığını yüksek su içerikli proteoglikan matriksteki Tip II kollajen fibriller ağ sağlar. Tip II kollajen fibriller ile Tip IX kollajen kovalent bağla birbirlerine bağlanmak suretiyle, diskin mekanik kuvvetlere direncini artırır (143). Kollajen Tip IX'un yaptığı çapraz bağların özelliği; moleküller arası geleneksel bağlantı şeklinde değil, içerdiği peptid yoluyla ardışık şekilde ve çok sayıda bağlantılar gerçekleştirebilmesidir. $\alpha 1$, $\alpha 2$ ve $\alpha 3$ ile temsil edilen Tip IX kollajen alt tiplerinin Tip II kollajenle olan çapraz bağlanma noktaları Şekil 1'de görülmektedir (144).



Şekil 1. Kollajen Tip IX'un, Tip II kollajenle ve diğer kollajenlerle olan çapraz bağ bölgeleri ELISA çalışmaları sonucunda ortaya konuldu (144).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Çalışma Grupları

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahi Anabilim Dalı'nda, 2006 ve 2010 yılları arasında lomber diskektomi yaptığımız 60 hasta çalışmaya dâhil edildi. Çalışmada gruplar, 30 diabetik olmayan ve 30 Tip II diabetik hastalardan oluşturuldu. Bu hastalarımıza ait özellikler Tablo 2 ve 3'te sunuldu.

2.2. Cerrahi Teknik

İntervertebral disk hernisinin cerrahi tedavisini ilk kez 1934 yılında Mixter ve Barr tanımladılar (145). 1970'li yılların sonunda Caspar, Yaşargil ve Williams birbirlerinden bağımsız lomber radikülopati tedavisinde mikrocerrahi tekniklerini yayımladılar (146–148).

Bu tekniklere bağlı olarak hastalarımıza genel anestezi altında prone pozisyonda lomber mikrodiskektomi yapıldı. Önce lomber bölgede geniş lokal alan temizliği yapıldı ve hastalar cerrahiye uygun steril olarak örtüldüler. Seviye uyumlu yaklaşık 3 cm vertikal cilt insizyonundan sonra cilt cilt altı geçildi. Paraspinal kas fasyası uygun taraftan insize edildikten sonra kas dokusu subperiosteal olarak disseke edildi. Mikrocerrahi ile parsiyel hemilaminektomi, ligamentum flaviektomi, mikrodiskektomi ve foraminotomi yapıldı. Kök ve korddaki rahatlama gözlendi. Kanama kontrolü yapıldıktan sonra katlar usulüne uygun suture edildi.

Ameliyat esnasında elde edilen diskektomi materyallerinin en az 7 cc'si immünohistokimyasal incelemeye ayrıldı.

2.3. İmmünohistokimyasal İnceleme Yöntemi

İmmünohistokimyasal inceleme metodu cerrahi ile elde edilen dokuların rutin formalin ve benzeri solüsyonlarda tespit edilmelerinden sonra moleküler düzeyde incelenmesine imkan sağlayan patolojinin önemli bir metodudur. Uygulamada üç ana prensip mevcuttur. Bunlar; antibadi ve belirteçler, teknik prosedürler ve immünohistokimyasal bulguların patolojik teşhiste yorumlanmasıdır (149). 1990'lı yıllarda gelişen antijen avı tekniği immünohistokimyasal incelemelere ivme katmıştır (150–157).

Elde ettiğimiz diskektomi materyallerine cerrahi sonrası %10'luk formaldehit ekledik. Daha sonra bunları buzdolabında +4 °C'de sakladık. Aynı

şekilde primer antibadinin taşınması ve saklanması esnasında da soğuk zincire riayet edildi ve +4 °C'de buzdolabında korundu. Çalışmadaki yeterli sayıdaki materyale ulaştıktan sonra bu materyalleri patoloji laboratuvarımızda kasetleme ve takip işlemlerine tabi tuttuk. Parafinde doku gömme işlemi sonrasında mikrotom bıçağı Leica 818® (Leica Biosystems Nussloch GmbH Heidelberger Str. 17–19 69226 Nussloch-Germany) ile parafin blokların her birinden 4µm kalınlıkta birer adet numune elde ettik ve lam üzerine aktardık. Bu numuneleri immünohistokimyasal boyama işlemine geçmeden önce 80 °C ısıda 20 dakika ön bir deparafinizasyona tabi tuttuk. Daha sonra bu numuneleri Ventana BenchMark XT® (Ventana Medical Systems. Inc. 1910E. Innovation Park Drive Tucson, Arizona, 85755, USA) cihazında rutin deparafinizasyon, makroskopik sindirim ve boyama işlemlerini gerçekleştirdik. Cihazda deparafinizasyon ve makroskopik sindirim kendi bünyesinde tam otomatik programla gerçekleştirildi. Makroskopik sindirim için ürün katoloğunda önerilen ve cihazda kullanılan Proteaz enzimi kullanılarak 30 dakikada gerçekleştirildi. Daha sonra 1 saat süre ile cihazda primer rabbit polyclonal antihuman Col9A1 antibody® (ab75807), (abcam Ltd. San Francisco, USA)® ile immünohistokimyasal boyama işlemi gerçekleştirildi (158). Ürün katoloğunda ekstrasellüler dokular için önerilen 1/20–1/50 dilüsyon aralığı içerisinde kalınarak 1/20 dilüsyon oranında boya kullanıldı. Boyama işlemi sonrasında oda havasında kurutulan bu numunelerin üzerleri cam lamelle örtüldü. Olympus DP 71® ışık mikroskopunda inceleme yapıldı ve kameradan fotoğrafları elde edildi.

2.4. Değerlendirme

Boyanma oranları, boyanma şiddetleri ve boyanma toplam skorları semikantitatif olarak aşağıdaki gibi derecelendirildi (159).

Boyanma oranları;

0 = Disk dokusunun %1'inden azında kollajen Tip IX boyanma,

1+ = Disk dokusunun %1–10' unda boyanma,

2+ = Disk dokusunun %11–50' sinde boyanma,

3+ = Disk dokusunun %51– 80' inde boyanma,

4+ = Disk dokusunun %80' inden fazlasında boyanma,

Boyanma şiddeti ise aşağıdaki gibi;

0 = Boyanma yok,

1 = Soluk,

2 = Orta dereceli,

3 = Yoğun boyanma, şeklinde derecelendirildi.

Daha sonra “ $(1 + \text{boyanma şiddeti} / 3) \times \text{boyanma oranı}$ ” formülü ile boyanma toplam skoru hesaplandı ve bu skora göre olgular 4 gruba ayrıldı.

0 = Boyanmayan,

1 = Az boyanan,

2 = Orta dereceli boyanan,

3 = Güçlü boyanan.

Bu sayede diabetik ve diabetik olmayan hastalarımızın mikrodisektomi materyallerindeki kollajen Tip IX’un immünohistokimyasal boyanma düzeyleri elde edildi.

2.5. İstatistiksel Yöntem

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistik analizler için SPSS 17 istatistik paket programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotlar (Frekans, Yüzde, Ortalama, Standart sapma) ve niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson Ki-Kare testi kullanıldı.

Normal dağılımın incelenmesi için Kolmogorov - Smirnov dağılım testi kullanıldı. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında iki grup durumunda, normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ ve $p < 0,01$ ileri anlamlılık düzeyinde çift yönlü olarak değerlendirildi. Bağımsız değişkenlerin bağımlı değişken üzerine olan etkilerini ölçmek için ANOVA (F) ve çoklu doğrusal regresyon modeli kullanıldı.

3. BULGULAR

Çalışmamıza diabetik olmayan toplam 30 hasta dâhil edildi. Bu hastalara ait genel özellikler Tablo 2’de görülmektedir.

Tablo 2. Diabetik olmayan diskektomi yapılan hasta grubunun genel özellikleri

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	Operasyon seviyesi
1	e*	32	L5-S1
2	k*	64	L4-5
3	e	50	L5-S1
4	e	60	L5-S1
5	e	39	L4-5
6	k	58	L4-5
7	e	65	L1-2
8	k	47	L4-5
9	e	50	L4-5
10	e	40	L5-S1
11	e	37	L4-5
12	e	35	L5-S1
13	e	37	L4-5
14	k	33	L4-5
15	e	58	L4-5
16	e	55	L4-5
17	e	44	L5-S1
18	k	40	L4-5
19	e	61	L5-S1
20	k	46	L4-5
21	k	45	L4-5
22	e	23	L5-S1
23	e	68	L4-5
24	e	45	L4-5
25	k	47	L5-S1
26	e	48	L4-5
27	e	50	L5-S1
28	e	42	L5-S1
29	e	60	L4-5
30	e	48	L5-S1

1-e*-erkek, k*-kadın

Diabetik olmayan olguların yaş dağılımları ($47,57 \pm 10,92$) yıl idi (Tablo 2). Saplı kutu diyagramında grupların yaş ortalamaları kıyaslanmıştır (Şekil 2).

Diabetik olmayan gruptaki kadın hasta sayısı 8 (%26,7), erkek hasta sayısı 22 (%73,3) idi (Tablo 2).

Diabetik olmayan hastaların; 1’ine L1-2 (%3,3), 17’sine L4-5 (%56,7), 12’sine L5-S1 (%40) seviyelerinden ameliyat yapıldı. Bu grupta L2-3, L3-4 seviyelerinden ameliyat olan hastamız yoktu (Tablo 2).

Çalışmaya dâhil ettiğimiz 30 diabetik hastanın genel özellikleri ve HbA1c düzeyleri (%) Tablo 3'te sunulmuştur.

Tablo 3. Diabetik lomber diskektomi yapılan hastaların genel özellikleri

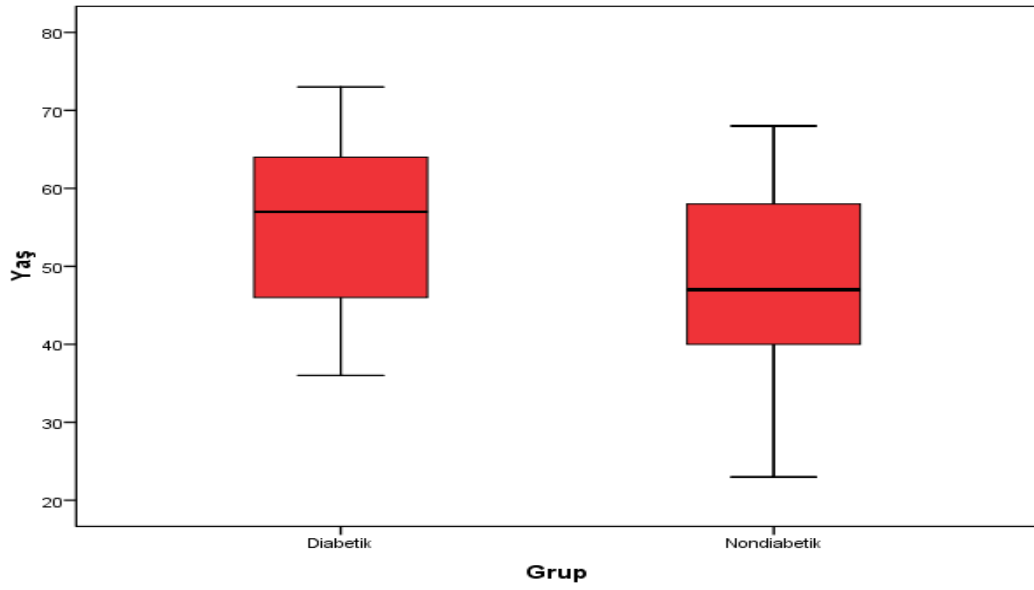
Hasta No	Cinsiyet	Yaş	HbA1c(%)	DM-TİP2 (Ay)	Operasyon Seviyesi
1	k*	40	6,7	24	L4-5
2	k	54	13,2	132	L4-5
3	k	70	6,2	24	L1-2
4	k	57	8,5	108	L4-5
5	e*	66	10,6	156	L4-5
6	e	66	8,4	108	L4-5
7	k	49	6,9	60	L3-4
8	e	66	12,8	120	L4-5
9	k	56	11,5	180	L4-5
10	k	56	13,2	120	L4-5
11	k	60	6,9	84	L4-5
12	k	61	12,3	180	L1-2
13	k	61	11,1	168	L5-S1
14	e	43	10,8	144	L4-5
15	k	57	13,2	156	L3-4
16	k	38	6,8	96	L4-5
17	k	57	8,3	36	L4-5
18	k	58	11,2	180	L4-5
19	k	67	12,7	168	L5-S1
20	k	73	9,7	132	L2-3
21	k	40	9,8	156	L5-S1
22	e	39	7,1	60	L4-5
23	e	36	6,3	24	L4-5
24	k	48	8,2	24	L4-5
25	k	66	11,4	120	L5-S1
26	k	53	7,0	96	L4-5
27	k	64	10,4	120	L3-4
28	k	59	7,5	60	L3-4
29	e	46	6,5	84	L4-5
30	e	46	6,7	90	L5-S1

1-k*-kadın, e*-erkek

Diabetik hastaların yaş dağılımları ($55,07 \pm 10,42$) yıl idi (Tablo 3). Saplı kutu diyagramında grupların yaş ortalamaları kıyaslanmıştır (Şekil 2).

