



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ ΣΧΟΛΗ  
ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΤΟΜΕΑΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ  
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Α. ΑΡΒΑΝΙΤΗΣ**

---

**Διδακτορική Διατριβή**

**«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΣΗΣ ΜΕ Ο-N-ΑΚΕΤΥΛΟΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗ  
ΣΤΟΥΣ ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΟΥΣ ΔΙΣΚΟΥΣ ΜΕ ΚΗΛΗ»**

**υπό  
ΓΕΩΡΓΙΟΥ Α. ΝΙΚΟΛΑΟΥ**

**Ειδικευόμενου Γενικής Χειρουργικής**

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των  
απαιτήσεων για την απόκτηση του  
Διδακτορικού Διπλώματος  
Λάρισα, 2014

© 2014 Γεώργιος Α. Νικολάου

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής  
Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των  
απόψεων του συγγραφέα (Ν. 5343/32 αρ. 202 παρ.2)

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής

- 1ος Εξεταστής (Επιβλέπων) Δρ. Μάρκος Σγάντζος, Φυσίατρος  
Επίκουρος Καθηγητής Ανατομίας, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 2ος Εξεταστής Δρ. Δημήτριος Αρβανίτης, Παθολογοανατόμος  
Καθηγητής Ανατομίας-Ιστολογίας-Εμβρυολογίας, Τμήμα  
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 3ος Εξεταστής Δρ. Ευστράτιος Πατσούρης,  
Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Ιατρικής,  
ΕΚΠΑ και Κοσμήτορας Σχολής Υγείας ΕΚΠΑ
- 4ος Εξεταστής Δρ. Σοφία Τσελένη-Μπαλαφούτα  
Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Ιατρικής, ΕΚΠΑ
- 5ος Εξεταστής Δρ. Αικατερίνη Βάσιου, Ακτινολόγος  
Επίκουρος Καθηγήτρια Ανατομίας, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 6ος Εξεταστής Δρ. Αριστείδης Ζιμπής, Ορθοπαιδικός  
Επίκουρος Καθηγητής Ανατομίας, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 7ος Εξεταστής Δρ. Σωτήριος Σωτηρίου, Μαιευτήρας – Γυναικολόγος  
Επίκουρος Καθηγητής Εμβρυολογίας, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Αφιερώνεται στη μνήμη του πατέρα μου

Γεώργιος Νικολάου

**“ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΣΗΣ ΜΕ Ο-N-ΑΚΕΤΥΛΟΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗ  
ΣΤΟΥΣ ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΟΥΣ ΔΙΣΚΟΥΣ ΜΕ ΚΗΛΗ”**

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ Α. ΝΙΚΟΛΑΟΥ**

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2014

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

1. Δρ. Μάρκος Σγάντζος, Επίκουρος Καθηγητής Ανατομίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (Επιβλέπων)
2. Δρ. Δημήτριος Αρβανίτης, Καθηγητής Ανατομίας-Ιστολογίας-Εμβρυολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
3. Δρ. Αικατερίνη Βάσιου, Επίκουρος Καθηγήτρια Ανατομίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η διεκπεραίωση της εργασίας για τη διδακτορική μου διατριβή αποτέλεσε ένα ευχάριστο και μεστό επιστημονικό ταξίδι για μένα. Αρχικά θέλω να ευχαριστήσω τους ανθρώπους και επιστήμονες που γνώρισα και με βοήθησαν να περατώσω το έργο της διατριβής. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Δ. Λ. Αρβανίτη για την παραχώρηση του υλικού και τη μελέτη του αντικειμένου της διατριβής, καθώς επίσης και για την παραχώρηση των εγκαταστάσεων του εργαστηρίου της Ανατομίας για την διεξαγωγή των πειραμάτων, αλλά πάνω απ' όλα για την μύηση που μου προσέφερε στις ιστολογικές τεχνικές και ιδιαίτερα στην ανοσοϊστοχημεία, τεχνικές που έχουν προσφέρει πολλά στην ιατρική έρευνα. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή Ανατομίας κ. Μάρκο Σγάντζο του επιβλέποντα της τριμελούς Επιτροπής για την αμέριστη καθοδήγησή του για την επιστημονική και διαδικαστική διεκπεραίωση του έργου, καθώς επίσης και την Επίκουρο Καθηγήτρια κ. Αικατερίνη Βάσιου, μέλος της τριμελούς Επιτροπής, για τη συνεχή και ακάματο συμπαράστασή της.

Ευελπιστώ ότι τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας θα προσθέσουν ένα λιθαράκι, στην περαιτέρω κατανόηση της εκφύλισης και της επακόλουθης κήλης των μεσοσπονδύλιων δίσκων, μιας συχνής παθολογικής κατάστασης, που μετά από την ταλαιπωρία που προξενεί σε εκατομμύρια πάσχοντες παγκοσμίως, αποτελεί και μία οικονομική αιμορραγία για τις κοινωνίες, δεδομένου ότι προσβάλλει άτομα στην παραγωγική ηλικία της ζωής, με αποτέλεσμα την απώλεια εκατομμυρίων εργατοημερών.

Λάρισα 2014

Γεώργιος Α. Νικολάου

## **ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ**

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....                         | 8  |
| SUMMARY.....                          | 9  |
| <b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>                   |    |
| ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ.....                      | 11 |
| ΑΝΑΤΟΜΙΑ.....                         | 13 |
| ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΟΣ ΔΙΣΚΟΣ.....            | 15 |
| ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ.....                       | 17 |
| ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ.....                   | 18 |
| ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ.....                        | 24 |
| ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΗΣ ΕΚΦΥΛΙΣΗΣ .....  | 39 |
| Η Ο-GlcNAc ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ.....           | 41 |
| ΕΙΚΟΝΕΣ.....                          | 56 |
| <b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>                   |    |
| ΥΛΙΚΟ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ – ΜΕΘΟΔΟΙ.....        | 64 |
| ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ..... | 71 |
| ΕΙΚΟΝΕΣ.....                          | 73 |
| ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....                         | 88 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....                     | 93 |

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή : Οι μεσοσπονδύλιοι δίσκοι είναι τα μεγαλύτερα σε μέγεθος ανατομικά στοιχεία του ανθρώπινου σώματος που στερούνται αγγείων, με αποτέλεσμα τα κύτταρά τους να είναι επιρρεπή στην υποξία και στην οξείωση, δυο σημαντικούς παράγοντες του κυτταρικού στρες. Η μετα-μεταφραστική γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών με το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη στις ρίζες των υδροξυλίων (O-GlcNAc) των αμινοξέων σερίνης και θρεονίνης συμβαίνει σε πλήθος πρωτεϊνών, που επηρεάζουν ευάριθμες κυτταρικές λειτουργίες, μεταξύ των οποίων την αντίσταση των κυττάρων στο στρες. Η O-GlcNAc είναι αμφίδρομη δυναμική διαδικασία, με την προσθήκη του σακχάρου να γίνεται από το ένζυμο τρανσφεράση της O-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGT) και η αφαίρεση του από το ένζυμο γλυκοζαμινιδάση (OGA).

