

## DEJENERATİF DİSK HASTALIĞI VE GENETİK

### DEGENERATIVE DISC DISEASE AND GENETICS

Betül ESER\*, M.Akif SÖNMEZ\*\*, Olcay ESER\*\*\*

#### ÖZET:

Dejeneratif disk hastalığı (DDH) en sık rastlanan omurga hastalıklarından biridir. Etyolojisi tam olarak bilinmemesine rağmen son yıllarda yapılan çalışmalar bu hastalığın genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle oluşan kompleks ve multifaktöriyel bir hastalık olduğunu ortaya koymuştur. Genetik faktörler ile ilgili yapılan pek çok çalışmada DDH ile ilişkili çeşitli genlerdeki değişiklikler saptanmıştır. İntervertebral diskin yapısal komponentleri ve kemik-kıkırdak yapısı ile ilgili genomik araştırmalar, disk dejenerasyonunun genetiği ile ilgili çalışmaların temelini oluşturmaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** Dejeneratif disk hastalığı, etyoloji, genetik

**Kanıt Düzeyi:** Derleme, Düzey V

#### SUMMARY:

Degenerative disc disease (DDD) is one of the most common diseases of the spine. The etiology of this disease is clearly not known, but recent studies revealed that this disease is a complex and multifactorial disease which occurs by the interaction of genetic and environmental factors. Changes in various genes associated with DDD were determined by many studies on genetic factors. The genomic researches about structural components of intervertebral disc and structure of bone-cartilage forms the basis of studies on the genetics of disc degeneration.

**Key words:** Degenerative disc disease, etiology, genetics

**Level of evidence:** Review article, Level V

(\*) Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, Balıkesir.

(\*\*) Beyin ve Sinir Cerrahisi Uzmanı, Midyat Devlet Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi, Mardin.

(\*\*\*) Beyin ve Sinir Cerrahisi Uzmanı, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroşirürji AD, Afyonkarahisar

## GİRİŞ:

Dejeneratif disk hastalığı (DDH) en sık rastlanan omurga hastalıklarından biri olup genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle oluşan kompleks ve multifaktöriyel bir hastalıktır<sup>(9,73)</sup>. Etyolojisinde yaş, sigara, mesleki etmenler, vibrasyon travması, obeziteye neden olan çevresel faktörler yanında çeşitli genler ve bu genlerdeki değişiklikleri içeren genetik faktörler de suçlanmaktadır. Genetik faktörler ile ilgili yapılan pek çok çalışmada DDH ile ilişkili çeşitli genlerdeki değişiklikler saptanmıştır<sup>(1)</sup>.

Özellikle diskin yapısal komponentlerini kodlayan genlerle ilgili çalışmalar disk dejenerasyonu genetiğinin temelini oluşturmaktadır<sup>(32,89)</sup>.

## İNTERVERTEBRAL DİSKİN YAPISI:

Spinal kolon; 7 servikal, 12 dorsal, 5 lomber, 5 bileşik sakral ve 4 bileşik koksiks olmak üzere 33 vertebradan oluşmuştur. İnsan vücudunun normal postürünü sağlamak, organlara destek oluşturmak ve medulla spinalisi korumak gibi görevleri vardır. Bir vertebra, önde vertebra cismi ve arkada vertebra kavsinden oluşur. İki komşu vertebra ve aralarındaki intervertebral disk, fonksiyonel birimi oluşturur. İntervertebral diskler, ikinci servikalden birinci sakrala kadar tüm vertebra korpusları arasında bulunan yarı oynar eklem yapısıdır. İnsanda 23 adet intervertebral disk bulunur ve vertebral kolon uzunluğunun % 25'ini oluşturur.

Bir intervertebral disk üç bölümden oluşur:

### 1.Nukleus Pulpozus:

İntervertebral diskin merkezinde yer alan fibrojelinöz yapıdaki bölümdür. Dikey etkileyen

kuvvetleri, yatay kuvvetlere dönüştürerek, anulus fibrozusun her tarafına eşit olarak yayar. Nukleus pulpozusun suya karşı büyük afinitesi vardır. Kitlesinin % 80-90'ını su oluşturur. Kuru ağırlığının ise yaklaşık olarak % 15'i proteoglikanlar, % 20'si kollajenler ve kalanı da elastin ve diğer minör komponentlerden oluşmuştur<sup>(20)</sup>. Proteoglikanlar hidrasyonu, kollojen ise esnekliği sağlar.

### 2.Anulus Fibrozus:

Diskin periferinde yer alan ince kollajenöz bölgedir. Diskin şeklinin ve bütünlüğünün korunmasını sağlar. Su içeriği nukleustan daha düşük olup % 60-70 kadardır. Kuru ağırlığının yaklaşık olarak % 60'ı kollajen, % 20'si proteoglikandır<sup>(20)</sup>.

### 3.Kıkırdak uç tablası:

Hyalin kıkırdak yapıda olup, anulus fibrozusun alt ve üst yüzeylerini kaplayarak, vertebral cisme tutunmasını sağlar. Ayrıca vertebraya binen aksiyel yüklerin dağılmasına yardımcı olur.

## İNTERVERTEBRAL DİSK KOLLAJENLERİ:

Normal erişkinlerde intervertebral disk kollajenlerinin tipleri ve yoğunlukları bölgesel farklılıklar gösterir<sup>(22)</sup>. 32 Nukleustaki hücreler başlıca Tip II kollajen, daha az oranda Tip VI 33 (%15-20), Tip IX (%1-2) ve Tip XI (%3) kollajen sentez eder. Anulus fibrozusta ise başlıca Tip I ve Tip II kollajen, daha az oranda da Tip III ve V (%3), Tip VI (%10) ve Tip IX (%1-2) kollajen bulunur<sup>(20,52)</sup>.

### İntervertebral Disk Proteoglikanları:

Proteoglikanlar, bir protein çekirdek ve ona bağlanan glikozaminoglikan (GAG) zincirlerinden oluşur. GAG yapısında yer alan

negatif yüklü karboksil ve sülfat grupları pozitif yüklü iyonları çekerek ozmotik basınç oluşturur, dokuya su girmesini ve hacminin artmasını sağlar<sup>(11)</sup>.

Nukleus ve uç tabla içerisindeki ana proteoglikan (% 50) agrekan'dır<sup>(2)</sup>. Agrekan'da iki adet glikozaminoglikan zinciri bulunmaktadır. Bunlar; kondroidin sülfat (CS) ve keratan sülfat (KS)'dir. KS/CS oranı nukleusta yüksekken, anulusta bunun tam tersidir. Normal ve dejenere insan intervertebral disk dokularının proteoglikan içeriklerinin incelendiği bir çalışmada, daha kısa ve daha az su tutan dekorin ve biglikan miktarlarının dejenere disk dokusunda arttığı, daha uzun olan kondrotin sülfat zincirlerinin ise azaldığı ya da tamamen yok olduğu saptanmıştır<sup>(28)</sup>.

Melrose ve arkadaşları, oluşturdukları deneysel disk dejenerasyonu modeli ile sağlam disklerden aldıkları hücreleri karşılaştırdıklarında agrekan sentezinin anlamlı derecede azaldığını saptamışlardır<sup>(46)</sup>. Bu da intervertebral diskin hidrodinamik ve viskoelastik özelliklerinin agrekana bağımlı olduğunu göstermektedir.

### DEJENERATİF DİSK HASTALIĞI:

Hücre dışı matriksin bütünlüğü ve dayanıklılığı; matriks komponentlerinin sentezi, gerektiğinde proteinazlar tarafından parçalanarak ortadan kaldırılmaları ve dokudan uzaklaştırılmaları arasındaki dengeye bağlıdır<sup>(85)</sup>. Yapım ve yıkım aktiviteleri arasındaki denge bozulduğunda matriksin biyomekanik özellikleri değişir ve diskin yüklere karşı direnci bozularak disk dejenerasyonu ortaya çıkar.