Diabetik kadın hasta sayısı 22 (%73,3), erkek hasta sayısı ise 8 (%26,7) idi (Tablo 3).

Diabetik hastaların; 2'sine L1–2 (%6,6), 1'ine L2–3 (%3,3), 4'üne L3–4 (%13,3), 18'ine L4–5 (%60) ve 5'ine ise L5-S1 (%16,6) seviyelerinden ameliyat gerçekleştirildi (Tablo 3).

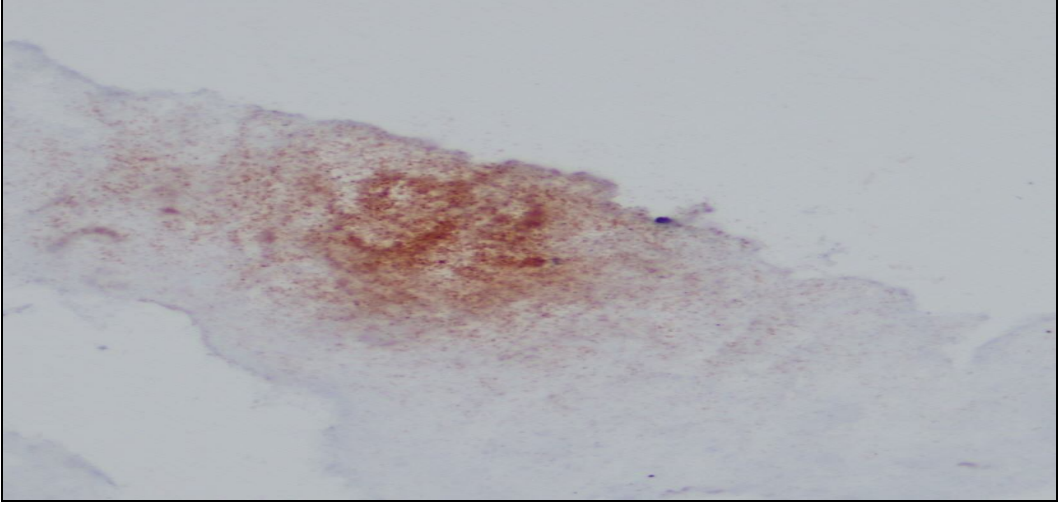


Şekil 2. Grupların yaş ortalamalarını gösteren saplı kutu diyagramı

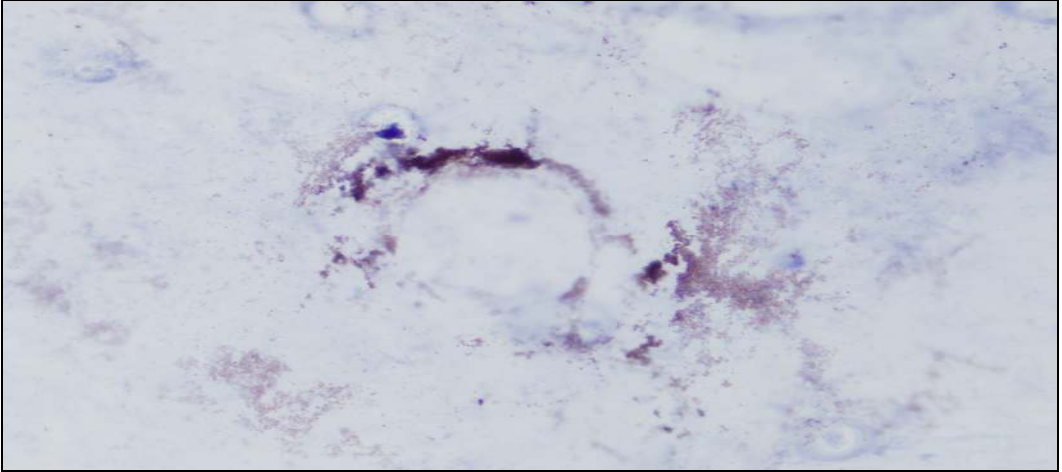
3.1. Diabetik olmayan hastaların Tip IX kollajen boyanma şiddeti ve oranları

Diabetik olmayan olguların, Tip IX kollajen boyanma şiddetleri şu şekildeydi. 9 olguda soluk boyanma (1), 9 olguda orta dereceli (2), 12 olguda ise yoğun boyanma (3) özelliği gözlemlendi (Şekil 3,4,7, Tablo 4,5).

Diabetik olmayan olguların, Tip IX kollajen boyanma oranları ise şu şekildeydi. 9 olguda +1 (%1-10'unda boyanma), 9 olguda +2 (%11-50'sinde boyanma), 12 olguda +3 (%51-80'inde boyanma) özelliği gözlemlendi (Tablo 4,5, Şekil 8).



Şekil 3. Diabetik olmayan hastanın diskektomi materyalinde yoğun kollajen Tip IX boyanma özelliği görülmektedir. (x400 büyütme)

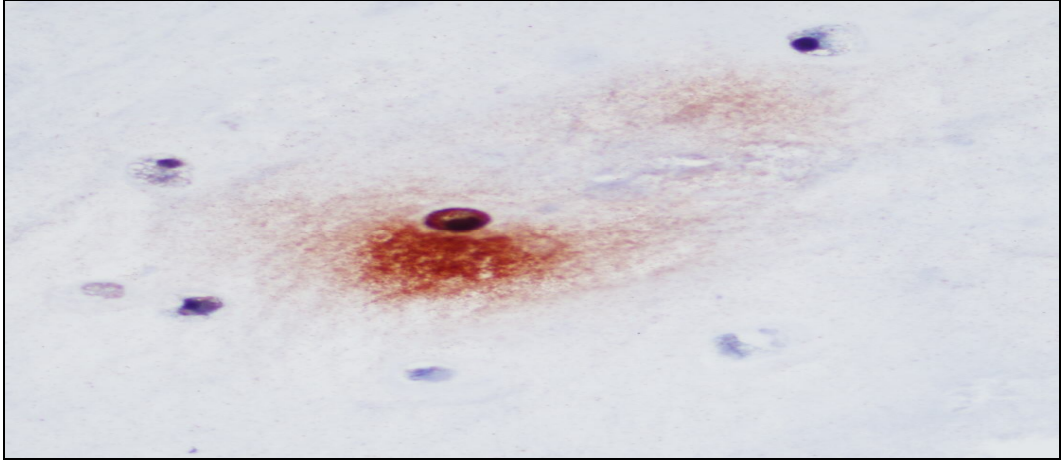


Şekil 4. Diabetik olmayan hastanın diskektomi materyalinde soluk kollajen Tip IX boyanma özelliği görülmektedir. (x400 büyütme)

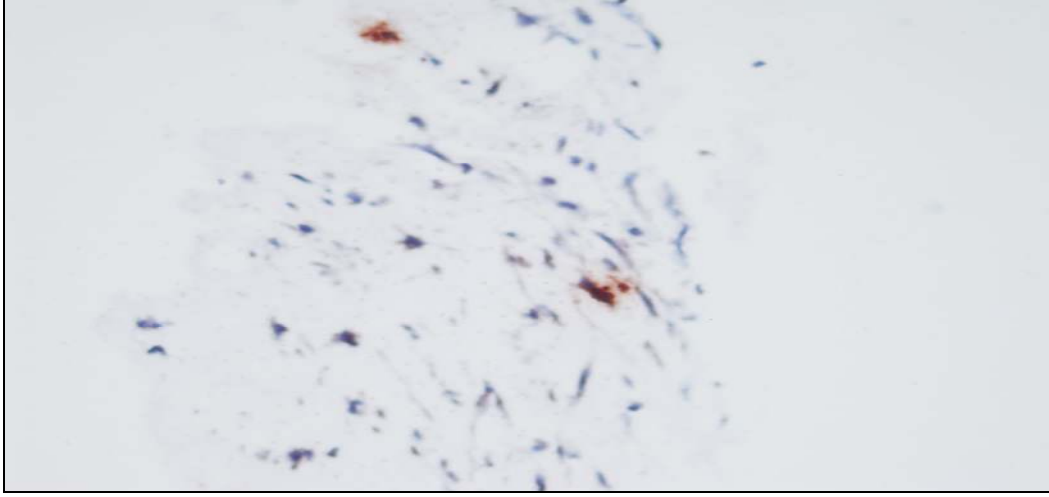
3.2. Diabetik olan hastaların Tip IX kollajen boyanma şiddeti ve oranları

Diabetik olguların, Tip IX kollajen için boyanma şiddetleri şu şekildeydi. 20 olguda soluk boyanma (1), 9 olguda orta dereceli boyanma (2), 1 olguda ise yoğun boyanma (3) gözlemlendi (Şekil 5,6,7, Tablo 4,5).

Diabetik olguların, Tip IX kollajen boyanma oranları ise şu şekildeydi. 20 olguda +1 (%1-10'unda boyanma), 9 olguda +2 (%11-50'sinde boyanma), 1 olguda ise +3 (%51-80'inde boyanma) gerçekleşti (Tablo 4,5, Şekil 8).



Şekil 5. Diabetik hastanın diskektomi materyalinde perisellüler bölgede yoğun kollajen Tip IX boyanma özelliği görülmektedir. (x400 büyütme)



Şekil 6. Diabetik hastanın diskektomi materyalinde soluk kollajen Tip IX boyanma özelliği görülmektedir. (x400 büyütme)

3.3. Her iki grubun Tip IX kollajen boyanma şiddetlerinin ve oranlarının karşılaştırılması

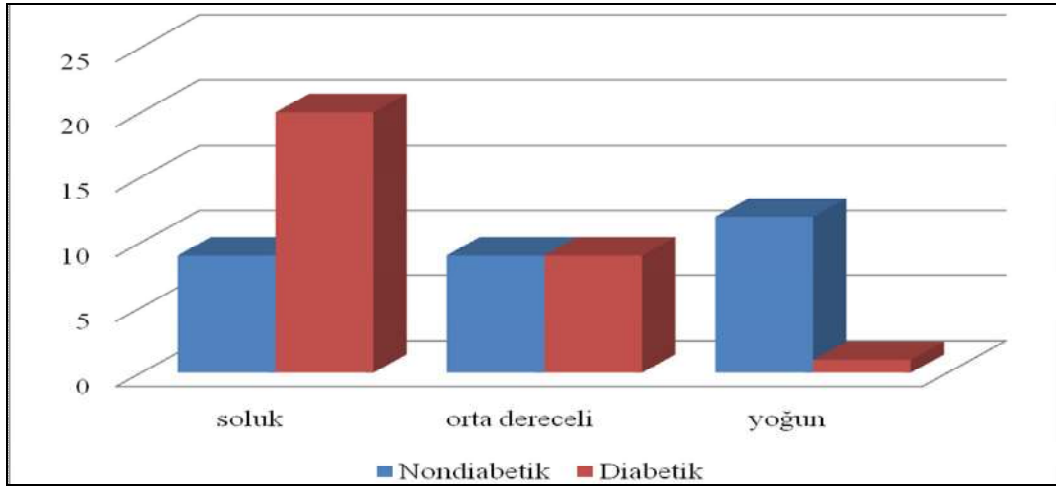
Her iki grubun boyanma şiddetleri karşılaştırıldığında, diabetik grubun kollajen Tip IX boyanma şiddetleri, diabetik olmayan gruptan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşüktü ($p=0,001<0,01$) (Şekil 7, Tablo 4,5).

Her iki grubun boyanma oranları karşılaştırıldığında, diabetik grubun kollajen Tip IX boyanma oranları, diabetik olmayan gruptan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşüktü ($p=0,001<0,01$) (Şekil 8, Tablo 4,5).