Σκοπός : Ο σκοπός της παρούσης εργασίας ήταν η μελέτη της γλυκοζυλίωσης με N-ακετυλογλυκοζαμίνη των πρωτεϊνών των κυττάρων των μεσοσπονδύλιων δίσκων που είχαν υποστεί εκφύλιση και κήλη.

Υλικό και Μέθοδος : Το υλικό αποτελείται από 56 περιπτώσεις χειρουργικών ιστολογικών παρασκευασμάτων κηλών μεσοσπονδύλιων δίσκων, που πάρθηκαν από το αρχείο της παθολογοανατομικής μονάδας του εργαστηρίου Ανατομίας του Ιατρικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η εντόπιση της γλυκοζυλίωσης έγινε με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας, συγχρόνως δε εντοπίστηκαν και τα ένζυμα της γλυκοζυλίωσης δηλαδή η τρανσφεράση (OGT) και η γλυκοζαμινιδάση (OGA). Τα πρωτεύοντα αντίσωμα αγοράστηκαν από το εμπόριο και συγκεκριμένα το αντίσωμα για την εντόπιση της γλυκοζυλίωσης (O-GlcNAc), που χρησιμοποιήθηκε είναι το μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού RL2 από την Thermo Scientific, το αντίσωμα για την OGT είναι πολυκλωνικό αντίσωμα κουνελιού από την Thermo Scientific και το αντίσωμα για την OGA είναι πολυκλωνικό αντίσωμα κουνελιού από την Sigma. Για την όλη διαδικασία της ανοσοϊστοχημείας χρησιμοποιήθηκε το Genemed polymer HRT kit με δεύτερο αντίσωμα, αντίσωμα κατσίκας. Η διαβάθμιση των κυτταρικών αλλοιώσεων των εκφυλισμένων δίσκων έγινε σύμφωνα με το Boos (2002).

Αποτελέσματα : Στις θετικές περιπτώσεις δείχθηκε τόσο πυρηνική όσο και κυτταροπλασματική χρώση και για τα τρία μελετηθέντα στοιχεία δηλαδή την O-GlcNAc, την OGT και την OGA. Γενικώς η O-GlcNAc αύξανε σε ένταση παράλληλα με την αύξηση της βαρύτητας της εκφύλισης των δίσκων, με τη πυρηνική χρώση να είναι υψηλότερη σε σύγκριση με την κυτταροπλασματική χρώση. Η OGT χρώση έδειξε ακριβώς παράλληλη πορεία έκφρασης συγκριτικά με τη χρώση της O-GlcNAc. Η OGA αν και έδειξε μια αντίστροφη πορεία έκφρασης, σε σχέση με την έκφραση της O-GlcNAc και της OGT, αυτή δεν ήταν ακριβώς αντιστρόφως παράλληλη, δεδομένου ότι η μεσαίου βαθμού αλλοιώσεις έδειξαν αρνητική χρώση στο σύνολο των περιπτώσεων.

Τελικό Συμπέρασμα : Η γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών των κυττάρων των μεσοσπονδύλιων δίσκων με εκφύλιση και κήλη με το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη, αυξάνεται παράλληλα με τη βαρύτητα των αλλοιώσεων των εκφυλισμένων δίσκων.



## SUMMARY

Ph.D Thesis. Dr. George A. Nikolaou. Title: <<Study of Glycosylation with O-N-Acetylglucosamine of the Prolapsed Intervertebral Discs>>

**Introduction:** The intervertebral discs constitute the largest components of the human body which are devoid of blood vessels. As a result, their cells are prone to hypoxia and acidosis, two important factors of cellular stress. The post-translational modification of the proteins with the sugar N- acetylglucosamine which is united with the hydroxyl residues of serine and threonine aminoacids and is called O-linked-N-acetylglucosamine glycosylation (O-GlcNAc) occurs in many proteins which are involved in several important biological processes, including the tolerance to cellular stress. O-GlcNAc is a dynamic process and the enzyme which adds the N-acetylglucosamine from the donor molecule UDP-GlcNAc is a transferase called in brief (OGT), whereas the enzyme which removes the N-acetylglucosamine is a hexoseaminidase called in brief (OGA).

**Purpose:** The purpose of the current work was the study of O-GlcNAc of the proteins of the intervertebral disc cells which were degenerated and were prolapsed.

**Materials and Methods:** The materials were composed of 56 surgically removed tissues from prolapsed intervertebral discs, from the archives of the pathology unit of the department of Anatomy of the University of Thessaly Medical School.

The localization of the O-GlcNAc was achieved by immunohistochemistry, with concurrent localization of the enzymes involved in the O-GlcNAc, namely OGT and OGA.

The primary antibodies were purchased commercially and specifically the antibody for the detection and localization of the O-GlcNAc was the monoclonal mouse RL2 antibody purchased from Thermo Scientific Company, the antibody for the localization of the OGT was a rabbit polyclonal antibody purchased from Thermo Scientific and the antibody for the localization of the OGA was a polyclonal rabbit antibody purchased from Sigma. The immunohistochemistry procedure was carried out with the Genemed polymer HRT kit which as a secondary antibody contains a goat antibody.

The grading of the cellular lesions of the degenerated intervertebral discs became according to Boos 2002 classification.

**Results:** Positive cases showed nuclear and cytoplasmic staining for the three studied elements, namely for O-GlcNAc, OGT and OGA.