### Etyolojisi ve Patogenezi:

DDH etyolojisinde yaş başta olmak üzere sigara, mesleki etmenler, vibrasyon travması, obezite, lomber spinal morfoloji ve genetik

yapıdaki değişiklikler gibi pek çok çevresel ve genetik faktörler üzerinde durulmuştur<sup>(1,61,73)</sup>. Bu faktörlerin etkisi ile başlayan dejenerasyon ve erken yaşlanma süreci, mekanik yetersizliğe yol açarak DDH'ya neden olmaktadır.

Disk dokusunu oluşturan matriks elemanlarının ve suyun oranlarındaki değişiklik, diskin mikrosirkülasyonunun bozulması ve tekrarlayıcı mikrotravmalar dejenerasyondan sorumludur. Dejenerasyona bağlı ilk morfolojik değişiklikler diskin merkezindeki yarıklar ile başlar. Bu arada biyokimyasal olarak da proteoglikan miktarı (özellikle agrekan) azalmakta, KS/CS oranı artmaktadır. Tip II kollajen denatüre olurken özellikle Tip I kollajen miktarında artma olmaktadır. Ancak yeni oluşan kollajen fibrilleri arasındaki bağlantılar eskisi gibi sağlam olmamaktadır<sup>(3)</sup>.

DDH'nın patogenezi sürecinde etkili olan faktörler şunlardır:

#### 1.Biyomekanik Etkenler:

Diskin proteoglikan, kollajen ve su içeriği arasındaki denge, yük taşıma için gerekli olan matriks yoğunluğunu ve omurga fleksibilitesini sağlar. Dejenerasyon sürecinde diskin kollajen içeriğinde artma, proteoglikan, su ve kollajen dışı protein içeriğindeki azalma, günlük yaşamda karşılaşılan kompresif yüklerin taşınmasını zorlaştırır ve disk içi basınç artarak nukleus pulpozus herniye olur.

#### 2.Biyokimyasal Etkenler:

Disk hücreleri matriks makromoleküllerinin ve matriks metalloproteinazlarının (MMP) sentezini yaparak ekstraselüler matriksin yapım ve yıkımını dengede tutar. Matriks turnoverinin bozulması matrikste yoğunluk kaybına neden olur ve mekanik streslerin etkisiyle disk dejenerasyonu gelişir<sup>(65,77,93)</sup>.

### **3.Disk Dokusunun Beslenmesi ile İlgili Etkenler:**

Glukoz ve oksijen molekülleri difüzyon yoluyla diske ulaşır. Asidik pH ve düşük oksijen-glukoz konsantrasyonu, disk hücrelerinin matriks moleküllerini sentezleme yeteneğini azaltır ve disk dejenerasyonuna neden olur<sup>(4,27,29)</sup>.

### **4.Genetik Etkenler:**

DDH, etyolojisinde hem genetik hem de çevresel faktörlerin yer aldığı multifaktöriyel bir hastalıktır<sup>(9,73)</sup>. Pek çok çalışmada DDH ile ilişkili gen yapı değişiklikleri saptanmıştır<sup>(1)</sup> ve bu değişikliklerin DDH gelişimini 6 kez arttırdığı belirtilmektedir<sup>(10)</sup>.

Disk dejenerasyonu ve herniasyonu açısından ailesel yatkınlığı gösteren pek çok çalışma yapılmıştır<sup>(26,45,87)</sup>. Özellikle monozigotik ikizlerde yapılan çalışmalarda genetik yatkınlık açısından benzer sonuçlara ulaşılmıştır<sup>(5,67,89)</sup>.

Transgenik fareler üzerinde yapılan çalışmalarda yapısal matriks molekülleri (agrekkan, kollajen) ile ilgili genetik değişikliklerin disk herniasyonu ve disk dejenerasyonuna neden olabileceği bildirilmiştir<sup>(38,91)</sup>. Dejeneratif disk herniasyonlu bireyler üzerinde yapılan yapısal matriks molekülleri dışında kalan diğer gen (*VDR* gen vb) polimorfizmi çalışmaları da DDH etyolojisinde bu gen polimorfizmlerinin etkisi olduğunu ortaya koymuştur<sup>(31,33,89)</sup>.

## **GENETİK ÇALIŞMALAR:**

### **Kollajen Gen Polimorfizmleri:**

#### ***COL1A1* Geni:**

Tip I kollajen, heterotrimer yapıda olup, farklı genler tarafından kodlanan 1 ve 2 zincirlerinden oluşmaktadır. *COL1A1* geni tip I kollajenin  $\alpha 1$  zincirini kodlar. Tip I kollajenin 1 ve 2 zincirlerini kodlayan genlerle ilgili farklı

polimorfizmler tanımlanmıştır<sup>(7)</sup>. Bu polimorfizmler içinde üzerinde en çok çalışma yapılanı, Grant ve arkadaşlar<sup>(21)</sup> tarafından tanımlanan, *COL1A1* geninin Sp1 transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesini etkileyen Sp1 polimorfizmidir. Bu polimorfizm sonucunda kollajen  $\alpha 1$  zincirinin  $\alpha 2$  zincirine göre daha fazla üretilmesi sonucunda kollajenin yapısındaki  $\alpha 1/\alpha 2$  zincir oranı değişmekte ve kollajenin dayanıklılığı bozulmaktadır<sup>(43)</sup>. Bu polimorfizm pek çok araştırmacı tarafından osteoporoz, düşük kemik yoğunluğu ve artmış kırık riski ile ilişkili bulunmuştur<sup>(21,37,41,44,60,82,92)</sup>.

*COL1A1* geni Sp1 polimorfizmi ve disk dejenerasyonu ile ilgili bugüne kadar yapılan tek çalışmada, lomber disk hastalığı tanısı almış genç askerler ile bu polimorfizm arasında güçlü ilişki tesbit edilmiştir<sup>(79)</sup>. *COL1A1* geninin farklı bir polimorfizmi ile yine lomber disk hastalığı tanılı genç askerlerde yapılan çalışmada herhangi bir ilişki bulunamamıştır<sup>(6)</sup>.

#### ***COL9A1, COL9A2 ve COL9A3* Genleri:**

Kollajen 9, *COL9A1, COL9A2 ve COL9A3* genleri tarafından kodlanan  $\alpha 1, \alpha 2$  ve  $\alpha 3$  zincirlerinden oluşan heterotrimer bir yapıya sahiptir<sup>(56,59)</sup>. Kollajen 9, tip 2 kollajen ile ilişkili olup dokulardaki kollajen ve nonkollajen proteinler arasında bir köprü görevi görür. Bu kollajen tipinin kırık hastalıklarında rolü olduğu gösterilmiştir<sup>(18,50,51,57)</sup>. Kollajen 9'un yapı ve fonksiyonundaki değişiklikler diskin her üç komponentini de etkileyerek disk dejenerasyonunun gelişimine katkıda bulunmaktadır<sup>(30)</sup>.

Kollajen 9'un  $\alpha 2$  zincirini kodlayan *COL9A2* geni Annunen ve ark. tarafından intervertebral disk hastalığına sahip Fin popülasyonunda incelenmiştir<sup>(2)</sup>. Trp2 aleli, 157 hastanın

sadece 6 tanesinde (%4) tesbit edilirken kontrolün hiçbirinde gözlenmemiştir. Bu çalışmanın aksine Güney Çin toplumunda Trp 2 alel sıklığı oldukça yüksek oranda bulunmuştur (% 20) <sup>(30)</sup>. Geniş bir popülasyonda yapılan bu çalışmada Trp2 alelinin yaşa bağlı bir risk faktörü olduğu ve dejeneratif disk hastalığının gelişimi ve ciddiyeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışma ilk defa Trp2 aleli ile diskteki yapısal değişiklikler arasındaki ilişkiyi göstermesi açısından da önemlidir. Hint toplumunda yapılan çalışmada intervertebral disk hastalığı ile homozigot *COL9A2* alelleri arasında %100 ilişki bulunmuştur <sup>(62)</sup>.