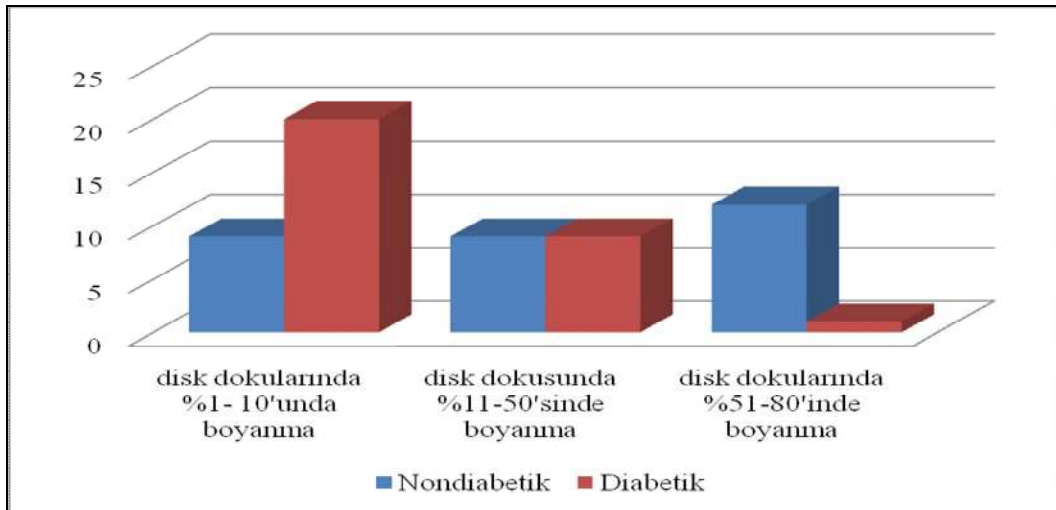
Tablo 4. Diabetik ve diabetik olmayan hastaların kollajen Tip IX boyanma şiddet ve oranları

Hasta No	Diabetik			Diabetik Olmayan		
	B*. Şiddeti	B. Oranı	B. Top.* Skoru	B. Şiddeti	B. Oranı	B. Top. Skoru
1	1	+1	4/3	3	+3	18/3
2	1	+1	4/3	1	+1	4/3
3	2	+2	10/3	1	+1	4/3
4	1	+1	4/3	2	+2	10/3
5	1	+1	4/3	2	+2	10/3
6	1	+1	4/3	3	+3	18/3
7	2	+2	10/3	2	+2	10/3
8	1	+1	4/3	2	+2	10/3
9	2	+2	10/3	3	+3	18/3
10	2	+2	10/3	3	+3	18/3
11	1	+1	4/3	3	+3	18/3
12	1	+1	4/3	2	+2	10/3
13	1	+1	4/3	1	+1	4/3
14	1	+1	4/3	1	+1	4/3
15	1	+1	4/3	3	+3	18/3
16	1	+1	4/3	2	+2	10/3
17	2	+2	10/3	2	+2	10/3
18	1	+1	4/3	1	+1	4/3
19	1	+1	4/3	1	+1	4/3
20	1	+1	4/3	3	+3	18/3
21	1	+1	4/3	2	+2	10/3
22	2	+2	10/3	3	+3	18/3
23	3	+3	18/3	1	+1	4/3
24	2	+2	10/3	3	+3	18/3
25	1	+1	4/3	3	+3	18/3
26	2	+2	10/3	2	+2	10/3
27	1	+1	4/3	1	+1	4/3
28	2	+2	10/3	3	+3	18/3
29	1	+1	4/3	1	+1	4/3
30	1	+1	4/3	3	+3	18/3

1-B.*=Boyanma, Top.*=Toplam



Şekil 7. Gruplar arasındaki kollajen Tip IX boyanma şiddetleri



Şekil 8. Gruplar arasındaki kollajen Tip IX boyanma oranları

Tablo 5. Gruplar arasındaki kollajen Tip IX boyanma şiddetleri ve oranları

		Diabetik		Nondiabetik		P
		N	%	N	%	
Mikrodiskektomi materyallerinde kollajen Tip IX boyanma oranları	Disk dokusunun %1- 10'unda boyanma	20	% 66,7	9	% 30,0	0,001**
	Disk dokusunun %11-50'sinde boyanma	9	% 30,0	9	% 30,0	
	Disk dokusunun %51-80'inde boyanma	1	% 3,3	12	% 40,0	
Mikrodiskektomi materyallerinde kollajen Tip IX boyanma şiddeti	Soluk	20	% 66,7	9	% 30,0	0,001**
	Orta dereceli	9	% 30,0	9	% 30,0	
	Yoğun	1	% 3,3	12	% 40,0	

****p<0,01**

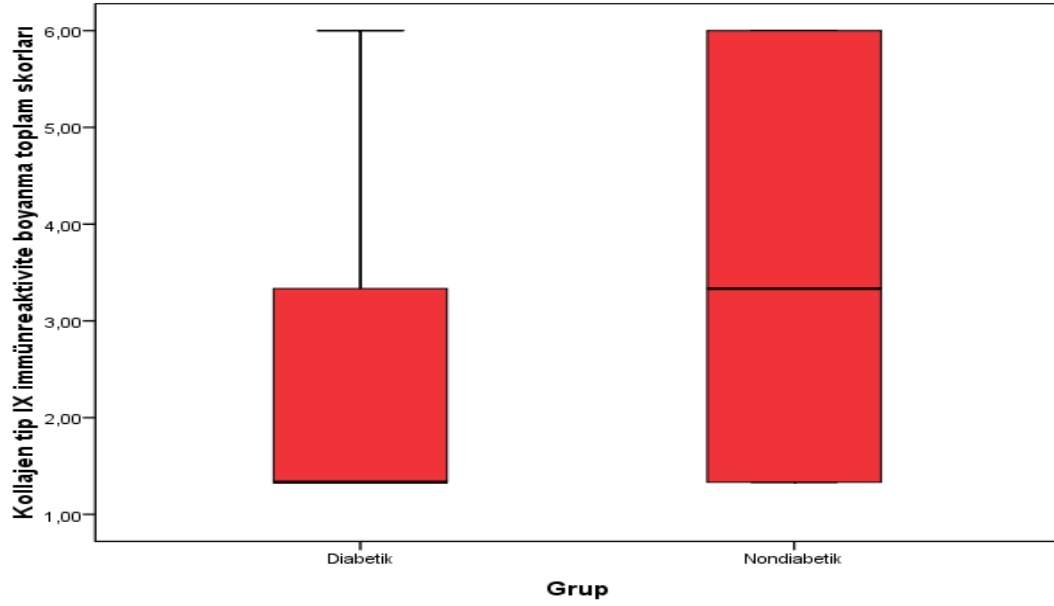
Diabetik olmayan grubun kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skoru ($3,800 \pm 1,990$) idi (Tablo 6, Şekil 9). Diabetik grupta kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skoru ($2,089 \pm 1,184$) idi (Tablo 6, Şekil 9).

Diabetik grubun kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skoru diabetik olmayan grubun skorundan istatistiksel olarak ileri anlamlılık düzeyinde daha düşüktü ($p=0,001^{**}<0,01$) (Tablo 6, Şekil 9).

Tablo 6. Gruplar arasındaki kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorlarının karşılaştırma tablosu

	Diabetik		Nondiabetik		p
	Ort	Ss	Ort	Ss	
Kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorları	2,089	1,184	3,800	1,990	0,001**

****p<0,01**



Şekil 9. Her iki grubun kollajen Tip IX toplam boyanma skorları saplı kutu diyagramında karşılaştırılmıştır.

3.4. Tip IX kollajen boyanma toplam skoru ile HbA1c arasındaki ilişki

Diabetik hastaların HbA1c (%) düzeyleri $9,39 \pm 2,45$ (min.6,2–max.13,2) idi (Tablo 3,7).

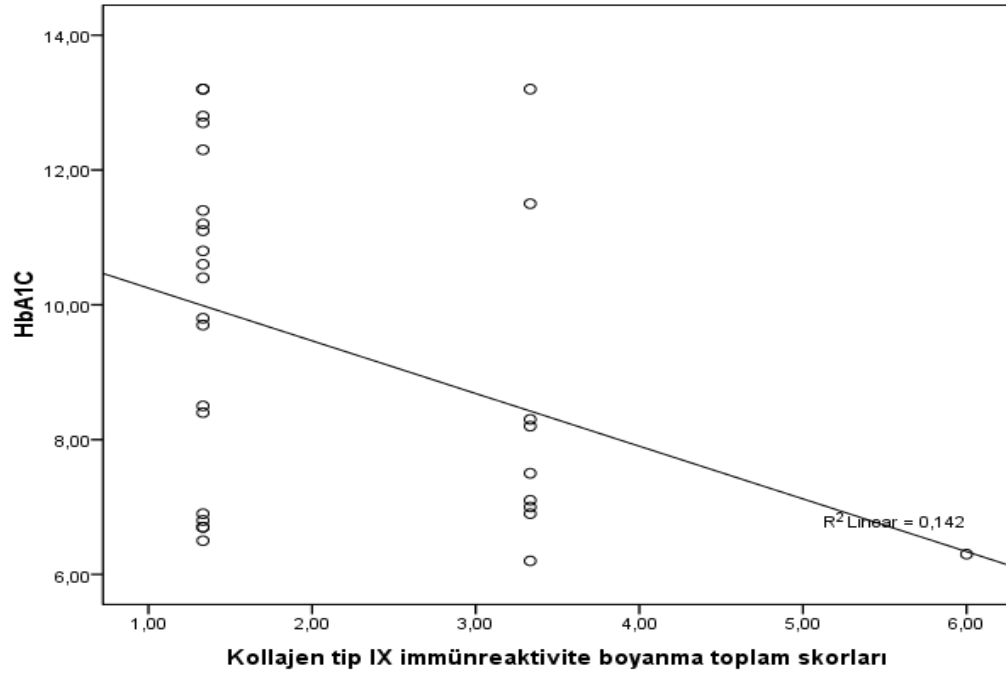
Tablo 7. Diabetik hastaların HbA1c (%) düzeyleri

	N	Ort.	S.s	Min.	Max.
HbA1c (%)	30	9,39	2,45	6,2	13,2

HbA1c ile kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorları arasındaki ilişkiyi belirlemek üzere yapılan korelasyon analizi sonucunda, puanlar arasında %37,7 düzeyinde negatif yönde anlamlı ilişki vardı ($r=-0,377$; $p=0,040<0,05$). Buna göre DM’li olguların HbA1c düzeyleri arttıkça kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skoru azalmaktaydı (Tablo 8, Şekil 10).

Tablo 8. Diabetik grubun HbA1c ile kollajen Tip IX boyanma toplam skorları arasındaki korelasyon tablosu

Boyut	Boyut	N	r	P
Kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorları	HbA1c	30	-0,377	0,04*



Şekil 10. Diabetik grubun HbA1c düzeyleri ile kollajen Tip IX boyanma toplam skorları arasındaki korelasyon diyagramı

3.5. Tip IX kollajen boyanma toplam skoru ile diabet süreleri arasındaki ilişki

Diabetik hastaların DM (ay) süreleri dağılımı $107 \pm 50,76$ (min.24-max.180) ay idi (Tablo 3,9).

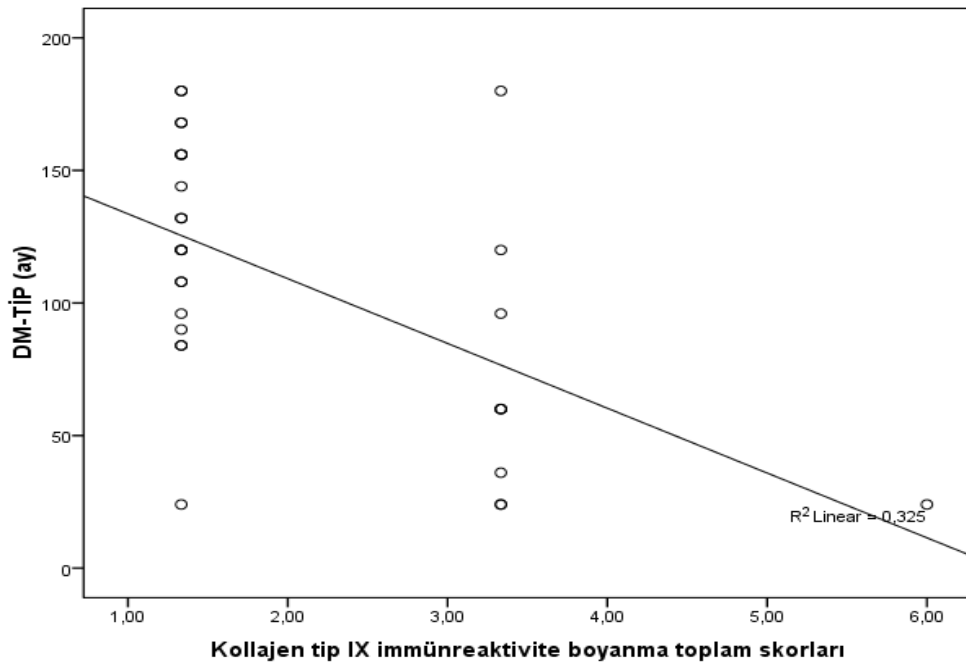
Tablo 9. Diabetik hastaların DM (ay) süreleri

	N	Ort.	S.s	Min.	Max.
DM-TİP 2 (ay)	30	107	50,76	24	180

DM süresi ile kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorları arasındaki ilişkiyi belirlemek üzere yapılan korelasyon analizi sonucunda, puanlar arasında %57,0 düzeyinde negatif yönde anlamlı ilişki vardı ($r=-0,570$; $p=0,001<0,05$). Buna göre DM’li olguların DM süresi arttıkça kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skoru azalmaktaydı (Tablo 10, Şekil 11).