In general, the O-GlcNAc was increased in intensity parallel to the increase of the gravity of the degeneration of the intervertebral discs with the nuclear staining to be higher compared to cytoplasmic staining. The OGT staining showed exactly a parallel course of expression compared to that of O-GlcNAc expression. The OGA, although showed an inverse course of expression in relation to the expression of O-GlcNAc and OGT, this course was not exactly the inverse parallel course, taking into account, that the moderate grade degenerated lesions showed negative staining in all cases of this group.

**Final Conclusion:** The glycosylation of the proteins with the sugar N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) of the intervertebral prolapsed disc cells, increases in parallel to the increased gravity of the lesions of the degenerated discs.

# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ

Το παραξονικό μεσόδερμα ή μεταμερής μοίρα του μέσου βλαστικού δέρματος διαιρείται εγκάρσια σε αλληλοδιάδοχα τμήματα, τους σωμίτες, κατά το τέλος της 3ης εβδομάδας.

Η ανάπτυξη της αρχικής ταινίας και της νωτιαίας χορδής εξελίσσεται κεφαλουραία. Το ίδιο συμβαίνει και κατά το σχηματισμό των σωματιών, από τους οποίους οι πρώτοι εμφανίζονται αμέσως πίσω από το πρόσθιο άκρο της νωτιαίας χορδής. Η μεταμέρεια του παραξονικού μεσοδέρματος επεκτείνεται στη συνέχεια προς το ουραίο άκρο και ολοκληρώνεται στο τέλος της 5ης εβδομάδας. Συνολικά σχηματίζονται 42-44 ζεύγη σωματιών. Οι πρώτοι σωμίτες αρχίζουν να διαφοροποιούνται πριν ακόμη συμπληρωθεί η ανάπτυξη των τελευταίων και συνεπώς δεν είναι δυνατόν να αναγνωριστούν συγχρόνως όλα τα ζεύγη. Μόνο 31 ζεύγη διατηρούνται και αναπτύσσονται δηλαδή ένα για κάθε νωτιαίο νεύρο. Τα υπόλοιπα εκφυλίζονται. Ανάλογα με τη θέση και τη μελλοντική συμβολή τους στο σχηματισμό της κεφαλής και της σπονδυλικής στήλης διακρίνονται: 4 ινιακοί, 8 αυχενικοί, 12 θωρακικοί, 5 οσφυϊκοί, 5 ιεροί και 8-10 κοκκυγικοί σωμίτες. Σε εγκάρσια διατομή έχουν τριγωνικό σχήμα και εμφανίζουν κοιλότητα που σύντομα αποφράσσεται. Η μια πλευρά του τριγώνου βρίσκεται απέναντι από το νευρικό σωλήνα ενώ η απέναντι γωνία συνεχίζεται στο διάμεσο μεσόδερμα. Κάθε σωμίτης αποτελείται από ένα πυκνό κυτταρικό άθροισμα επιθηλιοειδών κυττάρων που αρχικά απορίζεται σαφώς από το γύρω χαλαρό μεσεγγυματικό ιστό. Σύντομα όμως τα κύτταρα αυτά αρχίζουν να μεταναστεύουν προς διάφορες κατευθύνσεις.

Την 4η εβδομάδα οι σωμίτες διαφοροποιούνται σε τρία μέρη. Το κοιλιακό (έσω) τμήμα χάνει πρώτο το σαφές περίγραμμα, τα κύτταρα από επιθηλιοειδή γίνονται πολύμορφα και μεταναστεύουν προς τη νωτιαία χορδή και το νευρικό σωλήνα. Συνολικά ονομάζονται σκληροτόμιο και σχηματίζουν ένα χαλαρό ιστό, το μεσέγγυμα, που μπορεί να διαφοροποιηθεί σε ινοβλάστες, χονδροβλάστες και οστεοβλάστες, οι οποίες συμμετέχουν στο σχηματισμό των πλευρών και των σπονδύλων. Το τμήμα κάθε σωμίτη που παραμένει μετά το σχηματισμό των σκληροτομιών και τον αποχωρισμό τους από την αρχική θέση, είναι γνωστό ως δερμομυοτόμιο και διαιρείται σε ραχιαίο και έξω τμήμα. Το ραχιαίο τμήμα ονομάζεται μυοτόμιο και αποτελείται από ατρακτοειδή κύτταρα που διαφοροποιούνται σε μυοβλάστες. Το έξω τμήμα ονομάζεται δερματομόμιο και διασπείρεται κάτω από το εξώδερμα σε όλη την επιφάνεια του σώματος σχηματίζοντας το χόριο (δερμίδα) του δέρματος.

Τα μυοτόμια σε σχέση με το νευρικό σωλήνα εντοπίζονται έτσι ώστε να φτάνουν εύκολα σ' αυτά τα αντίστοιχα νεύρα. Το μυοτόμιο κάθε σωμίτη δέχεται ένα νωτιαίο νεύρο που προορίζεται για τη νέρωση των μυϊκών παραγώγων του άσχετα με το πόσο μακριά από την αρχική τους θέση θα μεταναστεύσουν. Γι' αυτό το λόγο στον ενήλικο συχνά τα νεύρα ακολουθούν μακρά πορεία πριν καταλήξουν στο μυ που δέχεται τη νέρωση και ίσως το καλύτερο παράδειγμα του φαινομένου αυτού αποτελεί το φρενικό νεύρο. Από τη ραχιαία αορτή που πρόσκειται της περιοχής των σωματιών προέρχονται οι μεσοτμηματικές αρτηρίες που όπως υποδηλώνει το όνομα τους κατανέμονται μεταξύ των σωματιών ενώ τα νωτιαία νεύρα έχουν τμηματική θέση. Η σημασία της θέσης αυτής εκτιμάται σε συνδυασμό με την ανάπτυξη των σπονδύλων.