Kollajen 9 ile ilgili diğer bir gen olan *COL9A3* geni Paassilta ve arkadaşları tarafından Finli hastalarda çalışılmış ve en az bir Trp3 alelinin dejeneratif disk hastalığı riskini 3 kat arttırdığı bulunmuştur <sup>(58)</sup>. Güney Çin toplumunda yapılan çalışmada ise bu alele rastlanmamıştır <sup>(30)</sup>. Benzer şekilde Hint toplumunda da *COL9A3* geni alel frekansları düşük oranda bulunmuştur <sup>(62)</sup>. Farklı popülasyonlardaki Trp2 ve Trp3 alel sıklıkları arasındaki fark, farklı etnik topluluklarda dejeneratif disk hastalığı risk faktörlerinin değişebileceğini ortaya koymaktadır.

### ***COL11A1 Geni:***

Tip XI kollajeni proteoglikan moleküller ile diğer kollajenler arasında ilişki kurarak diskin yapısal bütünlüğünü sağlar. Tip XI kollajeni  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ve  $\alpha 3$  zincirlerinden oluşur. Tip XI kollajenini oluşturan  $\alpha 1$  zinciri *COL11A1* geni tarafından kodlanır. Mio ve arkadaşlarının lomber disk hernili Japonlarda yaptıkları çalışmada Tip XI kollajene ait  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ve  $\alpha 3$  zincirlerini kodlayan genlerin analizi yapılmış olup sadece  $\alpha 1$  zincirini kodlayan *COL11A1*

gen polimorfizmi ile disk dejenerasyonu arasında anlamlı ilişki bulunmuştur <sup>(48)</sup>.

Finli erkeklerde yapılan çalışmada *COL11A2* geni minör alel taşıyıcılarında bulging disk riskinde artma tesbit edilmiştir (75). Yine Fin toplumunda yapılan başka bir çalışmada *COL11A2* geni ile dejeneratif spinal stenoz arasında ilişki bulunmuştur <sup>(53)</sup>.

### ***Agrekan Gen Polimorfizmi:***

İnsan *Agrekan* geni kromozom 15q26'da lokalize olup 19 ekson ve 18 intron içerir (40). *Agrekan* proteinini oluşturan GAG'ler kondroidin sülfat (CS) ve keratan sülfat (KS)'tir. CS domaini CS1 ve CS2 olmak üzere iki kondroidin sülfat bağlanma bölgesi içerir. Bu bağlanma bölgesinin çoğu ekson 12 tarafından kodlanır <sup>(13)</sup>.

CS1, VNTR dizileri içermektedir. VNTR tekrar sayıları 13–33 arasında değişmekte olup her bir alel 57 nükleotidin tekrarlayan sekanslarından oluşur. En kısa *agrekan* alellerinin ürünü olan *agrekan* proteinlerinde en az CS zinciri vardır. Bu kısa aleller kompresyona direncin azalmasına ve artmış doku dejenerasyonuna neden olur. Her proteolitik dejenerasyon sürecinin metalloproteinazların (özellikle *agrekanazlar*) etkisine bağlı olarak oluştuğu ve CS bölgesinin büyük bir parçasının çıkarılmasına neden olduğu düşünülmektedir <sup>(80)</sup>. *Agrekan* fonksiyonu için CS1 domaininin bu durumu yaşla beraber artmış doku dejenerasyonuna katkıda bulunur. Çünkü yaşla birlikte CS zincirlerinin uzunluğu azalırken KS zincirlerinin ki artar. Bu durumda erken yaşta oluşan intervertebral disk ve artikuler kıkırdak dejenerasyonu için en kısa alelli kişiler en büyük risk altındadır.



Farklı toplumlarda yapılan *Agrekan* genindeki polimorfizm çalışmalarında tespit edilen alel tipleri ve sayıları farklılık göstermektedir. Fin toplumunda yapılan iki ayrı çalışmanın birinde diğerinde 9 farklı alel tespit edilmiştir<sup>(53,76)</sup>. Japon toplumunda 8, Kanada toplumunda ise 13 farklı alel bildirilirken Türkiye 'de yapılan çalışmada 11 farklı alel tespit edilmiştir<sup>(32,66)</sup>. Aleller içinde sırasıyla en fazla A27 (%27), A28 (%21,8) ve A26 (%18,7) gözlenmiştir<sup>(16)</sup>.

Kawaguchi ve arkadaşları, kısa tekrarlı aleller ile üçten fazla seviyede ve ciddi dejenerasyon arasında önemli ilişki tespit etmişlerdir<sup>(32)</sup>. Ülkemizde yapılan dejeneratif disk hastalığı ve *Agrekan* gen polimorfizmi ile ilgili iki çalışmada da benzer şekilde kısa aleller ile dejenerasyonun seviyesi ve ciddiyeti arasında güçlü bir ilişki bildirilmiştir<sup>(16,17)</sup>. Diğer taraftan, Rougley ve arkadaşlarının çalışmasında ise, alel büyüklükleri ile disk dejenerasyonu arasında bir ilişki tespit edilmemiştir<sup>(66)</sup>.

Fin toplumunda yapılan iki ayrı çalışmada kısa tekrarlı alel frekansları oldukça düşük oranda bulunmuş olup disk dejenerasyonu ile kısa tekrarlı aleller arasında herhangi bir ilişkiye rastlanmamıştır<sup>(53,76)</sup>. Ayrıca Solovieva ve arkadaşlarının çalışmasında gerek bizim, gerekse Kawaguchi ve arkadaşlarının çalışmasının aksine 26 tekrarlı alellerin dejenerasyon riskini arttırdığı, daha kısa olan 25 tekrarlı alellerin ise dejenerasyondan koruduğu rapor edilmiştir<sup>(16,17,32,76)</sup>.

Kamarainen ve ark.'nın el osteoartritli bireyler üzerinde yaptıkları çalışmalarında ise 27 tekrarlı alelin koruyucu olduğu, 27 tekrardan daha kısa ve daha uzun olan alellerin hastalık riskini ve ciddiyetini arttırdığı bildirilmiştir<sup>(34)</sup>.

## **Matriks Metalloproteinaz Gen Polimorfizmleri:**

### ***Matriks Metalloproteinaz-2 (MMP-2) Geni:***

MMP-2 (jelatinaz A) MMP ailesinin bir üyesi olup intervertebral disk homeostazisinde önemli bir yere sahiptir. Disk dokusunda MMP-2'nin artmış ekspresyonu dejeneratif lezyonlarla ilişkilidir<sup>(12,65)</sup>. Normal ve dejenere nukleus pulposus ve annulus fibrosus hücrelerinde MMP-2 varlığı immünohistokimyasal çalışmalarda gösterilmiştir<sup>(65,93)</sup>. MMP-2-1306C/T polimorfizmi ve lomber disk hastalıklı genç bireylerde yapılan çalışmada -1306CC genotipli bireylerde lomber disk hastalığı riskinin üç kat arttığı tesbit edilmiştir. Ayrıca bu genotip ile disk dejenerasyonunun ciddiyeti açısından da ilişki bulunmuştur<sup>(15)</sup>.

### ***Matriks Metalloproteinaz-3 (MMP-3) Geni:***

MMP-3 (Stromelysin 1) enzimi, ekstraselüler matrikste yer alan proteoglikan ve kollajen içeriklerinin yıkımını sağlayan ana enzimdir<sup>(23)</sup>. İmmünohistokimyasal çalışmalar dejenere disk dokusunda MMP-3 enziminin ekspresyonunun arttığını göstermiştir<sup>(35)</sup>. Çeşitli hastalıklarla MMP-3 enzimini kodlayan *MMP-3* genine ait tek nükleotid polimorfizmleri ve 5A/6A polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar bildirilmiştir<sup>(63,94,95)</sup>. Bu çalışmalar içinde özellikle genin promoter bölgesinde yer alan 5A/6A polimorfizmi, en çok çalışılan polimorfizm olmuştur. Çünkü bu polimorfik değişikliğin, MMP-3 ekspresyonunu değiştirerek matriks remodeling dengesini bozabileceği ve hastalığın hızla ilerlemesine neden olabileceği bildirilmiştir<sup>(94)</sup>.