Tablo 10. Diabetik grubun DM (ay) süreleri ile kollajen Tip IX boyanma toplam skorları arasındaki korelasyon tablosu

Boyut	Boyut	N	r	p
Kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorları	DM (ay)	30	-0,570	0,001*

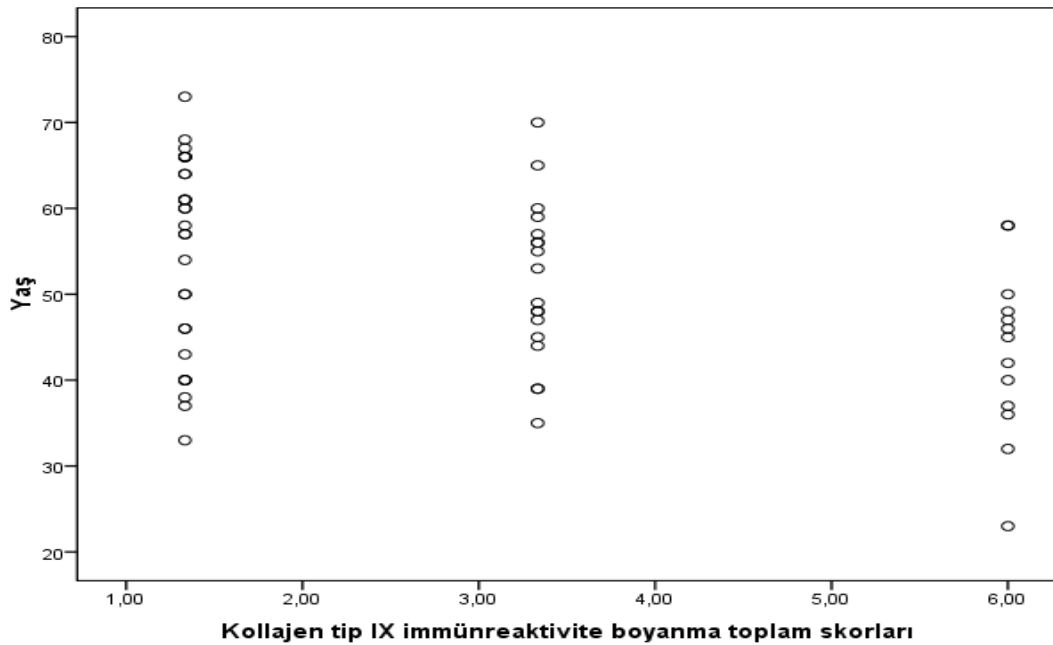
**Şekil 11.** Diabetik grubun DM (ay) süresi ile kollajen Tip IX boyanma toplam skorları arasındaki korelasyon diyagramı

3.6. Tip IX kollajen boyanma toplam skoru ile yaş arasındaki ilişki

Yaş ile kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorları arasındaki ilişkiyi belirlemek üzere yapılan korelasyon analizi sonucunda, puanlar arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki yoktu ($r=-0,297$; $p=0,111>0,05$) (Tablo 11, Şekil 12).

Tablo 11. Diabetik grubun yaşları ile kollajen Tip IX boyanma toplam skoru arasındaki korelasyon tablosu

Boyut	Boyut	N	r	p
Kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorları	Yaş	30	-0,297	0,111



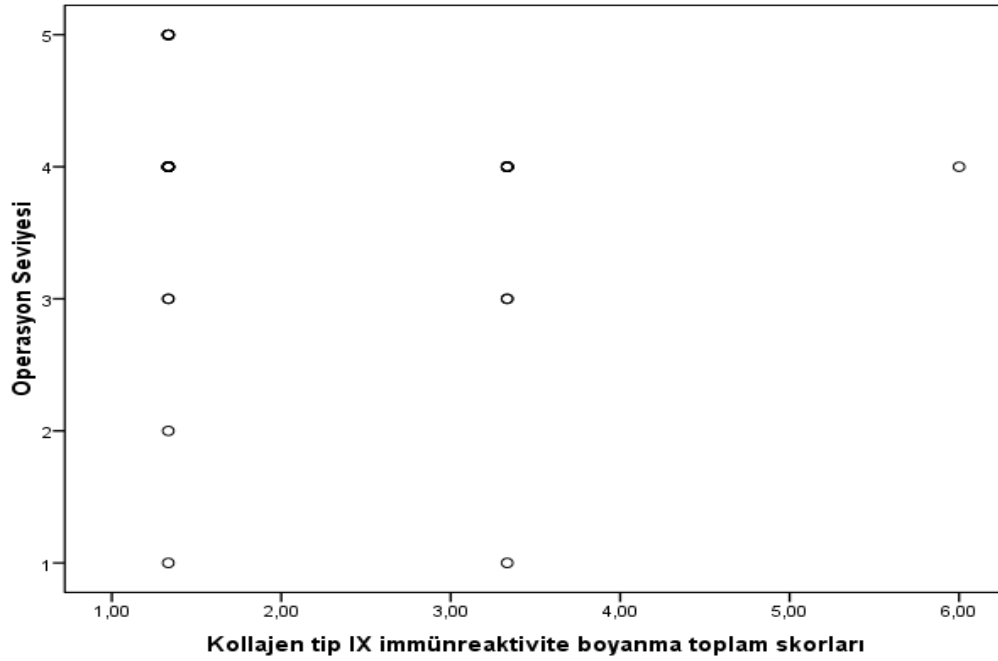
Şekil 12. Diabetik grubun yaşları ile kollajen Tip IX boyanma toplam skoru arasındaki korelasyon diyagramı

3.7. Tip IX kollajen boyanma toplam skoru ile operasyon seviyeleri arasındaki ilişki

Operasyon seviyesi ile kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorları arasındaki ilişkiyi belirlemek üzere yapılan korelasyon analizi sonucunda, puanlar arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki yoktu ($r=-0,136$; $p=0,472>0,05$) (Tablo 12, Şekil 13).

Tablo 12. Diabetik grubun operasyon seviyeleri ile kollajen Tip IX boyanma toplam skoru arasındaki korelasyon tablosu

Boyut	Boyut	N	r	p
Kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorları	Operasyon Seviyesi	30	-0,136	0,472



Şekil 13. Diabetik grubun operasyon seviyeleri ile kollajen Tip IX boyanma toplam skoru arasındaki korelasyon diyagramı

3.8.Tip IX kollajen boyanma toplam skoru ile diabetik hastaların parametreleri arasındaki regresyon testleri

DM olgularda kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorunun yaş, operasyon seviyesi, HbA1c ve DM süresinden etkilenme durumunu test etmek için yapılan regresyon modeli istatistiksel olarak anlamlıydı ($F=3,688$; $p=0,017<0,05$). DM süresi, kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorunu negatif yönde etkilemekteydi. DM süresi 1 birim arttığında kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skoru -0,016 birim azalmaktaydı ($\beta=-0,016$; $t=-2,610$; $p=0,015<0,05$). HbA1c düzeyi, DM süresi skorunun yanında kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorunu istatistiksel olarak etkilememekteydi ($t=0,931$; $p=0,361>0,05$). Yaş, DM süresi skorunun yanında kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorunu istatistiksel olarak etkilememekteydi ($t=-1,110$; $p=0,278>0,05$). Operasyon seviyesi, DM süresi skorunun yanında kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorunu istatistiksel olarak etkilememekteydi ($t=-0,819$; $p=0,420>0,05$). Kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorunun düşük çıkması, diabet süresinin uzamasından dolayı %27 oranında azalmaktaydı ($R^2=0,270$) (Tablo 13).

Tablo 13. Kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorlarını etkileyen parametrelerin regresyon analizi ile incelenmesi

Bağımlı Değişken	Bağımsız Değişken	β	T	p	F	Model (p)	R^2
Kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorları	Sabit	4,623	2,968	0,007			
	HbA1c	0,118	0,931	0,361			
	DM süresi	-0,016	-2,610	0,015	3,688	0,017	0,270
	Yaş	-0,024	-1,110	0,278			
	Operasyon Seviyesi	-0,169	-0,819	0,420			

4. TARTIŞMA

Bizler bu çalışmaya başlarken literatür incelemelerimiz neticesinde diabetik ve diabetik olmayan lomber diskektomi yapılan hasta grupları arasında kollajen Tip IX immünohistokimyasal boyanma paterninin karşılaştırılmasına yönelik bir çalışmanın olmadığını tespit ettik. Bu çalışmanın sonucunda diabetik diskektomi materyallerinde kollajen Tip IX toplam boyanma skorununun istatistiksel olarak %95 güven aralığında anlamlı olarak düşük çıktığını gördük. Bu durumu diabetin intervertebral disk dokusu üzerine olan kronik dönem etkileriyle açıklamak mümkündür (73,74). Genç erişkin ve ileri yaşlarda daha sık görülen ve önemli bir metabolik hastalık olan Tip 2 diabetin, intervertebral diskteki kollajen Tip IX immünohistokimyasal boyanma paterni ile ilişkisini araştırmaktır. Bu çalışma özellikle kollajen Tip IX'un COL9A1 genetik alt tipinin immünreaktivitesi üzerine yapılmış bir çalışmadır. 1990'lı yılların başlarına kadar lomber disk dejenerasyonun etiyoloji ve patogenezi fiziksel aktiviteyle bağlantılı olarak değerlendirilirken daha sonraki yıllarda genetik çalışmalara ağırlık verildi (160). İkizler üzerinde yapılan çalışmalar neticesinde disk dejenerasyonundaki genetik değişikliklerin %37–74 kadar büyük bir role sahip oldukları gösterildi (34,161). Kollajen Tip IX mutasyonlarının kırıldak fonksiyonlarını zayıflattığına yönelik hipotez ve çalışmalar fare intervertebral disklerinde kollajen Tip IX polimorfizm ve mutasyonlarının yüksek olduğunu gösterdi (15,162). İleri insan disk doku çalışmaları neticesinde ise üç adet kollajen Tip IX geninin varlığı tespit edildi. Ve bu genlerle ilgili genetik varyasyon ve mutasyonlar tanımlandı (13–15). Bu çalışmalar kollajen Tip IX genetik defektlerinin intervertebral disk dejenerasyonlarının erken döneminde önemli roller üstlendiğini göstermektedir (34,35).

İntervertebral disk dejenerasyonunun etiyopatogeneziyle ilgili çalışmalarda diabetik hastalarda diskektomi gereksiniminin %9,1–13 daha fazla olduğu görülür (73,163). Diabetik hastalarda ayrıca cerrahi yara yeri iyileşme problemleri ve tekrar disk görülme oranı %28 gibi daha yüksektir (73). Bizim çalışmamızdaki diabetik grupta tekrar disk hernisi görülme oranı %6,6 idi. Sadece iki diabetik hastamızda 5 ay gibi kısa süre içerisinde gelişen tekrar disk hernisi nedeniyle tekrar diskektomi ameliyatı yaptık. Diabetik olmayan grupta ise

tekrardan disk hernisi gelişmedi. İntervertebral diskin nükleus pulpozus ve annulus fibrozusunda bulunan Tip IX kollajen, Tip II ve Tip XI kollajenlerle çapraz bağlar kurarak disk dokusunun stabilitesinde çok önemli rol oynar (11,131–136,141). Annulus fibrozusta en çok Tip I %0–80, nükleus pulpozusta ise en çok Tip II %0–80 kollajen bulunur. Bu nedenlerle kollajen miktarlarındaki ve niteliklerindeki değişimler disk dokusunun mekanik özelliklerini olumsuz etkileyebilir (11,12).