## ΤΑ ΣΚΛΗΡΟΤΟΜΙΑ ΚΑΙ Η ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΣΠΟΝΔΥΛΩΝ

Την 4η εβδομάδα της ανάπτυξης τα κύτταρα των σκληροτομιών μεταναστεύουν από την αρχική θέση τους και φέρονται προς τη μέση γραμμή όπου μερικά περιβάλλουν το νευρικό σωλήνα ενώ άλλα -τα περισσότερα- κατανέμονται γύρω από τη νωτιαία χορδή. Οι μεσεγγυματικοί στύλοι που σχηματίζονται παρουσιάζουν μεταμέρεια καθώς οι ομάδες των κυττάρων από κάθε σκληροτόμιο χωρίζονται από εγκάρσια φερόμενες αραιότερες περιοχές που περιέχουν τις μεσοτηματικές αρτηρίες. Στη συνέχεια της ανάπτυξης κάθε σκληροτόμιο χωρίζεται σε κεφαλικό και ουραίο τμήμα. Το πρώτο αποτελείται από αραιό μεσεγγυματικό ιστό ενώ στο δεύτερο, με έντονο κυτταρικό πολλαπλασιασμό δημιουργείται πυκνός ιστός που επεκτείνεται και στη μεσοτηματική περιοχή. Αργότερα τα ουραία πυκνά μέρη των σκληροτομιών ενώνονται μεταξύ τους στη μέση γραμμή αλλά και με τα κεφαλικά τμήματα των αμέσως υποκειμένων σκληροτομιών και σχηματίζουν με αυτά την καταβολή του σώματος ενός οριστικού σπονδύλου. Ο αραιός μεσεγγυματικός ιστός περιλαμβάνεται στο σχηματιζόμενο οριστικό σπόνδυλο, οι μεσοτηματικές αρτηρίες βρίσκονται τώρα στο μέσο περίπου του σπονδυλικού σώματος ενώ τα νεύρα κατανέμονται αντίστοιχα προς τα μεσοσπονδύλια διαστήματα. Αποτέλεσμα της ανάπτυξης των οριστικών σπονδύλων είναι ότι το σύστοιχο μυοτόμιο κάθε σκληροτομίου συνδέεται με δύο παρακείμενους σπονδύλους και έτσι εξασφαλίζεται η κινητικότητα της σπονδυλικής στήλης.

Το σχηματισμό του σπονδυλικού σώματος ακολουθεί η ανάπτυξη δύο αποφύσεων με διαφορετική κατεύθυνση, της ραχιαίας ή νευρικού τόξου και του πλευρικού τόξου. Το ραχιαίο τόξο φέρεται πίσω και έξω από το μυελικό σωλήνα, ενώνεται πίσω από αυτόν με το όμοιο του από το άλλο πλάγιο και σχηματίζεται έτσι η καταβολή του σπονδυλικού τόξου και το σπονδυλικό τμήμα. Το πλευρικό τόξο φέρεται κοιλιακά μεταξύ των μυοτομιών και αποτελεί την καταβολή των πλευρών και των πλευροειδών αποφύσεων των σπονδύλων.

Η χονδροποίηση (μετατροπή των μεσοδερματικών κυττάρων σε χονδροκύτταρα) των σπονδύλων αρχίζει την 7η εμβρυική εβδομάδα με την εμφάνιση πυρήνων χονδροποίησης και ολοκληρώνεται με το σχηματισμό του χονδρίνου σπονδυλικού μοντέλου στο τέλος του 2ου εμβρυικού μήνα, εκτός από τα οπίσθια άκρα των ραχιαίων τόξων που παραμένουν σε μεμβρανώδη κατάσταση μέχρι τον 4ο εμβρυικό μήνα.

Η οστεοποίηση του χονδρίνου σπονδυλικού μοντέλου αρχίζει την 9η εμβρυική εβδομάδα με σχηματισμό τριών κέντρων. Το ένα εντοπίζεται στη περιοχή του μελλοντικού σώματος του σπονδύλου και τα άλλα δύο σε κάθε ραχιαίο τόξο. Σαφώς αφορισόμενα κέντρα οστεοποίησης αναγνωρίζονται από τη 12η εβδομάδα στις ακανθώδεις αποφύσεις, στις πλευρές και στα σώματα των σπονδύλων.

Μετά τη γέννηση και από το 3ο έτος τα οστείνα τμήματα των ραχιαίων τόξων ενώνονται μεταξύ τους και με το κέντρο έτσι ώστε η οστεοποίηση να είναι σχεδόν πλήρης εκτός από ορισμένα δευτερογενή κέντρα που εμφανίζονται μετά την ήβη και οστεοποιούνται αργότερα. Οι θέσεις αυτών είναι η άνω και κάτω επιφάνεια του σπονδυλικού σώματος και οι κορυφές της ακανθώδους και των εγκαρσίων αποφύσεων.

## Η ΤΥΧΗ ΤΗΣ ΝΩΤΙΑΙΑΣ ΧΟΡΔΗΣ

Το τμήμα της νωτιαίας χορδής που περικλείεται στο σπονδυλικό σώμα υποπλάσσεται και εξαφανίζεται. Αντίθετα, στο κεντρικό τμήμα του μεσοσπονδύλιου δίσκου τα κύτταρα της νωτιαίας χορδής σχηματίζουν τον πηκτοειδή πυρήνα. Από τα υπολείμματα της νωτιαίας χορδής είναι δυνατόν να αναπτυχθούν χορδώματα, δηλαδή όγκοι που εντοπίζονται συνήθως στην ιεροκοκκυγική ή σφηνοϊνιακή περιοχή.

## ΑΝΑΤΟΜΙΑ

### ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΟΙ ΔΙΣΚΟΙ

Κάθε μεσοσπονδύλιος δίσκος αποτελείται από έναν εξωτερικό ινώδη δακτύλιο και από ένα μαλακό ζελατινοειδή πυρήνα, τον πηκτοειδή πυρήνα, ο οποίος περιέχει υπολείμματα της νωτιαίας χορδής. Ο ιώδης δακτύλιος αποτελείται από συγκεντρικάδιαταγμένες κολλαγόνες ίνες και από ινώδη χόνδρο και ο οποίος συγκρατεί τον πηκτοειδή πυρήνα υπό τάσιν. Οι μεσοσπονδύλιοι δίσκοι βρίσκονται μεταξύ των σωμάτων των σπονδύλων. Σε μία οβελιαία διατομή έχουν σχήμα κωνικό. Στην αυχενική και οσφυϊκή μοίρα είναι ψηλότεροι μπροστά και χαμηλότεροι πίσω. Το αντίθετο συμβαίνει στη θωρακική μοίρα, όπου οι δίσκοι είναι χαμηλότεροι μπροστά και ψηλότεροι πίσω. Βασικά, το πάχος των μεσοσπονδυλίων δίσκων αυξάνεται από την κρανιακή προς την ουραία κατεύθυνση.