İntervertebral disk dejenerasyonu ile *MMP-3* geninin ilişkisini araştıran çalışmada, 5A/6A polimorfizmi incelenmiş olup yaşlı Japon hastalarda 5A aleli ile disk dejenerasyonu

arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur <sup>(78)</sup>. Çin popülasyonunda yapılan çalışmada da 5A aleli ve lomber disk dejenerasyonu ile ilgili benzer sonuçlara ulaşıldı <sup>(97)</sup>.

## GEN POLİMORFİZMLERİ:

### ADAMTS (Agrekanas) Gen Polimorfizmi:

İntervertebral diskin proteoglikan içeriğinin, özellikle de agrekan proteininin erken dönem kaybı disk dejenerasyonu gelişimi ile ilişkilidir. Agrekanas enzimleri agrekanın interglobuler domainine etki ederek agrekanın dokudan salınmasını sağlar. İlk tanımlanan agrekanas ADAMTS4 olarak adlandırılan agrekanas-1 enzimidir. İnsan genomunda 19 adet ADAMTS enzimi tanımlanmıştır. Bunlardan özellikle ADAMTS-1,4,5,8 ve 9 artritteki kıkırdak proteoglikan (agrekan) miktarının azalmasında rol oynar. Hatano ve arkadaşları herniye olmuş disklerde ADAMTS-4 mRNA ve protein ekspresyonunu göstermiştir <sup>(24)</sup>. Roberts ve arkadaşları, yüksek gradeli dejeneratif diskler ile agrekanas üretimi arasındaki ilişkiyi bildirmiştir <sup>(65)</sup>.

### Vitamin D Reseptör (VDR) Gen Polimorfizmi:

VDR'nin Ca+2 207 ve 1,25 (OH)2 D3 metabolizmasında görev yaparak normal kemik mineralizasyonu ve remodelingde rol oynadığı bilinmektedir<sup>(25)</sup>. Ancak Videman ve arkadaşlarının ve Uitterlinden ve ark.'nın yaptıkları çalışmalarda VDR'nin sadece kemik yapısıyla değil aynı zamanda nonmineralize konnektif dokunun dejenerasyonu ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir <sup>(36,64,83,88,89)</sup>. Ayrıca Vitamin D, kemik ve Ca+2 211 metabolizmasının yanısıra proteoglikan sentezinde glikozaminoglikanların sülfatasyonu için de önemlidir <sup>(8,19)</sup>.

Van der Kraan ve arkadaşları, inorganik sülfat değişikliklerinin kıkırdak glikozaminoglikan sentezine olan etkisini araştırdıkları çalışmalarında, kıkırdak proteoglikanlarının sülfatasyonunun inorganik sülfat konsantrasyonuna bağlı olduğunu bildirmişlerdir <sup>(86)</sup>. Kemik ve kartilajın en önemli ekstraselüler matriks komponenti olan proteoglikanların normal fonksiyon görebilmesi için sülfatasyon mekanizmasının ve VDR'nin sağlam olması gerekmektedir. Bu yüzden VDR genine ait polimorfizmler sonucu oluşan vitamin D eksikliğinin proteoglikanlarda yapısal defekte neden olarak intervertebral diskin ekstraselüler matriksinin yapısını ve miktarını etkileyeceği ve disk dejenerasyonu oluşumuna katkıda bulunacağı belirtilmiştir<sup>(9)</sup>.

VDR geninde 25'den fazla farklı polimorfizm bildirilmiştir <sup>(84)</sup>. Videman ve ark.'nın Finli ikizler üzerinde yaptıkları VDR geni Taql polimorfizmi genotipleri ve disk dejenerasyon dereceleri açısından anlamlı ilişki bildirilmiştir<sup>(89)</sup>. Jones ve ark.'nın Avustralya popülasyonu üzerinde yaptıkları çalışmada, disk dejenerasyonu ile tt genotipi arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir <sup>(31)</sup>. Genç Japon popülasyonunda yapılan çalışmada Taql polimorfizminin Tt genotipi ile disk dejenerasyonunun derecesi ve seviyesi arasında ilişki bildirilmiştir <sup>(33)</sup>.

Cheung ve ark.'nın Güney Çin popülasyonunda yaptığı Taql polimorfizmi ile ilgili çalışmada Tt ve tt genotipleri ile disk dejenerasyonu arasında ilişki bulunmuştur<sup>(10)</sup>. Videman ve arkadaşları, Finli monozigotik ikizlerde yaptığı diğer bir çalışmada disk dejenerasyonu ile Taql ve FokI polimorfizmlerini karşılaştırmış ve anlamlı bir ilişki olduğu bildirilmiştir <sup>(88)</sup>. Fin toplumunda

yapılan Taql ve Fokl polimorfizmleri ile dejeneratif lomber spinal stenozun ilişkisinin araştırıldığı çalışmada, genotipler ile disk dejenerasyonu arasında bir ilişki bulunamamıştır<sup>(53)</sup>. Bel ağırlı yaşlı Japon kadınlarında yapılan bir çalışmada ise Taql polimorfizmi ile disk dejenerasyonu arasında herhangi bir ilişki tespit edilmemiştir<sup>(55)</sup>.

Dejeneratif disk hastalığı ile VDR geni Taql ve Fokl polimorfizmleri arasındaki ilişki ile ilgili ülkemizde yapılan tek çalışma, iki farklı ildeki nöroşirürji kliniğine başvuran 20-30 yaş arası 300 genç katılımcı ile yapılmıştır<sup>(16)</sup>. Çevresel faktörler (vibrasyon travması, aşırı fiziksel yüklenme, sigara, yaş) ekarte edildikten sonra MR görüntülenme ile dejenere ve non-dejenere disk bulgularına göre katılımcılar 150 hasta ve 150 kontrol olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Çalışma sonucunda Ff, ff ve tt genotipi ile ağır disk dejenerasyonu arasında ilişki bulunmuştur. Çin popülasyonunda yapılan VDR geni Apal polimorfizmi ile ilgili çalışmada A aleline sahip bireylerde vibrasyon ve ağır yük maruziyetinin lomber disk dejenerasyonu riskini arttırabileceği gözlenmiştir<sup>(97)</sup>.

### **Östrojen Reseptör Alfa (ER-A) Gen Polimorfizmi:**

ER- $\alpha$ , östrojenle ilişkili kemik ve kıkırdak yapıyı ilgilendiren hastalıklarda önemli rol oynar. ER- $\alpha$  geninin VDR geni ile birlikte düşük kemik yoğunluğu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir<sup>(39,49)</sup>. ER proteini, ER- $\alpha$  ve ER- $\beta$  izoformlarından oluşur. ER- $\alpha$  sinyal iletiminde önemli bir mediyatördür. DNA ve ligand bağlanması ve transkripsiyonun aktivasyonunda rol oynar<sup>(72)</sup>.

ER- $\alpha$  geninde birçok polimorfizm tanımlanmıştır (68,69). Disk dejenerasyonu ile

ER- $\alpha$  geni arasındaki ilişkiyi araştıran tek çalışmada, Pvull (T397C) ve Xbal (G351A) polimorfizmlerinin lomber disk dejenerasyonu etyolojisinde aday gen olabileceği öne sürülmüştür<sup>(33)</sup>.