İntervertebral diskteki kollajenleri tespit etmeye yönelik çalışmalarda immünohistokimyasal araştırmaların ön planda olduklarını görürüz (62–65,103, 123,164). Robert ve ark. (164), hücre, perisellüler matriks ve bu yapıları tamamen kuşatan perisellüler kapsül ile territöryel, interterritöryel mesafe gibi histomorfolojik oluşumlar tanımladılar. Bu çalışmada insan intervertebral diskinde kollajen Tip IX'un çok nadir boyanma sebebini makromoleküler sindirimde kullanılan hiyalüronidaz enziminin kollajen Tip IX epitoplarını maskeleyişine bağladılar. Nerlich ve ark. (123), 0–86 yaş aralığındaki 47 kadavra diskinin içeren çalışmalarında intervertebral disklerden transvers disseksiyonla elde ettikleri kesitlerde kollajen tiplerinin miktarlarına yönelik immünohistokimyasal boyama yaptılar. Kollajen Tip IX'un, fetal ve infantil disklerde kollajen Tip II ile birlikte nükleus pulpozus ve son plak matriksinde perisellüler mesafede kuvvetli boyandıklarını gösterdiler. Bizim çalışmamızda kollajen Tip IX'un, annulus fibrozusta ve nükleus pulpozusta perisellüler mesafede yoğun boyanmaları immünohistokimyasal çalışmalarla uyumludur. Bu durum çalışmada proteaz enzimi kullanmamızın etkisine bağlı olabilir. Fakat şunu belirtmekte fayda vardır. Bu çalışmalardan farklı olarak incelemeye aldığımız dokular Kerrison pançlarıyla aldığımız morfolojisi yıpranmış materyallerdir. O açıdan da bu çalışma diskin histolojik doku bütünlüğünden ziyade tamamen kollajen Tip IX immünoreaktivitesini araştırmaya yöneliktir.

Schleicher ve ark. (103), 1997'deki çalışmalarında 0–86 yaş aralığındaki rutin otopsi materyallerinde makroskopik, histolojik ve immünohistokimyasal kollajen dağılım paternini çalıştılar. Ayrıca yaş dağılımına göre artan CML düzeyiyle kollajen paternlerini karşılaştırdılar ve artan yaşla birlikte oluşan disk dejenerasyonunda CML düzeyindeki artışın etkili olduğunu gösterdiler. Bu

çalışmadaki sonuçlarla benzer olarak diabetik disklerdeki CML düzeyide yüksektir. CML diskin kollajen boyanma paternini değiştirmektedir (107,108) .

Diabetes Mellitus, önemli sistemik bir hastalıktır (79–83). Tip II Diabetin disk dejenerasyonundaki rolünü kollajen Tip IX immünohistokimyasal boyanma paternine olan etkileriyle inceledik. Gruplar arasındaki kollajen Tip IX immünoreaktivite boyanma toplam skorları arasındaki istatistiksel korelasyon anlamlı olarak düşüktü. Buradan yola çıkarak diabetik grubun tanımlayıcı özellikleri ile Tip IX kollajen immünoreaktivite boyanma toplam skorları arasındaki korelasyonları incelemek gerekir. Bu tanımlayıcı özellikler gruptaki hastaların HbA1c düzeyleri, DM (ay) süresi, yaş, operasyon seviyeleridir.

HbA1c düzeyleri ile diabetik hastaların immünoreaktivite toplam boyanma skoru arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı idi. HbA1c düzeyindeki yükseklik kontrol dışı diabet ve hipergliseminin göstergesidir. Bizim serimizdeki hastaların HbA1c düzeyleri yüksekti. Bu yüksek sonuç kollajen Tip IX boyanma paterninin diabetik grupta anlamlı olarak düşük çıkmasıyla ilişkiliydi. Bu ilişki parametreler arasında doğrusal negatif yönlü zayıf bir ilişkiydi. Bu sonuç kontrolsüz diabet nedeniyle vücuttaki yüksek düzey glikozilasyon miktarıyla orantılı olarak kollajen disfonksiyonu gelişmesi ve kronik bağ doku komplikasyonlarının artması arasındaki ilişkiyi zayıfta olsa açıklar (79–83). Benzer olarak disk hernilerinin gelişmesinde rol alan dejenerasyon sürecinde yüksek HbA1c düzeyiyle ilişkili kontrolsüz diabetin bir risk faktörü olduğunu söyleyebiliriz. Bu durum kısa zaman süresi içerisinde rekürrent disk hernilerinin gelişmesiyle ilişkili olabilir.

Tip II diabetes mellitus ay süresi ile kollajen Tip IX boyanma toplam skoru arasındaki istatistiksel korelasyon sonucu anlamlı idi. Bu durum orta düzeyde doğrusal negatif yönlü bir ilişkidir. Regresyon modeli istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu sonuç kollajen Tip IX immünoreaktivite boyanma toplam skorunun düşük çıkmasıyla ilişkili en önemli faktörün diabet süresi olduğu anlamında gelmektedir. Korelasyon katsayısının büyük ve istatistiksel olarak anlamlılığının fazla olması kronik dönem bağ doku komplikasyonlarıyla diabet süresi arasındaki ilişkinin kuvvetini göstermektedir. Yine bu durum rekürrent disk hernilerinin gelişmesiyle ilişkili olabilir.

Diabet süresiyle ilişkili önemli faktörlerden biriside, lomber bölge beslenmesini sağlayan aorta abdominalis ve lomber kapiller ağdaki aterosklerotik fibröz plakların intervertebral diskte, sinir kökünde ve vertebral cisimde iskemik bel ağrısına yol açmasıdır (165–167). Genç yaşlarda abdominal aterosklerotik plaklar %10 kadar görülürken, özellikle 44–64 yaşları arasında bu türden aterosklerotik patolojiler ve disk hernileri hızla artmaktadır (163,165). Bizim çalışmamıza dâhil ettiğimiz diabetik hastaların yaş ortalaması ise ($55,07 \pm 10,42$) idi ve diabetik vasküler komplikasyonların ve disk dejenerasyonunun hızla arttığı yaş grubuylada çok uyumludur.

Mikrovasküler komplikasyonlar ve kontrol dışı yeterli medikal tedavi yapılamayan Tip 2 diabetik diskte sınırlı glikoz kullanımı ve difüzyonla yetersiz beslenme sonucunda enerji açığı gelişir. Anaerobik enerji üretimi artar. Disk matriksinde atılamayan ve artan laktik aside bağlı asidik ortam dejenerasyonu hızlandırır (7,46,56,57). Disk dejenerasyonunda beslenme üzerine yapılan çalışmalar gösterdiği mikrovasküler komplikasyonlar; disk kırığının beslenmesini engelleyerek, moleküler yıkım ürünlerini artırır, metabolizma değişikliklerine bağlı hücre fenotip değişikliği, hücre ölümü, proteoglikan yıkımı gibi matriks değişikliklerine sebep olurlar (51,54,61,96,163,168). Disk beslenmesini bozan faktörler; skleroz, subkondral kemik ve son plak kalsifikasyonlarının da sebebidirler (168). Sağlıklı diskte iskemik patolojilerin histolojik bulguları çatlak ve yarıklar, granüler değişiklikler ve mukoid dejenerasyonlardır (62). Anaerobik enerji üretimi intervertebral diskte kollajen üreten kırık hücrelerinin normal metabolizma devamı için yeterli düzeyde değildir. Mitokondriyal disfonksiyon sonucu diskte artan metabolitler, doku proteinazlarını aktive ederler (51). Kontrol dışı ve uzayan diabet süresine bağlı olarak yüksek orandaki enzimatik olmayan glikozilasyon mezenkimal hücre proliferasyonunu inhibe eder ve apoptozisi uyarır (109). Dejeneratif hücre içi reaktif oksijen metabolitleri artmaktadır (110,111).

Son yıllarda diabetin komplikasyonlarıyla ilgili öne sürülen çok önemli bir mekanizmada, diabetik hastaların postprandiyal dönemdeki plazma peroxynitrit ve nitrotyrosin oranlarının yüksekliğiyle ilişkilidir. Bu durum direkt olarak hiperglisemiyle ilişkilidir (5,120,169). Peroxynitrit ve nitrotyrosin DNA tamir

sistemi mekanizmalarında tahribata neden olur. Poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1), DNA kırılmalarını başlatan enzimdir. Aktive PARP1 nükleer akseptör proteinlerde nikotinamid içerisindeki NAD⁺ ve ADP-ribozlarda polimerizasyona sebep olur. Sonuçta NAD⁺ kısıtlanması ile ATP sentezinde azalma, hücrelerde apoptozis, nekroz ve disfonksiyon gelişir. Diabetik vücutta aşırı miktarda bulunan peroxynitrit, PARP1 enziminin aşırı miktarda çalışmasına sebep olur (5). Bu mekanizma diabetik komplikasyonların hemen tamamına yakının patogenezinin sorumlu tutulan önemli bir mekanizma olarak kabul edilmektedir (5,169).

İntervertebral disk ekstrasellüler matriks kompozisyonunu değiştiren her türlü faktör disk dejenerasyonu ile ilişkilidir (105). Disk hücre aktivitelerini etkileyen faktörleri incelediğimizde; sitokinler, interlekinler, mekanik yükler ve diabet karşımıza çıkmaktadır (50–54). Ayrıca kırıldak yıkımında rol oynayan moleküler faktörler ise; proinflatuar sitokinler, agreganazlar, matriks metalloproteinazlar ve nitrik oksittir. Osteoartrit ve Romatoid artritteki kırıldak degradasyon mekanizmalarını harekete geçiren fibronectin gibi matriks degradasyon yıkım ürünleri kondrosit yüzey reseptörlerine bağlandıktan sonra MAPK (*Mitogen Activated Protein Kinaz*)'ı artırır ve kondrosit ve sinoviyal fibroblastlardan MMP, NO ve sitokin sentezini stimüle ederler (119–122,170). Proinflatuar sitokinlerden en iyi bilinenlerinden olan IL-1 β ve TNF- α kırıldak degradasyonunu matriks metalloproteinaz üretimini stimüle ederek artırır (171). Diabetik hastalarda plazma TNF- α düzeyleri yüksektir ayrıca dokularda insülin direnciyle de ilişkilidir (172). NO, değişik hücrelerden sentezlendiği gibi diabetik disk kondrositlerinde normalden daha fazla sentezlenir (173). Fibronectin, birçok dokuda ve normal kırıldakta, sinoviyal sıvıda bulunan 450 kDa adeziv dimerik glikoproteindir (174,175). Diabetik disk ekstrasellüler matrikslerinde fibronectin düzeyleride normalden yüksektir (117).

Diabetik hastaların yaşları ile kollajen Tip IX boyanma toplam skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu. Çalışmadaki operasyon seviyeleri ile kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorları arasında korelasyon istatistiksel olarak anlamlı değildi. Fakat alt lomber bölgede disk hernilerinin sık görülme nedeni bu bölgenin vücut ağırlığının en çok yük binen bölgesi olmasıdır. Bu durum birbirine yakın patolojik durumlar olan diabetik obez hastalarda,

kompresyon modelleri ve buna bağlı artan katabolik faktör üretimi arasında uyum olduğunu teyid edebilir (84–87,91).

Diabetik hastalarımızda alt lomber seviyede normalden daha fazla dejenerasyon olduğu görülecektir. Bu duruma birazda çalışmaya dâhil edilen ekstrüde disklerin seçilmesinden kaynaklandığını düşünüyoruz. Lomber disk dejenerasyonu ve diskektomi üzerine yapılan geniş serilerde L4-S1 arasındaki bulgingler %5–33, protrüde diskler %10–32, ekstrüde diskler %3–47, disk mesafesinde darlık %20–37, annüler yırtıklar %0–20 oranlarında görülürler (32,176–183). Bizim diabetik çalışma grubumuzun alt lomber ekstrüde disk operasyon seviyeleri, L4–5 %60, L5–S1 ise %16,6’dır. Diabetik olmayan grubun alt lomber ekstrüde disk operasyon seviyeleri ise L4–5 (%56,7), L5–S1 (%40) idi. Bu durum ekstrüde disk dejenerasyonu ve alt lomber seviye patogeneziyle uyumludur.