Οι μεσοσπονδύλιοι δίσκοι περιέχουν τα υαλοειδή χόνδρινα πέταλα που προέρχονται από τις επιφύσεις των σπονδυλικών σωμάτων. Αυτή η λειτουργική μονάδα αντιπροσωπεύει ένα σημαντικό μέρος του τμήματος της κίνησης. Επιπρόσθετα, οι μεσοσπονδύλιοι δίσκοι συγκρατούνται επίσης στη θέση τους από τους επιμήκεις συνδέσμους. Ο οπίσθιος επιμήκης σύνδεσμος ενώνεται στερεά με τους δίσκους σε αρκετή έκταση της επιφάνειάς τους, ενώ ο πρόσθιος επιμήκης σύνδεσμος προσφύεται μόνο χαλαρά στους δίσκους. Οι μεσοσπονδύλιοι δίσκοι και οι επιμήκεις σύνδεσμοι σχηματίζουν μία λειτουργική οντότητα και όλοι μαζί είναι γνωστοί ως η μεσοσπονδύλια σύμφυση.

**Λειτουργία:** Οι μεσοσπονδύλιοι δίσκοι δρουν ως απορροφητήρες δονήσεων. Ο πηκτοειδής πυρήνας κατανέμει την πίεση. Τα φορτία τους συμπιέζουν και όταν φεύγει το φορτίο, οι δίσκοι αποκτούν πάλι το αρχικό σχήμα τους μετά από κάποιο διάστημα. Στις κινήσεις της σπονδυλικής στήλης οι μεσοσπονδύλιοι δίσκοι, ως ελαστικά στοιχεία, συμπιέζονται ή εκτείνονται μονόπλευρα.

**Κλινική σημείωση:** με την πάροδο της ηλικίας, ελάττωση της εσωτερικής πίεσεως έχει ως αποτέλεσμα τη συρρίκνωση του πηκτοειδούς πυρήνα. Αυτό αποτελεί αιτία ελάττωσης της τάσης του ιώδους δακτυλίου και έτσι αυτός σχίζεται ευκολότερα. Βασικά, κάθε σχίσσιμο αρχίζει στην περιοχή του πηκτοειδούς πυρήνα. Οι σχισμές που κατευθύνονται ακτινοειδώς (οι οποίες δημιουργούνται από υπερβολικά φορτία ακόμα και στους νέους) πρέπει να διακρίνονται από τις συγκεντρικές σχισμές. Οι τελευταίες σχετίζονται με εκφυλιστικές διαδικασίες. Τελικώς, τμήματα του μεσοσπονδύλιου δίσκου μπορεί να παρεκτοπιστούν. Η παρεκτόπιση και η διήθηση του παρακείμενου σπονδυλικού σώματος είναι γνωστή ως "οζίδιο του Schmorl". Αυτή είναι σαφώς ορατή στις ακτινογραφίες. Η κήλη του πηκτοειδούς πυρήνα συμβαίνει όταν ο ζελατινώδης πηκτοειδής πυρήνας ωθείται ραχιαία και πλάγια μέσα στο σπονδυλικό σωλήνα έπειτα από βλάβη του ιώδους δακτυλίου. Αυτό μπορεί να θέσει

σε κίνδυνο το νωτιαίο μυελό ή μεμονωμένες ρίζες νωτιαίων νεύρων ή και νωτιαία νεύρα.

Η κήλη του πηκτοειδούς πυρήνα είναι πιο συχνή μεταξύ του τρίτου και τέταρτου οσφυϊκού σπονδύλου, καθώς επίσης και του τέταρτου και πέμπτου οσφυϊκού σπονδύλου. Επιπλέον, συχνά προσβάλλει του δυο κατώτερους αυχενικούς μεσοσπονδύλιους δίσκους μεταξύ του πέμπτου και έκτου, ή του έκτου και του έβδομου αυχενικού σπονδύλου. Η πρόπτωση ενός δίσκου (π.χ. του πηκτοειδούς πυρήνα) αναπτύσσεται μετά από μία πλήρη ρήξη του ινώδους δακτυλίου. Η ελάττωση της τάσεως του ινώδους δακτυλίου μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια της ελαστικότητός του, η οποία ακολουθείται από διήθηση από οστεοβλάστες με αποτέλεσμα την οστεοποίηση τμημάτων του δίσκου.

## ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΟΣ ΔΙΣΚΟΣ

### ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ - ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ - ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Ο Μεσοσπονδύλιος Δίσκος βρίσκεται ανάμεσα στα σώματα των σπονδύλων, συνδέοντας τα μεταξύ τους. Αποτελείται από τον πηκτοειδή πυρήνα, τον ινώδη δακτύλιο και τα χονδροειδή τελικά πέταλα. Η αιμάτωση του Δίσκου γίνεται μόνον στα τελικά πέταλα. Η διανεύρωση παρέχεται βασικά από το μηνιγγικό νεύρο. Βιοχημικά, ο Δίσκος αποτελείται κυρίως από ίνες κολλαγόνου ελαστικής και αγγρεκάνης. Με το πέρασμα των χρόνων ο Δίσκος εκφυλίζεται, χάνεται η οσμωτική πίεση του πηκτοειδούς πυρήνα ο οποίος αφυδατώνεται και το ύψος/πάχος του Δίσκου μειώνεται. Κατά τη διάρκεια των αλλαγών αυτών αλογόνο υλικό του πυρήνα εκτοπίζεται και χύνεται έξω από το χείλος του Δακτυλίου. Αυτή είναι και η αιτία του δισκογενούς πόνου. Παράλληλα ο εκφυλισμός του Δίσκου με τη μείωση ύψους/πάχους, επιδρά στις παραπλήσιες δομές όπως είναι ο Ωχρός σύνδεσμος, οι γληνεις αρθρώσεις και το νευρικό κανάλι. Αυτή είναι και η κύρια αιτία σπονδυλικής στένωσης και νευρόπνου/ακτινωτού πόνου εξ αιτίας της εκφύλισης του Δίσκου στους ηλικιωμένους. Η διάγνωση ακολουθεί αυστηρό πρωτόκολλο και οι επιλογές θεραπείας αναλύονται παρακάτω. Οι νέες θεραπείες επικεντρώνονται στην υποκατάσταση βιοχημικών συστατικών, την μεγέθυνση του πηκτοειδούς πυρήνα, την αναγέννηση του τελικού πετάλου και τέλος την εμφύτευση συνθετικού δίσκου. Ο πόνος στη πλάτη είναι μείζον πρόβλημα της δημόσιας υγείας στην εκβιομηχανισμένη δυτική κοινωνία. Η εξάπλωσή του αξιολογείται από πλήθος μελετών από 12% έως 35%,<sup>1</sup> με το 10% περίπου των ασθενών να εξελίσσεται σε χρόνια ανάπηρους. Επιπλέον αποτελεί πελώριο οικονομικό φορτίο στη κοινωνία. Ο πόνος στη πλάτη είναι έντονα συσχετισμένος με τον εκφυλισμό του Μεσοσπονδύλιου Δίσκου<sup>2</sup>. Αν και σε πολλές περιπτώσεις δεν συνοδεύεται από εκδήλωση συμπτωμάτων,<sup>3</sup> ο εκφυλισμός είναι συνδεδεμένος και με ισχιαλγία, δισκοκήλη και πρόπτωση μεσοσπονδύλιου δίσκου. Η μείωση του ύψους του Δίσκου αλλοιώνει τη μηχανική της σπονδυλικής στήλης και πιθανώς επηρεάζει δυσμενώς τη συμπεριφορά των λοιπών δομών όπως οι μύες και οι σύνδεσμοι. Μακροχρόνια μπορεί να οδηγήσει σε σπονδυλική στένωση, που είναι σημαντική αιτία πόνου και αναπηρίας στους ηλικιωμένους. Με την πληθυσμιακή αύξηση και την άνοδο του ορίου ηλικίας, η συχνότητά του αυξάνεται ραγδαία/γεωμετρικά. Οι Δίσκοι εκφυλίζονται πολύ νωρίτερα από άλλους μυοσκελετικούς ιστούς. Τα πρώτα αδιαμφισβήτητα ευρήματα εκφυλισμού σε οσφυϊκούς δίσκους έχουν βρεθεί στην ηλικιακή ομάδα των 11 έως 16 χρόνων.<sup>4</sup> Το 20% περίπου των εφήβων έχουν δίσκους με ήπιες ενδείξεις εκφυλισμού. Ο εκφυλισμός αυξάνεται ραγδαία με τα χρόνια, κυρίως στους άνδρες, τόσο που περίπου το 10% των δίσκων ηλικίας 50 ετών και το 60% των δίσκων ηλικίας 70 ετών είναι σοβαρά εκφυλισμένοι.<sup>5</sup>

### Ο ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΔΙΣΚΟΣ

Οι μεσοσπονδύλιοι δίσκοι είναι τοποθετημένοι ανάμεσα στους σπονδύλους του οποίους διατηρούν σε επικοινωνία. Είναι οι βασικές αρθρώσεις της σπονδυλικής στήλης και καταλαμβάνουν το 1/3 του ύψους της. Ο σημαντικότερος ρόλος τους είναι μηχανικός, αφού διοχετεύουν αδιάκοπα τα φορτία που δημιουργούνται στη σπονδυλική στήλη από το σωματικό βάρος και τη μυϊκή δραστηριότητα. Παρέχουν δε ευκαμψία σε αυτή επιτρέποντας κάμψη, τέντωμα και στρέψη. Έχουν κατά προσέγγιση 7 με 10 mm πάχος και 4 cm διάμετρο (πρόσθια και οπίσθια όψη) στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης.<sup>6,7</sup> Οι μεσοσπονδύλιοι δίσκοι είναι σύνθετες δομές που

απαρτίζονται από ένα παχύ εξωτερικό δακτύλιο από ινώδη χόνδρο, τον ινώδη δακτύλιο, ο οποίος περιβάλλει έναν ζελατινοειδή πυρήνα, τον πηκτοειδή πυρήνα. Ο πηκτοειδής πυρήνας "στριμώνεται" από πάνω και κάτω από τα Χόνδρινα τελικά πέταλα.

#### ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΠΗΚΤΟΕΙΔΗ ΠΥΡΗΝΑ

Ο πηκτοειδής πυρήνας που βρίσκεται στο κέντρο του δίσκου, περιέχει τυχαία οργανωμένες ίνες κολλαγόνου<sup>8</sup> και ίνες ελαστίνης σε ακτινωτή διάταξη<sup>9</sup> (το μήκος τους μπορεί να φτάσει τα 150 μm). Οι ίνες αυτές είναι εμφυτευμένες σε ένα πλούσια ενυδατωμένο τζελ αγγρεκάνης. Διέσπειρα σε χαμηλή πυκνότητα (περίπου 5000/mm<sup>3,10</sup>) υπάρχουν χονδροκύτταρα συχνά καθούμενα σε θαλάμους της θεμέλιας ουσίας. Τον πηκτοειδή πυρήνα περιβάλλει ο ινώδης δακτύλιος και το όριο μεταξύ τους είναι ιδιαίτερος ευδιάκριτο σε νέους κάτω των 10 ετών.

#### ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΙΝΩΔΗ ΔΑΚΤΥΛΙΟΥ

Η δομή του ινώδη δακτυλίου συνίσταται από 15 έως 25 ομόκεντρους δακτυλίους, τις λαμέλες,<sup>11</sup> με παράλληλα διατεταγμένες ίνες κολλαγόνου μέσα σε κάθε μία από αυτές. Οι ίνες κολλαγόνου είναι προσανατολισμένες σε γωνία 60 περίπου στον κατακόρυφο άξονα και εναλλάσσονται αριστερά και δεξιά του άξονα από λαμέλα σε λαμέλα.<sup>9</sup> Ίνες ελαστίνης κείνται ανάμεσα στις λαμέλες, που πιθανόν βοηθούν τον δίσκο να επανέλθει στη φυσική του κατάσταση μετά από κάμψη ή έκταση.