### **Cartilaj Intermediate Layer Protein (CILP) Gen Polimorfizmi:**

CILP, insan artikuler kıkırdağının orta bölgesinde, matriks içinde yer alan 91.5 kDa ağırlığında bir protein olup kromozom 15q22'de lokalize olan CILP geni tarafından kodlanmaktadır. CILP, TGF- $\beta$ 1 ile kondrositlerde ko-lokalizedir. TGF- $\beta$  intervertebral diskteki ekstraselüler matriksin korunmasında önemli bir yer tutar. CILP 'nin disk dokusundaki artmış ekspresyonu disk dejenerasyonunu artırır. Seki ve arkadaşları yaptıkları fonksiyonel çalışma ile CILP'nin TGF- $\beta$  sinyalizasyon yolağını etkileyerek bu etkisini gösterebileceğini bildirmiştir<sup>(70)</sup>. Bu tip çalışmalar dejeneratif disk hastalığı etyolojisinde ekstraselüler matriks elemanlarının önemini ortaya koymakta ve sinyal moleküllerinin doku tamirinde önemli olabileceğini de düşündürmektedir. Virtanen ve ark'nın iki farklı popülasyonda (Finli ve Çinli) yaptıkları çalışmada CILP ve intervertebral disk dejenerasyonu arasında ilişki tespit edilmemiştir<sup>(90)</sup>. Japon atletlerde yapılan çalışmada ise CILP genotiplerinin erkek atletlerdeki lomber disk dejenerasyonuna etkisi gösterilmiştir<sup>(47)</sup>.

### **İnterlökin Gen Polimorfizmleri:**

#### **İnterlökin-1 (IL-1) Geni:**

IL-1 infeksiyon, yaralanma ya da antijenik değişikliklere cevap olarak üretilen bir sitokindir. IL-1 gen ailesinin üç üyesi vardır: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-1 RN (IL-1 reseptör antagonisti). Üç farklı meslek grubundan 133 Finli erkekte yapılan çalışmada lomber disk



dejenerasyonu ile *IL-1* geni arasında ilişki bulunmuştur<sup>(74)</sup>. Ayrıca *IL-1* geninin TT genotipinde disk bulging riskinin 3 kat arttığı tespit edilmiştir. Çinde yapılan bir çalışmada da *IL-1 $\beta$*  -511T/C polimorfizminin lomber disk hastalığına yatkınlığı arttırabileceği öne sürülmüştür<sup>(96)</sup>.

### ***İnterlökin-6 (IL-6) Geni:***

İntervertebral disk hastalığı ve buna bağlı gelişen siyatik ağrısı doku yıkımı, enflamasyon ve ağrı ile karakterize bir süreçtir. Noponen-Hietala ve arkadaşları tarafından intervertebral disk hastalığına bağlı siyatik ağrısı olan hastalarda inflamatuvar mediyatör genlerin muhtemel etkisi incelenmiştir<sup>(54)</sup>. *IL-1A*, *IL-1B*, *IL-6* ve *TNFA* genleri ile hastalık arasında bir ilişki bulunamamıştır. Ancak hasta ve kontrol grubu arasında *IL-6* geni ekson 5'de yer alan T15A polimorfizmi açısından alel frekanslarında anlamlı farklılık görülmüştür. Sonuç olarak, *IL-6* genindeki polimorfizmin, hastalık ve buna bağlı gelişen ağrı süreciyle ilişkili olabileceği öne sürülmüştür.

### ***İnterlökin-10 (IL-10) Geni:***

IL-10 antiinflamatuvar bir sitokin olup monosit ve lenfositler tarafından üretilir. Bu sitokin, proinflamatuvar sitokinlerin sentezinin inhibisyonunu içeren immün regülasyon ve inflamasyonda pleiotropik etkiye sahiptir<sup>(81)</sup>. IL-10 geninin promoter bölgesi yüksek derecede polimorfiktir. Çin popülasyonunda yapılan lomber dejeneratif disk hastalığı ve IL-10 geni ile ilgili çalışmada bu genin promoter bölgesinde yer alan üç farklı tek nükleotid polimorfizmi ve IL-10 mRNA düzeyleri incelenmiştir<sup>(42)</sup>. Lomber intervertebraldisk dejenerasyonuna yatkınlık ile IL-10 mRNA düzeyi, -1082A/G ve -592A/C polimorfizmleri

arasında ilişki tespit edilmiş ancak hastalığın ciddiyeti ile herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

### ***Diğer Gen Polimorfizmleri:***

Apoptozis disk dejenerasyonu mekanizmasında rol alan bir süreçtir. BCL-2 proteini antiapoptotik bir proteindir. Çin toplumunda yapılan çalışmada BCL-2 -938C/A polimorfizminin A aleli ile dejenerasyon varlığı ve ciddiyeti arasında ilişki olduğu gösterilmiştir<sup>(71)</sup>.

Apoptozis ile ilişkili diğer bir protein de Fas/FasL (Fas Ligand) proteinleridir. Farklı bir grup tarafından yine Çin toplumunda yapılan çalışmada Fas ve FasL polimorfizmlerinin lomber disk dejenerasyonunun yüksek gradeleri ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir<sup>(98)</sup>.

### **SONUÇ:**

İntervertebral disk dejenerasyonu ile ilişkili hastalıklar, endüstriyel toplumlar için majör bir sağlık sorunudur. Ciddi iş kaybına ve sağlık giderine yol açan dejeneratif disk hastalıklarını ortaya çıkaran nedenlerin ve risk faktörlerinin bulunması, bunların önlenmesi ve tedavi stratejilerinin planlanması açısından önem taşımaktadır.

Kompleks bir etyopatogeneze sahip dejeneratif disk hastalığı birçok gen ve çevresel faktörün etkili olduğu multifaktöriyel bir hastalıktır. Spesifik genlerin ve bazı çevresel faktörlerin etkisi yanında gen-gen, gen-çevre ve gen-yaş etkileşimleri de bu hastalığın mekanizmasında yer alabilir.

Aday genlerle ilgili polimorfizm çalışmaları farklı toplumlarda devam etmektedir. Özellikle son yıllarda yapılan aile ve ikiz çalışmaları, disk dejenerasyonu etyolojisinde genetik faktörlerin büyük oranda etkili olabileceğini ortaya

koymaktadır. Genlerdeki polimorfik değişiklikler, ekspresyon seviyesini etkileyebileceği için aday genlere ait proteinlerin disk dokusunda incelenmesi de anlamlı sonuçların ortaya konmasına yardımcı olabilir. Böylelikle polimorfizm analizleri ve genlerin fonksiyonlarına yönelik mRNA ve protein düzeyindeki çalışmaların birlikte değerlendirilmesi bu genlerin disk dejenerasyonu oluşumu üzerine olan etkilerinin ortaya konmasına katkı sağlayabilir. Ayrıca üzerinde çalışılan aday genlerin etkisinin daha iyi tesbit edilebilmesi için farklı populasyonlarda, geniş vaka-kontrol grupları ile benzer çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Dejeneratif disk hastalığının genetik temeli anlaşıldıkça dejenerasyonun her evresi için geliştirilebilecek hücre ve molekül temelli biyolojik tedavi (gen terapi, kök hücre çalışmaları, siRNA tedavisi vb.) imkanları ile gelecekte klinisyenlere yeni tedavi seçenekleri sunulabileceğini umuyoruz.