Sonuç olarak Tip II diabetin kimyasal, moleküler, dejeneratif ve katabolik faktörleri bir arada barındırdığı görülür. Diabetik olgulardaki kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorundaki düşük sonuç, yukarıda açıklamaya çalıştığımız moleküler mekanizmaların ortak bir sonucu olarak gelişmektedir. Kollajen Tip IX immünreaktivite boyanma toplam skorundaki düşük sonucun disk dejenerasyonunda ve lomber disk hernilerinin gelişmesinde önemli bir payının olduğunu düşünüyoruz ve sonuçlarımız disk dejenerasyonu fizyopatolojisiyle ilgili yapılacak çalışmalara önemli katkı sağlayacaktır.

5. KAYNAKLAR

- 1- Waddel G. Low back pain: a twentieth century health care enigma. *Spine* 1996; 21: 2820–2825.
- 2- Waddel G. Low back disability: a syndrome of Western civilization. *Neurosurg Clin N Am* 1991; 2: 719–738.
- 3- Walker MH, Anderson DG. Molecular basis of intervertebral disc degeneration. *The Spine Journal* 2004; 4: 128–166.
- 4- Pacher P, Szabo C. Role of poly (ADP-Ribose) Polymerase–1 activation in the pathogenesis of diabetic complications: Endotelial dysfunction, as a common underlying theme. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7: 1568- 1580.
- 5- Pacher P, Obrasava IG, Mabley JG, Szabo C. Role of nitrosative stress and peroxynitrite in the pathogenesis role of the diabetic complications. Emerging new therapeutical. *Curr Med Chem* 2005; 12: 267- 275.
- 6- Rudert M, Tillmann B. Detection of lymph and blood vessels in the human intervertebral disc byohistochemical and immunohistochemical methods. *Ann Anat* 1993; 175: 237- 242.
- 7- Holm S, Maroudas A, Urban JP, Selstam G, Nachemson A. Nutrition of the intervertebral disc: solute transport and metabolism. *Connect Tissue Res* 1991; 8: 101–119.
- 8- Ishii T, Tsuji H, Sano A, Katoh Y, Matsui H, Terahata N. Histochemical and ultrasutructural observations on Brown degeneration of human intervertebral disc. *J Othop Res* 1991; 9: 78- 90.
- 9- Yasuma T, Koh S, Okamura T, Yamauchi Y. Histological changes in aging lumbar intervertebral discs. Their role in protrusions and prolapses. *J Bone Joint Surg Am* 1990; 72: 220- 229.

- 10- Thompson JP, Pearce RH, Schechter MT, Adams ME, Tsang IK, Bishop PB. Preliminary evaluation of a scheme for grading the gross morphology of the human intervertebral disc. *Spine* 1990; 15: 411- 415.
- 11- Aydın S, Sivrioğlu K. Lomber disk hastalıklarında genetik. *Turkish Journal of Physical Medicine and Rehabilitation* 2003; 3: 49–56.
- 12- Ayad S, Sandell LJ. Collagens of the intervertebral disk: structure function, and changes during aging and disease. Weinstein JN, Gordon SL (editors). *Low Back Pain: a scientific and clinical overview*. Rosemont IL, American Academy of Orthopedic Surgeons 1996: 539- 556.
- 13- Annunen S, Paasilta P, Lohiniva J, Perala M, Pihlajamaa T, Karpinnen J, et al. An allele of COL9A2 associated with intervertebral disc disease. *Science* 1999; 16: 409- 412.
- 14- Paasilta P, Lohiniva J, Göring HH, Perälä M, Ränkä SS, Karpinnen J, et al: Identification of a novel common genetic risk factor for lumbar disk disease. *JAMA* 2001; 285: 1843- 1899.
- 15- Kern P, Moczar M, Robert L. Biosynthesis of skin collagens in normal and diabetic mice. *Biochem Med* 1979; 30: 189.
- 16- Ziyadeh FN, Sharma K, Ericksen M, Wolf G. Stimulation of collagen gene expression and protein synthesis in murine mesangial cells by high glucose is mediated by autocrine activation of transforming growth factor- β . *J Clin Invest* 1994; 93: 536–542.
- 17- Wiltse LL. The history of spinal disordersin: Frymoyer JW (editor). *The adult spine. Principles and practice*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997: 3- 40.
- 18- Shakespeare W. *Timon of Athens*, Act 4, Scene 1, Line 23.

- 19- Alberstone CD, Benzel EC. History, Benzel EC (editor). Spine Surgery: techniques, Complication Avoidance and Management. New York: Churchile Livingstone, 1999: 1- 21.
- 20- Sonntag VKH. History of spinal disorders. Mene-zes AH, Sonntag VKH (editors). Principles of spinal surgery. New York: McGraw-Hill, 1996: 3- 23.
- 21- Naderi S. Lomber intervertebral disk cerrahisinin kısa tarihi. Bölüm 1. RK Koç (editor). Lomber dejeneratif disk hastalığı. Türk Nöroşirurji Derneği spinal ve periferik sinir cerrahisi grubu yayımları No: 8 Ankara: Buluş Tasarım ve Matbaacılık, 2008: 12–16.
- 22- Woolf AD, Pfleger B. Burden of major musculoskeletal conditions. Bull World Health Organ 2003; 8: 646 -656.
- 23- Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. Gray's anatomy. Edinburgh, London, Melbourne and New York: Churchill Livingstone, 1989:120-126.
- 24- Resnic D, Niwayama G. Degenerative disease of the spine. Resnic D, Niwayama G (editors). Diagnosis of bone and Joind disorders Vol. 3, Philedelphia: WB Sounders Company, 1988: 1527–1538.
- 25- Aydınlioğlu A, Rağbetli MÇ. Discus intervertebralis: embriyoloji ve anatomi (I). Van Tıp Dergisi 1997; 4: 232–236.
- 26- Rabischong P, Louis R, Vegraud J, Massacre C. The intervertebral disc. Anat Clin 1978; 1: 55–64.
- 27- Fischgrund JS, Montgomery DM. Diagnosis and treatment of discogenic low back pain. Orthopaedic Review 1993; 22: 311- 318.
- 28- Frymoyer JW, Cats-Baril WL. An overview of the incidences and costs of low back pain. Orthop Clin North Am 1991; 22: 263- 271.

- 29- McMeeken J, Tully E, Stillman B, Nattrass C, Bygott IL, Story I. The experience of back pain in young Australians. *Man Ther* 2001; 6: 213- 220.
- 30- Booden SD, Davis DO, Dina TS, Patronas NJ, Wiesel SW. Abnormal magnetic-resonance scans of the lumbar spine in asymptomatic subjects. A prospective investigation. *J Bone Joint Surg Am* 1990; 72: 403–408.
- 31- Powel MC, Wilson M, Szypryt P, Symonds EM, Worthington BS. Prevalance of lumbar disc degeneration observed by magnetic resonance in symptomless women. *Lancet* 1986; 2: 1366–1367.
- 32- Weishaupt D, Zanetti M, Hodler J, Boos N. MR imaging of the lumbar spine: prevalence of intervertebral disk extrusion and sequestration, nerve root compression, and plate abnormalities, and osteoarthritis of the facet joints in asymptomatic volunteers. *Radiology* 1998; 209: 661–666.
- 33- Ala-kokko L. Genetic risk factors for lomber disc disease. *Ann Med* 2002; 34: 42–47.
- 34- Battie MC, Videman T, Gibbon LE, Fisher LD, Manninen H, Gill K. Determinants of lomber disc degeneration: a study relating lifetime exposures and magnetic resonance imaging findings in identical twins. *Spine* 1995; 20: 2601 -2612.
- 35- Battie MC, Videman T, Parent E. Lomber disc degeneration: epidemiology and genetic influences. *Spine* 2004; 29: 2679 – 2690.
- 36- Sarver JJ, Elliott DM. Altered disc mechanics in mice genetically engineered for reduced type I collagen. *Spine* 2004; 29: 1094–1098.
- 37- Schmorl G, Junghanns SA. The human spine in health and disease. New York: Grune and Stratton, 1971: 55-60.
- 38- Sukthankar A, Nerlich AG, Peasold G. Age-releated changes of the spine. *Spine* 2008; 8: 91–122.

- 39- Yu J, Winlove PC, Roberts S, Urban JP. Elastic fibre organisation in the intervertebral discs of the bovine tail. *J Anat* 2002; 201:465–475.
- 40- Sybert GW, Arpin-Sybert EJ. Evaluation and management of the failed back syndrome. Winn RH (editor). *Youmans Neurological Surgery*. Philadelphia: Saunders, 2004: 4327–4345.
- 41- Marchand F, Ahmed AM. Investigation of the laminate structure of lumbar disc annulus fibrosus. *Spine (Phila Pa 1976)* 1990; 15: 402–410.
- 42- Roberts JF. The arterial anatomy of the adult human lumbar vertebral body: a microarteriographic study. *J Anat* 1980; 131: 57–79.
- 43- Postacchini F, Bellocchi M, Massobrio M. Morphologic changes in annulus fibrosus during aging. An ultrastructural study in rats. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1984; 9: 596–603.
- 44- Çetinalp NE. Servikal dejeneratif disk hastalığında matriks metalloproteinazların ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak araştırması. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi bölümü, 2007.
- 45- Holm S, Maroudas A, Urban JP. Effects of low oxygen concentrations and metabolic inhibitors on proteoglycan and protein synthesis rates in the intervertebral disc. *J Orthop Res* 1999; 17: 829–835.
- 46- Papova-Latkina NA. Development of the intervertebral disks and chorda in the embryonal stage in man. *Anat Anz* 1867; 121: 518–536.
- 47- Bayliss MT, Jonstone B. The lumbar spine and back pain, chapter 7. *Biochemistry of the intervertebral disc*. Churchill Livingstone, 1992:111–127.
- 48- Bibby SR, Jones DA, Lee RB, Yu J, Urban JPG. The pathophysiology of the intervertebral disc. *Joint Bone Spine* 2001; 68: 537–542.

- 49- Horner HA, Roberts S, Bielby RC, Menage J, Evans H, Urban JPG. Cells from different regions of the intervertebral disc, effect of culture system on matrix expression and cell phenotype. *Spine (Phila Pa 1976)* 2002; 27: 1018–1028.
- 50- Thompson JP, Oegama TR, Bradford DS. Stimulation of mature canine intervertebral disc by growth factors. *Spine (Phila Pa 1976)* 1991; 16: 253–260.
- 51- Urban JP, Roberts S. Development and degeneration of the intervertebral discs. *Mol Med Today* 1995; 1: 329–335.
- 52- Risbud MV, Guttapalli A, Tsai TT, Lee YJ, Danielson KG, Vaccaro AR, et al. Evidence for skeletal progenitor cell in the degenerate human intervertebral disc. *Spine (Phila Pa 1976)* 2007; 32: 2537–2544.
- 53- Thomas NM, Rea GL, Weinstein PR. Anatomy and pathophysiology of acquired spinal lesions. Edward C. Benzel (editor). *Spine Surgery Techniques, Complication Avoidance, and Management*, Philadelphia: Elsevier, 2005: 88–99.
- 54- Urban JP, McMullin JF. Swelling pressure of the lumbar intervertebral discs: influence of age, spinal level, composition, and degeneration. *Spine (Phila Pa 1976)* 1988;13: 179–187.
- 55- Peasold G, Nerlich AG, Boos N. Biological treatment strategies for disc degeneration: potentials and shortcomings. *Eur Spine J* 2007; 16: 447–468.
- 56- Bhatia NN, Wang JC. Current information regarding the biochemical and genetic events that occur during disc degeneration. *Current Opinion in Orthopaedics* 2003, 1: 153–158.
- 57- Kroeber MW, Unglaub F, Wang H, Schmid C, Thomsen M, Nerlich A, Richter W. New in vivo animal model to intervertebral disc degeneration and to investigate the effects of therapeutic strategies to stimulate disc regeneration. *Spine (Phila Pa 1976)* 2002; 27: 2684–2690.

- 58- Natarajan RN, Williams JR, Anderson GB. Recent advances in analytical modeling of lumbar disc degeneration. *Spine (Phila Pa 1976)* 2004; 29: 2733–2741.
- 59- Hoogendoorn RJ, Helder MN, Kroeze RJ, Bank RA, Smit TH, Wuisman PI. Reproducible long term disc degeneration in a large animal model. *Spine (Phila Pa 1976)* 2008; 33: 949–954.
- 60- Battié MC, Videman T, Kaprio J, Gibbons LE, Gill K, Manninen H, et al. The twin spine study: contributions to a changing view of disc degeneration. *Spine J* 2009; 9: 47–59.
- 61- Battié MC, Videman T, Levälahti E, Gill K, Kaprio J. Genetic and environmental effects on disc degeneration by phenotype and spinal level. A multivariate twin study. *Spine (Phila Pa 1976)* 2008; 33: 2801- 2808.
- 62- Boos N, Weissbach S, Rohrbach H, Weiler C, Spratt KF, Nerlich AG. Classification of age-related changes in lumbar intervertebral discs: Volvo Award in basic science. *Spine (Phila Pa 1976)* 2002; 27: 2631–2644.
- 63- Nerlich AG, Schleicher ED, Boos N. Volvo Award Winner in basic science studies. Immunohistologic markers for age-related changes of human lumbar intervertebral discs. *Spine (Phila Pa 1976)* 1997; 22: 2781–2795.
- 64- Doita M, Kanatani T, Harada T, Mizuno K. Immunohistologic study of the ruptured intervertebral disc of the lumbar spine. *Spine (Phila Pa 1976)* 1996; 21: 235–241.
- 65- Nerlich AG, Boos N, Wiest I, Aebi M. Immunolocalization of major interstitial collagen types in human lumbar intervertebral discs of various ages. *Virchows Arch* 1998; 432: 67–76.
- 66- Li H, Wang Z. Intervertebral disc biomechanical analysis in using the finite element modeling based on medical images. *Computerized Medical Imaging and Graphics* 2006; 30: 363–370.

- 67- Niosi CA, Oxland TR. Biomechanics degenerative mechanics of the lumbar spine. *The Spine Journal* 2004; 4: 202–208.
- 68- Masuda K. Biological repair of the degenerated intervertebral disc by the injection of growth factors. *Eur Spine J* 2008; 17: 441–451.
- 69- Jünger S, Gantenbein-Ritter B, Lezuo P, Âlini M, Ferguson SJ, Ito K. Effect of limited nutrition on in situ intervertebral disc cells under stimulated-phsiological loading. *Spine (Phila Pa 1976)* 2009; 34: 1624- 1271.
- 70- Iatridis JC, MacLean JJ, O’Brien M, Stokes IA. Measurements of proteoglycan and water content distribution in human lumbar intervertebral discs. *Spine (Phila Pa 1976)* 2007; 32: 1493–1497.
- 71- Huang CY, Yuan TY, Jackson AR, Hazbun L, Fraker C, Gu WY. Effects of low glucose concentrations on oxygen consumption rates of intervertebral disc cells. *Spine (Phila Pa 1976)* 2007; 32: 2063- 2069.
- 72- Lipson SJ, Muir H. Vertebral osteophyte formation in experimental disc degeneration. Morphologic and proteoglycan changes over time. *Arthritis Rheum* 1980; 23: 319–324.
- 73- Mobbs RJ, Newcombe RL, Chandran KN. Lumbar discectomy and the diabetic patient: incidence and outcame. *Journal of Clinical Neuroscience* 2001; 8: 10–13.
- 74- Mantzoros CS. Obesity and diabetes. Karanastasis G, Mantzoros CS (editors). *The historical events marking the evolution of the understanding of the pathophysiology and treatment of two releated diseases*. New Jersey: Humana press, 2006: 3–14.
- 75- Geiss L. Centers for disease control and preventions division of diabetes translation. *Diabetes surveillance* 1997; 6: 12–16.
- 76- Satman İ, Yılmaz T, Şengül A. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey, *Diabetes Care* 2002; 25: 1551–1556.

- 77- American Diabetes Associations. Clinical practicer recommendation. Diabetes Care 2011; 34: 1–98.
- 78- Pinhas-hamiel O, Zeitler P. Acute and chronic complications of type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. The Lancet 2007; 369: 1823–1831.
- 79- Nathan DM. Mechanisms of diabetic complications: The glucose hypotehesis. The pathophysiology of diabetic complications: How much does the glucose hypotehesis explain? Annals of internal medicine 1996; 124: 286–289.
- 80- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). Lancet 1998; 352: 837–853.
- 81- DCCT Study Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 1993; 329: 977–986.
- 82- Jeffcoate SL. Diabetes control and complications; the role of glycated haemoglobin, 25 years on. Diabet Med 2004; 21: 657–665.
- 83- Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 1993; 329: 977–986.
- 84- Elliott RM, Morgan LM, Tredger JA, Deacon S, Wright J, Marks V. Glucagon-like peptide (7–36) amide and glucose-dependent insuli- notropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in man: acute postprandial and 24h secretion patterns. J Endocrinol 1993; 138: 159–166.

- 85- Wasada T, McCorkle K, Harris V, Kawai K, Howard B, Unger RH. Effect of gastric inhibitory polypeptide on plasma levels of chylomicron triglyceride in dogs. *J Clin Invest* 1981; 68: 1106–1107.
- 86- Starich GH, Bar RS, Mazzaferri EL. GIP increases insulin receptor affinity and cellular sensitivity in adipocytes. *Am J Physiol* 1985; 249: 603–607.
- 87- Dupre J, Greenidge N, McDonald TJ, Ross SA, Rubinstein D. Inhibition of actions of glucagons in adipocytes by gastric inhibitory polypeptide, *Metabolism* 1976; 25: 1197–1199.
- 88- Buckwalter JA, Einhorn TA, Simon SR. *Orthopedic Basic Science: Biology and Biomechanics of the Musculoskeletal System*, Rosemont, IL, American Academy of Orthopaedic Surgeons 2000: 19–76.
- 89- Handa T, Ishihara H, Ohshima H, Osada R, Tsuji S, Obata KI. Effects of hydrostatic pressure on matrix synthesis and matrix metalloproteinase production in the human lumbar intervertebral disc. *Spine* 1997; 22: 1085–1091.
- 90- Ishihara H, McNally DS, Urban JP, Hall AC. Effects of hydrostatic pressure on matrix synthesis in different regions of the intervertebral disk. *J Appl Physiol* 1996; 80: 839–846.
- 91- MacLean JJ, Lee CR, Alini M, Iatridis JC. Anabolic and catabolic mRNA levels of the intervertebral disc vary with the magnitude and frequency of in vivo dynamic compression. *J Orthop Res* 2004; 22: 1193–1200.
- 92- Neidlinger-Wilke C, Würtz K, Liedert A, Schmidt C, Börm W, Ignatius A, et al. A Three dimensional collagen matrix as a suitable culture system for the comparison of cyclic strain and hydrostatic pressure effects on intervertebral disc cells. *J Neurosurg Spine* 2005; 2: 457–465.
- 93- Prescher A. Anatomy and pathology of the aging spine. *European Journal of Radiology* 1998; 27: 181–195.

- 94- Rannou F, Corvol M, Revel M, Poiraudeau S. Disk degeneration and disk herniation: the contribution of mechanical stress. *Spine* 1991; 16: 1030–1038.
- 95- Roughley PJ. Biology of intervertebral disc aging and degeneration: Involvement of the extracellular matrix. *Spine* 2004; 29: 2691–2699.
- 96- Urban JPG, Roberts S. Degeneration of the intervertebral disc. *Arthritis Research & Therapy* 2003; 5: 120–130.
- 97- Wachtel E, Maroudas A, Schneiderman R. Age-related changes in collagen packing of human articular cartilage. *Biochimica et Biophysica Acta* 1995; 1243: 239–243.
- 98- Walker MH, Anderson DG. Molecular basis of intervertebral disc degeneration. *The Spine J* 2004; 4: 158–166.
- 99- Siebenlist U, Franzoso G, Brown K. Structure, regulation and function of NF- κ B. *Annu Rev Cell Biol* 1994; 10: 405–455.
- 100- Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycemic damage. *Nature* 2000; 404: 787–790.
- 101- Yan SD, Schmidt AM, Anderson GM, Zhan J, Brett J, Zou YS, et al: Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem* 1994; 269: 9889–9897.
- 102- Mohammad G, Kowluru RA. Matrix metalloproteinase-2 in the development of diabetic retinopathy and mitochondrial dysfunction. *Laboratory Invest* 2010; 90: 1365–1372.
- 103- Schleicher ED, Wagner E, Nerlich AG. Increased accumulation of the glycoxidation product N-(Carboxymethyl)lysine in human tissues in diabetes and aging. *J Clin Invest* 1997; 99: 457–468.

- 104- Rajpurohit R, Risbud MV, Ducheyne P, Vresilovic EJ, Shapiro IM. Penotypic characteristics of the nucleus pulposus: expression of hypoxia inducing factor-1, glucose transporter-1 and MMP-2. *Cell Tissue Res* 2002; 308: 401–407.
- 105- Wilkins RJ, Windhaber RAJ, Browning JA. Characterisation of glucose uptake by isolated bovine articular chondrocytes. *J Physiology London* 2002; 539: 8–9.
- 106- Bibby SRS, Jones DA, Ripley RM, Urban JPG. Metabolism of the intervertebral disc: Effects of low levels of oxygen, glucose, and pH on rates of energy metabolism of bovine nucleus pulposus cells. *Spine (Phila PA 1976)* 2005; 30: 487–496.
- 107- Thorpe SR, Baynes JW. Role of the Maillard reaction in diabetes mellitus and diseases of aging. *Drugs Aging* 1986; 9: 69–77.
- 108- Vlassara H. Recent progress in advanced glycation and products and diabetic complications. *Diabetes* 1997; 46: 19–25.
- 109- Kume S, Kato S, Yamagishi S, Inagaki Y, Ueda S, Arima N, et al. Advanced glycation end-products attenuate human mesenchymal stem cells and prevent cognate differentiation in to adipose tissue, cartilage, and bone. *Journal of Bone and Mineral Research* 2005; 20: 1647–1658.
- 110- Yamagishi S, Fujimori H, Yonekura H, Yamamoto Y, Yamamoto H. Advanced glycation endproducts inhibit prostocyclin production and induce plasminogen activator inhibitor-1 in human microvascular endothelial cells. *Diabetologia* 1998; 41: 1435–1441.
- 111- Yamagushi S, Fujimori H, Yonekura H, Tanaka N, Yamamoto H. Advanced glycation endproducts accelerate calcification in microvascular pericytes. *Biochem Biopys Res Commun* 1999; 258: 353–357.
- 112- DeGroot J, Verzijl N, Jacobs KM, Budde M, Bank RA, Bijlsma JW, et al. Accumulation of advanced glycation andproducts reduces chondrocyte-

- mediated extracellular matrix turnover in human articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2001; 9: 720–726.
- 113- Takeuchi M, Yamagishi S. TAGE (toxic AGEs) hypothesis in various chronic diseases. *Med Hypotheses* 2004; 63: 449–452.
 - 114- Katayama Y, Akatsu T, Yamamoto M, Kugai N, Nagata N. Role of nonenzymatic glycosylation of type I collagen in diabetic osteopenia. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 931–937.
 - 115- Fukami K, Ueda S, Yamagishi S, Kato S, Inagaki Y, Takeuchi M, et al. AGEs activate mesangial TGF- β -Smad signaling via an angiotensin II-type I receptor interaction. *Kidney Int* 2004; 66: 2137–2147.
 - 116- Woutier MP, Chappey O, Corda S, Stem DM, Schimdt AM, Woutier JL. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280: 685–694.
 - 117- Alsalameh S, Amin R, Gemba T, Lotz M. Identification of mesenchymal progenitor cells in normal and osteoarthritic human articular cartilage. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1522–1532.
 - 118- Ziyadeh FN. Renal tubular basement membrane and collagen type IV in diabetes mellitus. *Kidney Int* 1993; 43: 114–120.
 - 119- Liu GZ, Ishihara H, Osada R, Kimura T, Tsuji H. Nitric oxide mediates the change of proteoglycan synthesis in the human lumbar intervertebral disc in response to hydrostatic pressure. *Spine (Phila Pa 1976)* 2001; 26: 134–141.
 - 120- Rosen P, Nawrot PP, King G, Möller W, Tritschler HJ, Packer L. The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Coness Series sponsored by UNESCO-MCBN. The American Diabetes Association and German Diabetes Society *Diabetes Metab Res Rev* 2001; 17: 189–212.