#### KAYNAKLAR:

1. Ala-Kokko L. Genetic risk factors for lumbar disc disease. *Ann Med* 2002; 34(1): 42-47.
2. Annunen S, Paassilta P, Lohiniva J, Perälä M, Pihlajamaa T, Karppinen J, Tervonen O, Kröger H, Lähde S, Vanharanta H, Ryhänen L, Göring HH, Ott J, Prockop DJ, Ala-Kokko L. An allele of COL9A2 associated with intervertebral disc disease. *Science* 1999; 285(5426): 409-412.
3. Antoniou J, Steffen T, Nelson F, Winterbottom N, Hollander AP, Poole RA, Aebi M, Alini M. 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(4): 996-1003.
4. Aydın S, Sivrioğlu K. Lomber disk hastalıklarında genetik. *Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi* 2003; 49(4): 22-28.
5. Battié MC, Videman T, Gibbons LE, Fisher LD, Manninen H, Gill K. 1995 Volvo Award in clinical sciences. Determinants of lumbar disc degeneration. A study relating lifetime exposures and magnetic resonance imaging findings in identical twins. *Spine* 1995; 20(24): 2601-2612.
6. Bei T, Tilkeridis C, Garantziotis S, Boikos S, Kazakos K, Simopoulos C, Stratakis C. A novel, non-functional, COL1A1 polymorphism is not associated with lumbar disk disease in young male Greek subjects unlike that of the Sp1 site. *Hormones (Athens)* 2008; 7(3): 251-254.
7. Bodian DL, Chan TF, Poon A, Schwarze U, Yang K, Byers PH, Kwok PY, Klein TE. Mutation and polymorphism spectrum in osteogenesis imperfecta type II: implications for genotype-phenotype relationships. *Hum Mol Genet* 2009; 18(3): 463-471.
8. Bolt MJ, Liu W, Qiao G, Kong J, Zheng W, Krausz T, Cs-Szabo G, Sitrin MD, Li YC. Critical role of vitamin D in sulfate homeostasis: regulation of the sodium sulfate cotransporter by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 287(4): 744-749.
9. Chan D, Song Y, Sham P, Cheung KM. Genetics of disc degeneration. *Eur Spine J* 2006; 3: 317-325.
10. Cheung KM, Chan D, Karppinen J, Chen Y, Jim JJ, Yip 337 SP, Ott J, Wong KK, Sham P, Luk KD, Cheah KS, Leong JC, Song YQ. Association of the Taq I allele in vitamin D receptor with degenerative disc disease and disc bulge in a Chinese population. *Spine* 2006; 31(10): 1143-1148.
11. Comper WD, Laurent TC. Physiological function of connective tissue polysaccharides. *Physiol Rev* 1978; 58(1): 255-315.

12. Crean JK, Roberts S, Jaffray DC, Eisenstein SM, Duance VC. Matrix metalloproteinases in the human intervertebral disc: role in disc degeneration and scoliosis. *Spine* 1997; 22(24): 2877-2884.
13. Doege KJ, Sasaki M, Kimura T, Yamada Y. Complete coding sequence and deduced primary structure of the human cartilage large aggregating proteoglycan, aggrecan. Human-specific repeats, and additional alternatively spliced forms. *J Biol Chem* 1991; 266(2): 894-902.
14. Doege KJ, Coulter SN, Meek LM, Maslen K, Wood JG. A human-specific polymorphism in the coding region of the aggrecan gene. Variable number of tandem repeats produce a range of core protein sizes in the general population. *J Biol Chem* 1997; 272(21): 13974-13979.
15. Dong DM, Yao M, Liu B, Sun CY, Jiang YQ, Wang YS. Association between the -1306C/T polymorphism of matrix metalloproteinase-2 gene and lumbar disc disease in Chinese young adults. *Eur Spine J* 2007; 16(11): 1958-1961.
16. Eser B, Cora T, Eser O, Kalkan E, Haktanir A, Erdogan MO, Solak M. Association of the polymorphisms of vitamin D receptor and aggrecan genes with degenerative disc disease. *Genet Test Mol Biomarkers* 2010; 14(3): 313-317.
17. Eser O, Eser B, Cosar M, Erdogan MO, Aslan A, Yıldız H, Solak M, Haktanir A. Short aggrecan gene repetitive alleles associated with lumbar degenerative disc disease in Turkish patients. *Genet Mol Res* 2011; 10(3): 1923-1930.
18. Fässler R, Schnegelsberg PN, Dausman J, Shinya T, Muragaki Y, McCarthy MT, Olsen BR, Jaenisch R. Mice lacking alpha 1 (IX) collagen develop noninflammatory degenerative joint disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(11): 5070-5074.
19. Fernandes I, Hampson G, Cahours X, Morin P, Coureau C, Couette S, Prie D, Biber J, Murer H, Friedlander G, Silve C. Abnormal sulfate metabolism in vitamin D-deficient rats. *J Clin Invest* 1997; 100(9): 2196-2203.
20. Goupille P, Jayson MI, Valat JP, Freemont AJ. Matrix metalloproteinases: 370 the clue to intervertebral disc degeneration? *Spine* 1998; 23(14): 1612-1626.
21. Grant SF, Reid DM, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston SH. Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene. *Nat Genet* 1996; 14(2): 203-205.
22. Gruber HE, Hanley EN Jr. Analysis of aging and degeneration of the human intervertebral disc. Comparison of surgical specimens with normal controls. *Spine* 1998; 23(7): 751-757.
23. Haro H, Crawford HC, Fingleton B, MacDougall JR, Shinomiya K, Spengler DM, Matrisian LM. Matrix metalloproteinase-3-dependent generation of a macrophage chemoattractant in a model of herniated disc resorption. *J Clin Invest* 2000; 105(2): 133-141.
24. Hatano E, Fujita T, Ueda Y, Okuda T, Katsuda S, Okada Y, Matsumoto T. Expression of ADAMTS-4 (aggrecanase-1) and possible involvement in regression of lumbar disc herniation. *Spine* 2006; 31(13): 1426-1432.
25. Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA, Hsieh JC, Thompson PD, Selznick SH, Dominguez CE, Jurutka PW. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J Bone Miner Res* 1998; 13(3): 325-349.
26. Heikkilä JK, Koskenvuo M, Heliövaara M, Kurppa K, Riihimäki H, Heikkilä K, Rita H, Videman T. Genetic and environmental factors in sciatica. Evidence from a nationwide panel of 9365 adult twin pairs. *Ann Med* 1989; 21(5): 393-698.

27. Horner HA, Urban JP. 2001 Volvo Award Winner in Basic Science Studies. Effect of nutrient supply on the viability of cells from the nucleus pulposus of the intervertebral disc. *Spine* 2001; 26(23): 2543-2549.
28. Inkinen RI, Lammi MJ, Lehmonen S, Puustjärvi K, Kääpä E, Tammi MI. Relative increase of biglycan and decorin and altered chondroitin sulfate epitopes in the degenerating human intervertebral disc. *J Rheumatol* 1998; 25(3): 506-514.
29. Ishihara H, 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(6): 829-835.
30. Jim JJ, Noponen-Hietala N, Cheung KM, Ott J, Karppinen J, Sahraravand A, Luk KD, Yip SP, Sham PC, Song YQ, Leong JC, Cheah KS, Ala-Kokko L, Chan D. The TRP2 allele of COL9A2 is an age-dependent risk factor for the development and severity of intervertebral disc degeneration. *Spine* 2005; 30(24): 2735-2742.
31. Jones G, White C, Sambrook P, Eisman J. Allelic variation in the vitamin D receptor, lifestyle factors and lumbar spinal degenerative disease. *Ann Rheum Dis* 1998; 57(2): 94-9.
32. Kawaguchi Y, Osada R, Kanamori M, Ishihara H, Ohmori K, Matsui H, Kimura T. Association between an aggrecan gene polymorphism and lumbar disc degeneration. *Spine* 1999; 24(23): 2456-2460.
33. Kawaguchi Y, Kanamori M, Ishihara H, Ohmori K, Matsui H, Kimura T. The association of lumbar disc disease with vitamin-D receptor gene polymorphism. *J Bone Joint Surg* 2002; 84-A(11): 2022-2028.
34. Kämäräinen OP, Solovieva S, Vehmas T, Luoma K, Leino-Arjas P, Riihimäki H, Ala-Kokko L, Männikkö M. Aggrecan core protein of a certain length is protective against hand osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2006; 14(10): 1075-1080.
35. Kanemoto M, Hukuda S, Komiya Y, Katsuura A, Nishioka J. Immunohistochemical study of matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 human intervertebral discs. *Spine* 1996; 21(1): 1-8.
36. Keen RW, Hart DJ, Lanchbury JS, Spector TD. Association of early osteoarthritis of the knee with a Taq I polymorphism of the vitamin D receptor gene. *Arthritis Rheum* 1997; 40(8): 1444-1449.
37. Keen RW, Woodford-Richens KL, Grant SF, Ralston SH, Lanchbury JS, Spector TD. Association of polymorphism at the type I collagen (COL1A1) locus with reduced bone mineral density, increased fracture risk, and increased collagen turnover. *Arthritis Rheum* 1999; 42(2): 285-290.
38. Kimura T, Nakata K, Tsumaki N, Miyamoto S, Matsui Y, Ebara S, Ochi T. Progressive degeneration of articular cartilage and intervertebral discs. An experimental study in transgenic mice bearing a type IX collagen mutation. *Int Orthop* 1996; 20(3): 177-181.
39. Kobayashi S, Inoue S, Hosoi T, Ouchi Y, Shiraki M, Orimo H. Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor gene. *J Bone Miner Res* 1996; 11(3): 306-311.
40. Korenberg JR, Chen XN, Doege K, Grover J, Roughley PJ. Assignment of the human aggrecan gene (AGC1) to 15q26 using fluorescence in situ hybridization analysis. *Genomics* 1993; 16(2): 546-548.
41. Langdahl BL, Ralston SH, Grant SF, Eriksen EF. An Sp1 binding site polymorphism in the COL1A1 gene predicts osteoporotic fractures in both men and women. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 1384-1389.

42. Lin WP, Lin JH, Chen XW, Wu CY, Zhang LQ, Huang ZD, Lai JM. Interleukin-10 promoter polymorphisms associated with susceptibility to lumbar disc degeneration in a Chinese cohort. *Genet Mol Res* 2011; 10 (3): 1719-1727.
43. Mann V, Hobson EE, Li B, Stewart TL, Grant SF, Robins SP, Aspden RM, Ralston SH. A COL1A1 Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *J Clin Invest* 2001; 107(7): 899-907.
44. Mann V, Ralston SH. Meta-analysis of COL1A1 Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture. *Bone* 2003; 32(6): 711-717.
45. Matsui H, Kanamori M, Ishihara H, Yudoh K, Naruse Y, Tsuji H. Familial predisposition for lumbar degenerative disc disease. A case-control study. *Spine* 1998; 23(9): 1029-1034.
46. Melrose J, Ghosh P, Taylor TK, Latham J, Moore R. Topographical variation in the catabolism of aggrecan in an ovine annular lesion model of experimental disc degeneration. *J Spinal Disord* 1997; 10(1): 55-67.
47. Min SK, Nakazato K, Yamamoto Y, Gushiken K, Fujimoto H, Fujishiro H, Kobayakawa Y, Hiranuma K. Gene is associated with lumbar disc degeneration in male, but not female, collegiate athletes. *Am J Sports Med* 2010; 38(12): 2552-2557.
48. Mio F, Chiba K, Hirose Y, Kawaguchi Y, Mikami Y, Oya T, Mori M, Kamata M, Matsumoto M, Ozaki K, Tanaka T, Takahashi A, Kubo T, Kimura T, Toyama Y, Ikegawa S. A functional polymorphism in COL11A1, which encodes the alpha 1 chain of type XI collagen, is associated with susceptibility to lumbar disc herniation. *Am J Hum Genet* 2007; 81(6): 1271-1277.
49. Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 1994; 367(6460): 284-287.
50. Muragaki Y, Mariman EC, van Beersum SE, Perälä M, 467 van Mourik JB, Warman ML, Olsen BR, Hamel BC. A mutation in the gene encoding the alpha 2 chain of the fibril-associated collagen IX, COL9A2, causes multiple epiphyseal dysplasia (EDM2). *Nat Genet* 1996; 12(1): 103-105.
51. Nakata K, Ono K, Miyazaki J, Olsen BR, Muragaki Y, Adachi E, Yamamura K, Kimura T. Osteoarthritis associated with mild chondrodysplasia in transgenic mice expressing alpha 1(IX) collagen chains with a central deletion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90(7): 2870-2874.
52. 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(1): 67-76.
53. Noponen-Hietala N, Kyllönen E, Männikkö M, Ilkko E, Karppinen J, Ott J, Ala-Kokko L. Sequence variations in the collagen IX and XI genes are associated with degenerative lumbar spinal stenosis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62(12): 1208-1214.
54. Noponen-Hietala N, Virtanen I, Karttunen R, Schwenke S, Jakkula E, Li H, Merikivi R, Barral S, Ott J, Karppinen J, Ala-Kokko L. Genetic variations in IL6 associate with intervertebral disc disease characterized by sciatica. *Pain* 2005; 114(1-2): 186-194.
55. Oishi Y, Shimizu K, Katoh T, Nakao H, Yamaura M, Furuko T, Narusawa K, Nakamura T. Lack of association between lumbar disc degeneration and osteophyte formation in elderly Japanese women with back pain. *Bone* 2003; 32(4): 405-411.



56. Paasilta P, Pihlajamaa T, Annunen S, Brewton RG, Wood BM, Johnson CC, Liu J, Gong Y, Warman ML, Prockop DJ, Mayne R, Ala-Kokko L. Complete sequence of the 23-kilobase human COL9A3 gene. Detection of Gly-X-Y triplet deletions that represent neutral variants. *J Biol Chem* 1999; 274(32): 22469-22475.
57. Paasilta P, Lohiniva J, Annunen S, Bonaventure J, Le Merrer M, Pai L, Ala-Kokko L. COL9A3: A third locus for multiple epiphyseal dysplasia. *Am J Hum Genet* 1999; 64(4): 1036-1044.
58. Paasilta P, Lohiniva J, Göring HH, Perälä M, Ränkä SS, Karppinen J, Hakala M, Palm T, Kröger H, Kaitila I, Vanharanta H, Ott J, Ala-Kokko L. Identification of a novel common genetic risk factor for lumbar disk disease. *JAMA* 2001; 285(14): 1843-1849.
59. Pihlajamaa T, Vuoristo MM, Annunen S, Perälä M, Prockop DJ, Ala-Kokko L. Human COL9A1 and COL9A2 genes. Two genes of 90 and 15 kb code for similar polypeptides of the same collagen molecule. *Matrix Biol* 1998; 17(3): 237-241.
60. Pluijm SM, van Essen HW, Bravenboer N, Uitterlinden AG, Smit JH, Pols HA, Lips P. Collagen type I alpha1 Sp1 polymorphism, osteoporosis, and intervertebral disc degeneration in older men and women. *Ann Rheum Dis* 2004; 63(1): 71-77.
61. Pope MH, Goh KL, Magnusson ML. Spine ergonomics. *Annu Rev Biomed Eng* 2002; 4: 49-68.
62. Rathod TN, Chandanwale AS, Gujrathi S, Patil V, Chavan SA, Shah MN. Association between single nucleotide polymorphism in collagen IX and intervertebral disc disease in the Indian population. *Indian J Orthop* 2012; 46(4): 420-426.
63. Reitz C, van Rooij FJ, Soares HD, de Maat MP, Hofman A, Witteman JC, Breteler MM. Matrix metalloproteinase 3 haplotypes and plasma amyloid beta levels: The Rotterdam Study. *Neurobiol Aging* 2010; 31(4): 715-718.
64. Riggs BL. Vitamin D-receptor genotypes and bone density. *N Engl J Med* 1997; 337(2): 125-126.
65. Roberts S, Caterson B, Menage J, Evans EH, Jaffray DC, Eisenstein SM. Matrix metalloproteinases and aggrecanase: their role in disorders of the human intervertebral disc. *Spine* 2000; 25(23): 3005-3013.
66. Roughley P, Martens D, Rantakokko J, Alini M, Mwale F, Antoniou J. The involvement of aggrecan polymorphism in degeneration of human intervertebral disc and articular cartilage. *Eur Cell Mater* 2006; 11: 1-7.
67. Sambrook PN, MacGregor AJ, Spector TD. Genetic influences on cervical and lumbar disc degeneration: a magnetic resonance imaging study in twins. *Arthritis Rheum* 1999; 42(2): 366-372.
68. Sasaki M, Tanaka Y, Sakuragi N, Dahiya R. Six polymorphisms on estrogen receptor 1 gene in Japanese, American and German populations. *Eur J Clin Pharmacol* 2003; 59(5-6): 389-393.
69. Schubert EL, Lee MK, Newman B, King MC. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the estrogen receptor gene and breast cancer susceptibility. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999; 71(1-2): 21-27.
70. Seki S, Kawaguchi Y, Chiba K, Mikami Y, Kizawa H, Oya T, Mio F, Mori M, Miyamoto Y, Masuda I, Tsunoda T, Kamata M, Kubo T, Toyama Y, Kimura T, Nakamura Y, Ikegawa S. A functional SNP in CILP, encoding cartilage intermediate layer protein, is associated with susceptibility to lumbar disc disease. *Nat Genet* 2005; 37(6): 607-612.
71. Shang XP, Sun XC, Wang YX, Ju BB. Association of BCL-2 polymorphism with the presence and severity of lumbar disc degeneration in the Chinese Han population. *Clin Lab* 2012; 58(3-4): 261-266.