- 121- Kurowska EM. Nitric oxide therapies in vascular diseases. *Curr Pharm Des* 2002; 8: 155–166.
- 122- Matsui Y, Maeda M, Nakagami W, Iwata H. The involvement of matrix metalloproteinases and inflammation in lumbar disc herniation. *Spine (Phila Pa 1976)* 1998; 23: 863–869.
- 123- Nerlich AG, Boos N, Wiest I, Aebi M. Immunolocalization of major interstitial collagen types in human lumbar intervertebral discs of various ages. *Virchows Arch* 1998; 432: 67–76.
- 124- Myallyharju J, Kivirikko KI. Collagens, modifying enzymes and their mutations in human, flies and worms. *Trends Genet* 2004; 20: 33–43.
- 125- Kadler K. Ekstracellular matrix. 1: fibril- forming collagens. *Protein Profile* 1. 1994; 519–638.
- 126- Brickmann J. Collagen at a glance. *Top Curr Chem* 2005; 247: 1–6.
- 127- Veit G, Kobbe B, Kene DR, Paulsson M, Koch M, Wagener R. Collagen XXVIII, a novel von Willebrand factor A domain- containing protein with many imperfections in the collagenous domain. *J Biol Chem* 281: 3494–3504.
- 128- Shoulders MD, Raines RT. Collagen structure and stabilty. *Annu Rev Biochem* 2009; 78: 929–958.
- 129- Shaw LM, Olsen BR. FACIT collagens: diverse molecular bridges in extracellular matrices. *Trends Biochem Sci* 1991; 9: 191–194.
- 130- Eyre DR, Shao P, Weis MA, Steinmann B. The kyphoscoliotic type of Ehlers-Danlos syndrome (type VI); differential effects on hydroxylation of lysines in collagens I and II revealed by analysis of cross-linked telopeptides from urine. *Mol Genet and Metab* 2002; 76: 211–216.

- 131- Adams P, Eyre DR, Muir H. Biochemical aspects of development and ageing of human lumbar intervertebral discs. *Rheumatol Rehabil* 1997; 16: 22–29.
- 132- Antoniou J, Steffen T, Nelson F, Winterbottom N, Hollander AP, Poole RA, et al. 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* 1996; 98: 996– 1003.
- 133- Duance VC, Crean JK, Sims TJ, Avery N, Smith S, Menage J, et al. Changes in collagen cross-linking in degenerative disc disease and scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976)* 1998; 23: 2545–2551.
- 134- Eyre DR, Muir H. Quantitative analysis of types I and II collagens in human intervertebral discs at various ages. *Biochim Biophys Acta* 1997; 402: 29–42.
- 135- Ghosh P, Taylor TK, Braund KG, Larsen LH. The collagenous and non-collagenous protein of the canine intervertebral disc and their variation with age, spinal level and breed. *Gerontology* 1976; 22: 124–134.
- 136- Gruber HE, Hanley EN. Analysis of aging and degeneration of the human intervertebral disc. Comparison of surgical specimens with normal controls. *Spine (Phila Pa 1976)* 1998; 23: 751–757.
- 137- Pocharna HK, Phillips FM. Collagen crosslinks in human lumbar intervertebral disc aging. *Spine* 1998; 23: 1645–1648.
- 138- Everts V, van der Zee E, Creemers L, Beertsen W. Phagocytosis and intracellular digestion of collagen, its role in turnover and remodelling. *Histochem J* 1996; 28: 229–245.
- 139- Sabeh F, Ota I, Holmbeck K, Birkedal-Hansen H, Soloway P, Balbin M, et al. Tumor cell traffic through the extracellular matrix is controlled by the membrane-anchored collagenase MT1-MMP. *J Cell Biol* 2004; 167: 769–781.

- 140- Yoon ST, Patel NM. Molecular therapy of the intervertebral disc. *Eur Spine J* 2006; 15: 379–388.
- 141- Young RD, Lawrence PA, Duance VC, Aigner T, Monaghan P. Immunolocalization of collagen types II and III in single fibrils of human articular cartilage. *J Histochem Cytochem* 2000; 48: 423–432.
- 142- Wu JJ, Murray J, Eyre DR. Evidence for copolymeric crosslinking between types II and III collagens in human articular cartilage. *Trans Orthop Res Soc* 1996; 21: 42
- 143- Eyre DR, Weis MA, Wu JJ. Advances in collagen cross-link analysis. *Methods* 2008; 45: 65–74.
- 144- Miles CA, Knott L, Summer IG, Bailey AJ. Differences between the thermal stabilities of the three triple helical domains of type IX collagen. *J Mol Biol* 1998; 27: 135–144.
- 145- Mixter W, Barr J. Rupture of the intervertebral disc with involvement of the spinal canal. *N Engl J Med* 1934; 211: 210–215.
- 146- Caspar W. A new surgical procedure for lumbar disc herniation causing less tissue damage through a microsurgical approach. *Adv Neurosurg* 1977; 4: 74–80.
- 147- Yasargil MG. Microsurgical operation of herniated lumbar disc. *Adv Neurosurg* 1977; 4: 81.
- 148- Williams RW. Microlumbar discectomy: a conservative surgical approach to the virgin herniated lumbar disc. *Spine* 1978; 3: 175–182.
- 149- Taylor CR, Cote RJ. Immunomicroscopy: a diagnostic tool for the surgical pathologist, Philadelphia: WB Saunders, 1994: 11–18.
- 150- Shi SR, Key ME, Kalra KL. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical

- staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J Histochem Cytochem* 1991; 39: 741–748.
- 151- Shi SR, Cote C, Kalra KL, Taylor CR, Tandon AK. A technique for retrieving antigens in formalin-fixed, routinely acid-decalcified, celloidin-embedded human temporal bone sections for immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* 1992; 40: 787–792.
 - 152- Leong AS-Y, Milios J. An assessment of the efficacy of the microwave antigen-retrieval procedure on a range of tissue antigens. *Appl Immunohistochem* 1993; 1: 267–274.
 - 153- Taylor CR, Shi SR, Chaiwun B, Young L, Imam SA, Cote RJ. Strategies for improving the immunohistochemical staining of various intranuclear prognostic markers in formalin-paraffin sections: androgen receptor, estrogen receptor, progesterone receptor, p53 protein, proliferating cell nuclear antigen, and Ki-67 antigen revealed by antigen retrieval technique. *Hum Pathol* 1994; 25: 263–270.
 - 154- Boon ME, Kok LP. Breakthrough in pathology due to antigen retrieval. *Mal J Med Lab Sci* 1995; 12: 1–9.
 - 155- Cattoretti G, Suurmeijer AJH. Antigen unmasking on formalin-fixed paraffin-embedded tissues using microwaves: a review. *Adv Anat Pathol* 1995; 2: 2–9.
 - 156- Taylor CR, Shi SR, Cote RJ. Antigen retrieval for immunohistochemistry. Status and need for greater standardization. *Appl Immunohistochem* 1996; 4: 144–166.
 - 157- Shi SR, Cote RJ, Taylor CR. Antigen retrieval immunohistochemistry: past, present, and future. *J Histochem Cytochem* 1997; 45: 327–343.
 - 158- Videman T, Saarela J, Kaprio J, Näkki A, Levälahti E, Gill K, et al. Associations of 25 Structural, Degradative, and Inflammatory Candidate

- Genes With Lumbar Disc Desiccation, Bulging, and Height Narrowing. *Arthritis& Rheumatism* 2009; 60: 470–481.
- 159- Çoban İ, Baştürk O, Levi E, Alper M, Adsay NV. Pankreasın duktal adenokarsinomlarında PAK–1 ekspresyonu: bir doku mikroyarray çalışması. *Türk Patoloji Dergisi* 2010; 26: 7–13.
- 160- Frymoyer JW. Lumbar disk disease: epidemiology. *Instr Course Lect* 1992; 41: 217–223.
- 161- Spector TD, MacGregor AJ. Review. Risk factors for osteoarthritis: genetics. *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12: 39–44.
- 162- Allen KD, Griffini TM, Rodriguez RM, WetseL WC, Kraus VB, Huebner JL, et al. Decreased physical function and increased pain sensitivity in mice deficient for type IX collagen. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 2684–2693.
- 163- Sakellaridis N. The influence of diabetes mellitus on lumbar intervertebral disk herniation. *Surgical Neurology* 2006; 66: 152–154.
- 164- Roberts S, Menage J, Duance J, Wotton V, Ayad S. Collagen types around the cells of the intervertebral disc and cartilage endplate: an immunolocalization study. *Spine* 1991; 16: 1030–1038.
- 165- Vihert AM. Atherosclerosis of the aorta in five towns. *Bull World Health Organ* 1976; 53: 501–508.
- 166- Zhdanov VS, Sternby NH, Vikhert AM, Galakhov IE. Development of atherosclerosis over a 25 year period: an epidemiological autopsy study in males of 11 towns. *Int. J Cardiol* 1999; 68: 95–106.
- 167- Kauppila LI. Atherosclerosis and disc degeneration / low back pain-A systemic Review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2009; 37: 661–670.
- 168- Urban JP, Smith S, Fairbank JC. Nutrition of the intervertebral disc. *Spine (Phila Pa 1976)* 2004; 23: 2700–2709.

- 169- Ceriello A, Quagliaro L, Catone B, Pascon R, Piazzola M, Bais B, et al. Role of hyperglycemia in nitrotyrosine postprandial generation. *Diabetes Care* 2002; 25: 1439–1443.
- 170- Yasuda T. Cartilage destruction by matrix degradation products. *Mod Rheumatol* 2006; 16: 197–205.
- 171- Arend WP, Dayer JM. Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 151–160.
- 172- Ploomgaard P, Nielsen AR, Fischer CP, Mortensen OH, Broholm C, Penkowa M, et al. Associations between insulin resistance and TNF- α in plasma, skeletal muscle and adipose tissue in humans with and without type 2 diabetes. *Diabetologia* 2007; 50: 2562–2571.
- 173- Stadler J, Stefanovic-Racic M, Billiar TR, Curran RD, McIntyre LA, Georgescu HI, et al. Articular chondrocytes synthesize nitric oxide in response to cytokines and lipopolysaccharide. *J Immunol* 1991; 147: 3915–3920.
- 174- Burton-Wurster N, Butler M, Harter S, Colombo C, Quintavalla J, Swartzendurber D, et al. Presence of fibronectin in articular cartilage in two animal models of osteoarthritis. *J Rheumatol* 1986; 13: 175–182.
- 175- Lavietes BB, Carsons S, Diamond HS, Laskin RS. Synthesis, secretion, and deposition of fibronectin in cultured human synovium. *Arthritis Rheum* 1985; 28: 1016–1026.
- 176- Boden SD, Davis DO, Dina TS, Patronas NJ, Wiesel SW. Abnormal magnetic-resonance scans of the lumbar spine in asymptomatic subjects: a prospective investigation. *J Bone Joint Surg Am* 1990; 72: 403–408.
- 177- Boos N, Semmer N, Elfering A, Schade V, Gal I, Zanetti M, et al. Natural history of individuals with asymptomatic disc abnormalities in magnetic

- resonance imaging: predictors of low back pain-related medical consultation and work incapacity. *Spine* 2000; 25: 1484–1492.
- 178- Burns JW, Loecker TH, Fischer JR, Bauer DH. Prevalence and significance of spinal disc abnormalities in an asymptomatic acceleration subject panel. *Aviat Space Environ Med* 1996; 67: 849–853.
 - 179- Hamanishi C, Kawabata T, Yosii T, Tanaka S. Schmorl's nodes on magnetic resonance imaging: their incidence and clinical relevance. *Spine* 1994; 19: 450–453.
 - 180- Jensen MC, Brant-Zawadzki MN, Obuchowski N, Modic MT, Malkasian D, Ross JS. Magnetic resonance imaging of the lumbar spine in people without back pain. *N Engl J Med* 1994; 331: 69–73.
 - 181- Evans W, Jobe W, Seibert C. A cross-sectional prevalence study of lumbar disc degeneration in a working population. *Spine* 1989; 14: 60–64.
 - 182- Jarvik JJ, Hollingworth W, Heagerty P, Haynor DR, Deyo RA. The Longitudinal Assessment of Imaging and Disability of the Back (LAID Back) Study: baseline data. *Spine* 2001; 26: 1158–1166.
 - 183- Schellhas KP, Pollei SR, Gundry CR, Heithoff KB. Lumbar disc high-intensity zone: correlation of magnetic resonance imaging and discography. *Spine* 1996; 21: 79–86.

6. ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Elbistan’da doğdum. İlk ve orta tahsilimi Kahramanmaraş’ta tamamladım. 1993 yılında Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi’ni kazandım. 2002 yılında tıp doktoru olarak mezun oldum. Bingöl’de; Yamaç ve Uydukent Sağlık Ocak’larında pratisyen doktor olarak 2 yıl görev yaptım. 2003–2004’te Gülhane Askeri Tıp Akademisi’nde askerlik görevimi tamamladım. 2006 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı’nda ihtisasa başladım ve halen bu göreve devam etmekteyim. Evliyim ve bir çocuk babasıyım.