72. Shupnik MA, Pitt LK, Soh AY, Anderson A, Lopes MB, Laws ER Jr: Selective expression of estrogen receptor alpha and beta isoforms in human pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3965-3972.
73. Solovieva S, Lohiniva J, Leino-Arjas P, Raininko R, Luoma K, Ala-Kokko L, Riihimäki H. COL9A3 gene polymorphism and obesity in intervertebral disc degeneration of the lumbar spine: evidence of gene-environment interaction. *Spine* 2002; 27(23): 2691-2696.
74. Solovieva S, Kouhia S, Leino-Arjas P, Ala-Kokko L, Luoma K, Raininko R, Saarela J, Riihimäki H. Interleukin 1 polymorphisms and intervertebral disc degeneration. *Epidemiology* 2004; 15(5): 626-633.
75. Solovieva S, Lohiniva J, Leino-Arjas P, Raininko R, Luoma K, Ala-Kokko L, Riihimäki H. Intervertebral disc degeneration in relation to the COL9A3 and the IL-1ss gene polymorphisms. *Eur Spine J* 2006; 15(5): 613-619.
76. Solovieva S, Nojonen N, Männikkö M, Leino-Arjas P, Luoma K, Raininko R, Ala-Kokko L, Riihimäki H. Association between the aggrecan gene variable number of tandem repeats polymorphism and intervertebral disc degeneration. *Spine* 2007; 32(16): 1700-1705.
77. Sztrolovics R, Alini M, Roughley PJ, Mort JS. Aggrecan degradation in human intervertebral disc and articular cartilage. *Biochem J* 1997; 326 (Pt1): 235-241.
78. Takahashi M, Haro H, Wakabayashi Y, Kawaguchi T, Komori H, Shinomiya K. The association of degeneration of the intervertebral disc with 5a/6a polymorphism in the promoter of the human matrix metalloproteinase-3 gene. *J Bone Joint Surg* 2001; 83-B(4): 491-495.
79. Tilkeridis C, Bei T, Garantziotis S, Stratakis CA. Association 565 of a COL1A1 polymorphism with lumbar disc disease in young military recruits. *J Med Genet* 2005; 42(7): e44.
80. Tortorella MD, Malfait AM, Deccico C, Arner E. The role of ADAM-TS4 (aggrecanase-1) and ADAM-TS5 (aggrecanase-2) in a model of cartilage degradation. *Osteoarthritis Cartilage* 2001; 9(6): 539-552.
81. Tworek D, Kuna P. The role of interleukin 10 in allergic inflammation. *Pol Merkur Lekarski* 2005; 18(104): 125-128.
82. Uitterlinden AG, Burger H, Huang Q, Yue F, McGuigan FE, Grant SF, Hofman A, van Leeuwen JP, Pols HA, Ralston SH. Relation of alleles of the collagen type I alpha1 gene to bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1998; 338(15): 1016-1021.
83. Uitterlinden AG, Fang Y, Bergink AP, van Meurs JB, van Leeuwen HP, Pols HA. The role of vitamin D receptor gene polymorphisms in bone biology. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 197(1-2): 15-21.
84. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB, Pols HA, Van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 2004; 338(2): 143-156.
85. Urban JP, Roberts S. Degeneration of the intervertebral disc. *Arthritis Res Ther* 2003; 5(3): 120-130.
86. Van der Kraan PM, Vitters EL, de Vries BJ, van den Berg WB. High susceptibility of human articular cartilage glycosaminoglycan synthesis to changes in inorganic sulfate availability. *J Orthop Res* 1990; 8(4): 565-571.
87. Varlotta GP, Brown MD, Kelsey JL, Golden AL. Familial predisposition for herniation of a lumbar disc in patients who are less than twenty-one years old. *J Bone Joint Surg* 1991; 73-A(1): 124-128.
88. Videman T, Leppävuori J, Kaprio J, Battié MC, Gibbons LE, Peltonen L, Koskenvuo M. Intragenic polymorphisms of the vitamin D receptor gene associated with intervertebral

- disc degeneration. *Spine* 1998; 23(23): 2477-2485.
89. Videman T, Gibbons LE, Battié MC, Maravilla K, Vanninen E, Leppävuori J, Kaprio J, Peltonen L. The relative roles of intragenic polymorphisms of the vitamin d receptor gene in lumbar spine degeneration and bone density. *Spine* 2001; 26(3): 7-12.
90. Virtanen IM, Song YQ, Cheung KMC, Ala-Kokko L, Karppinen J, Ho DWH, Luk KDK, Yip SP, Leong JCY, Cheah KSE, Sham P, Chan D. Phenotypic and population differences in the association between CILP and lumbar 599 disc disease. *J Med Genet* 2007; 44: 285–288.
91. Watanabe H, Nakata K, Kimata K, Nakanishi I, Yamada Y. Dwarfism and age associated spinal degeneration of heterozygote cmd mice defective in aggrecan. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94(13): 6943-6947.
92. Weichetova M, Stepan JJ, Michalska D, Haas T, Pols HA, Uitterlinden AG. COLIA1 polymorphism contributes to bone mineral density to assess prevalent wrist fractures. *Bone* 2000; 26: 287–290.
93. Weiler C, Nerlich AG, Zipperer J, Bachmeier BE, Boos N. 2002 SSE Award Competition in Basic Science: expression of major matrix metalloproteinases is associated with intervertebral disc degradation and resorption. *Eur Spine J* 2002; 11(4): 308-320.
94. Ye S, Watts GF, Mandalia S, Humphries SE, Henney AM. Preliminary report: genetic variation in the human stromelysin promoter is associated with progression of coronary atherosclerosis. *Br Heart J* 1995; 73(3): 209-215.
95. Ye S. Polymorphism in matrix metalloproteinase gene promoters: implication in regulation of gene expression and susceptibility of various diseases. *Matrix Biol* 2000; 19(7): 623-629
96. Ye W, Ma RF, Su PQ, Huang DS, Liu SL, Chen WJ, Wang XG. Association of single nucleotide polymorphisms of IL-1b with lumbar disc disease. *Yi Chuan* 2007; 29(8): 923-928.
97. Yuan HY, Tang Y, Liang YX, Lei L, Xiao GB, Wang S, Xia ZL. Matrix metalloproteinase-3 and vitamin d receptor genetic polymorphisms, and their interactions with occupational exposure in lumbar disc degeneration. *J Occup Health* 2010; 52(1): 23-30.
98. Zhu GB, Jiang XR, Xia CL, Sun YJ, Zeng QS, Wu XM, Li XC. Association of FAS and FAS ligand polymorphisms with the susceptibility and severity of lumbar disc degeneration in Chinese Han population. *Biomarkers* 2011; 16(6): 485-490.