Επίσης δένουν τις λαμέλες μεταξύ τους, καθώς τις διαπερνούν ακτινωτά. τα κύτταρα του Δακτυλίου, κυρίως στην εξωτερική ζώνη, μοιάζουν με ινοβλάστες. Είναι επιμήκεις, λεπτοί και παρατεταγμένοι παράλληλα στις ίνες κολλαγόνου. Προς το εσωτερικό του Δακτυλίου το σχήμα των κυττάρων είναι περισσότερο οβάλ. Γενικά τα κύτταρα του Δίσκου, τόσο στο πυρήνα όσο και στο Δακτύλιο πιθανόν να έχουν μερικές λεπτές και μακριές προεκβολές (ψευδοπόδια) με μήκος που μπορεί να ξεπερνά τα 30μm.<sup>12,13</sup> Τέτοια χαρακτηριστικά δεν παρατηρούνται σε κύτταρα άλλων αρθρικών χόνδρων. Ο ρόλος τους είναι άγνωστος αλλά εικάζεται ότι λειτουργούν ως αισθητήρες και διαμοιραστές μηχανικού φορτίου στον ιστό.<sup>12</sup>

#### ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΧΟΝΔΡΙΝΟΥ ΤΕΛΙΚΟΥ ΠΕΤΑΛΟΥ

Το τρίτο μορφολογικά διακριτό τμήμα του μεσοσπονδύλιου δίσκου είναι μια λεπτή (με πάχος συνήθως μικρότερο του 1mm) επικάλυψη από υαλώδη χόνδρο, το χόνδρινο τελικό πέταλο. Αυτό διασύνδεει τον Δίσκο με το Σώμα του σπονδύλου. Περιέχει ίνες κολλαγόνου, διατεταγμένες οριζόντια και παράλληλα στο Σώμα του σπονδύλου, που συνεχίζουν και στο εσωτερικό του Δίσκου.<sup>7</sup>

#### ΑΙΜΑΤΩΣΗ ΚΑΙ ΝΕΥΡΩΣΗ ΤΟΥ ΔΙΣΚΟΥ

Ένας υγιής δίσκος ενήλικα έχει ελάχιστα ή καθόλου αγγεία. Έχει όμως κάποια νεύρα, περιορισμένα κυρίως στο εξωτερικό πετάλιο, από τα οποία μερικά καταλήγουν σε ιδιοδεκτικούς υποδοχείς.<sup>14</sup>

Το χόνδρινο τελικό πέταλο, όπως και άλλοι υαλοειδείς χόνδροι, στερείται αγγείων και νεύρων σε έναν υγιή ενήλικα. Τα αιμοφόρα αγγεία που εντοπίζονται στους παρακείμενους σε δίσκο επιμήκεις συνδέσμους και σε νεαρά χόνδρινα πέταλα



(μέχρι 12 μηνών), είναι παρακλάδια της νωτιαίας αρτηρίας.<sup>15</sup> Τα αγγεία αυτά συχνά συνοδεύονται από νεύρα, μπορεί όμως να παρατηρηθούν και μεμονωμένα/ανεξάρτητα νεύρα ως διακλαδώσεις του μηνιγγικού νεύρου ή προερχόμενα από τους κοιλιακούς ή τους φαιούς αναστομωτικούς κλάδους. Ένας μηνιγγικός κλάδος των νωτιαίων νεύρων γνωστός ως παλίνδρομο μηνιγγικό νεύρο, εκπηγάζει δίπλα από το χώρο του δίσκου, εξέρχεται από το νωτιαίο γάγγλιο και εισέρχεται στο τρήμα όπου διαιρείται σε δυο στελέχη, ένα μεγάλο ανιόν και ένα μικρότερο κατιόν. Σε μελέτες που έγιναν σε ζώα παρατηρήθηκε ότι επιπρόσθετοι προσαγωγοί νευρώνες που συνεισφέρουν στο μηνιγγικό νεύρο προκύπτουν μέσω των αναστομωτικών κλάδων από πολλαπλά ανώτερα και κατώτερα νωτιαία γάγγλια. Επιπροσθέτως, ο πρόσθιος επιμήκης σύνδεσμος λαμβάνει προσαγωγό νεύρωση από διακλαδώσεις που πηγάζουν από το νωτιαίο γάγγλιο. Ο οπίσθιος επιμήκης σύνδεσμος είναι πλούσια εφοδιασμένος με αλγογόνες ίνες από τον ανιόντα κλάδο του μηνιγγικού νεύρου. Τα νεύρα αυτά νευρώνουν επίσης και τα παρακείμενα εξωτερικά στρώματα του ινώδη δακτυλίου. Μερικά από τα νεύρα στους δίσκους έχουν νευρογλοιακά βοηθητικά κύτταρα ή κύτταρα Schwann παραπλεύρως.<sup>16</sup>

## ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

### ΑΛΛΑΓΕΣ ΚΑΤΑ ΤΟ ΓΗΡΑΣ ΤΟΥ ΔΙΣΚΟΥ

Κατά την ανάπτυξη και ωρίμανση του σκελετικού συστήματος το σύνορο μεταξύ ινώδους δακτυλίου και πηκτοειδή πυρήνα γίνεται λιγότερο σαφές. Ο πυρήνας γίνεται ινώδης και χάνει την ζελατινοειδή του φύση.<sup>17</sup> Με τη γήρανση και τον επακόλουθο εκφυλισμό η μορφολογία του δίσκου μεταβάλλεται με όλο και πιο αποδιοργανωμένη εξέλιξη. Συχνά τα δακτυλιοειδή πετάλια γίνονται ανώμαλα, διακλαδωμένα και συνυφασμένα. Το δίκτυο κολλαγόνου και ελαστίνης επίσης αποδιοργανώνονται. Συχνά παρατηρείται σχηματισμός σχισμής από ρωγμές που διαμορφώνονται στο εσωτερικό του δίσκου, ειδικά στο πυρήνα. Όλο και περισσότερα νεύρα και αγγεία εμφανίζονται με τον εκφυλισμό.<sup>14</sup> Ακολουθεί ραγδαίος κυτταρικός πολλαπλασιασμός που οδηγεί στο σχηματισμό ομάδων κυττάρων, ειδικά στον πυρήνα.<sup>18,19</sup> Κυτταρικός θάνατος επίσης λαμβάνει χώρα, με την παρουσία νεκρωτικών και σε φάση απόπτωσης κυττάρων.<sup>20,21</sup> Έχει αναφερθεί ότι περισσότερο από το 50% των κυττάρων σε έναν ενήλικο δίσκο είναι νεκρωτικά.<sup>20</sup> Παράλληλα υπάρχουν περιπτώσεις ήπιου σχηματισμού σχισμής και κοκκιωδών αλλαγών του πυρήνα σε άτομα ηλικίας μόλις 2 ετών. Με την αύξηση ηλικίας έχουμε και αύξηση συχνότητας εκφυλιστικών αλλαγών, συμπεριλαμβανομένων του κυτταρικού θανάτου, του ανεξέλεγκτου κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της βλενωδούς εκφύλισης, των κοκκιωδών αλλαγών και των ομοκεντρικών ρωγμών. Είναι δύσκολο να διαχωρίσουμε τις φυσικές αλλαγές λόγω γήρανσης από αυτές που έχουν παθολογική φύση.

### ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΤΟΥ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΔΙΣΚΟΥ

Οι μηχανικές λειτουργίες του δίσκου υλοποιούνται χάρη στην εξωκυτταρική θεμέλια ουσία. Η σύνθεσή της καθορίζει τις μηχανικές αντιδράσεις του δίσκου. Ο βασικός μηχανικός της ρόλος εκπληρώνεται από δυο κύρια μακρομοριακά συστατικά.

## ΙΝΕΣ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ

Το δίκτυο κολλαγόνου συνίσταται κυρίως από ινίδια κολλαγόνου τύπου I και II και αποτελεί το 70% και 20% του ξηρού βάρους του δακτυλίου και του πυρήνα αντίστοιχα.<sup>22</sup> Παρέχει σθεναρή ελαστικότητα στο δίσκο και δένει τον ιστό στο οστό.

## ΑΓΓΡΕΚΑΝΗ

Είναι η σημαντικότερη πρωτεογλυκάνη του δίσκου,<sup>23</sup> υπεύθυνη για τη διατήρηση της ενυδάτωσης του ιστού μέσω οσμωτικής πίεσης που παρέχουν τα συστατικά της, οι θεικές χονδροϊτίνες και κερατάνες.<sup>24</sup> Η περιεκτικότητα πρωτεογλυκανών και νερού είναι μεγαλύτερη στο πυρήνα (περίπου 15% και 80% του υγρού βάρους αντίστοιχα) από το δακτύλιο (περίπου 5% και 70% του υγρού βάρους αντίστοιχα).

## ΘΕΜΕΛΙΑ ΟΥΣΙΑ

Η θεμέλια ουσία είναι μια δυναμική δομή. Τα μόριά της συνεχώς διασπώνται από πρωτεϊνάσες, όπως η μεταλλοπρωτεϊνάση της θεμέλιας ουσίας και οι αγγρεκανάσες, που επίσης συντίθενται από κύτταρα του δίσκου.<sup>25-27</sup> Η ισορροπία μεταξύ σύνθεσης, διάσπασης και συσσώρευσης μακρομορίων θεμέλιας ουσίας καθορίζει την ποιότητα και ακεραιότητα της θεμέλιας ουσίας και κατά συνέπεια τη μηχανική συμπεριφορά του ίδιου του δίσκου. Η ακεραιότητα της θεμέλιας ουσίας είναι επίσης σημαντική και για τη διατήρηση της ελλείπουσας νεύρων και αγγείων φύσης του υγιούς δίσκου.

Ο μεσοσπονδύλιος δίσκος είναι συνήθως ενωμένος με αρθρικό χόνδρο. Υπάρχουν όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο ιστών, μια εκ των οποίων είναι η σύνθεση και δομή της αγγρεκάνης. Η αγγρεκάνη του δίσκου συντίθεται περισσότερο με θεικές κερατάνες σε σχέση με αυτή που βρίσκεται στο εσωτερικό του αρθρικού χόνδρου. Επιπλέον τα μόρια αγγρεκάνης είναι λιγότερο συγκεντρωτικά (30%) και περισσότερο ετερογενή, με μικρότερα και πιο αλλοιωμένα μέρη στον δίσκο από τον αρθρικό χόνδρο (80% συγκεντρωτικά) στο ίδιο άτομο.<sup>28</sup> Με την αύξηση ηλικίας η απόσπαση πρωτεογλυκανών από τη θεμέλια ουσία γίνεται όλο και πιο δύσκολη.<sup>23</sup>

## ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

### ΑΠΩΛΕΙΑ ΠΡΩΤΕΟΓΛΥΚΑΝΩΝ

Η σημαντικότερη βιοχημική αλλαγή που προκύπτει με την εκφύλιση του δίσκου είναι η απώλεια πρωτεογλυκανών.<sup>29</sup> Τα μόρια της αγγρεκάνης εκφυλίζονται και τα μικρότερα τμήματα διηθούνται από τον ιστό πιο άμεσα σε σχέση με τα μεγαλύτερα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια γλυκοζαμινογλυκανών, με συνέπεια την πτώση της οσμωτικής πίεσης της θεμέλιας ουσίας του δίσκου και επομένως την απώλεια ενυδάτωσης. Ακόμα όμως και σε εκφυλισμένους δίσκους τα κύτταρα μπορεί να διατηρήσουν την ικανότητά τους να συνθέτουν μόρια αγγρεκάνης με άθικτες περιοχές σύνδεσης με υαλουρονικό που έχουν τη προοπτική δημιουργίας συνόλων.<sup>23</sup> Λίγα γνωρίζουμε για το πως επηρεάζει ο εκφυλισμός του δίσκου τον πληθυσμό των πρωτεογλυκανών. Παρ' όλα αυτά φαίνεται πως η ποσότητα ντεκορίνης

και πιο συγκεκριμένα βιογλυκάνης στους εκφυλισμένους δίσκους είναι υψηλότερη από αυτή στους υγιείς.<sup>30</sup>

## ΑΠΩΛΕΙΑ ΙΝΩΝ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ

Παρ' όλο που η εκφύλιση/ αλλοίωση της θεμέλιας ουσίας σίγουρα επηρεάζει τον πληθυσμό του κολλαγόνου στο δίσκο, οι αλλαγές αυτές δεν είναι τόσο προφανείς όσο αυτές των πρωτεογλυκανών. Η συνολική ποσότητα κολλαγόνου αλλάζει ελάχιστα αλλά οι τύποι και η κατανομή κολλαγόνου μπορεί να μεταβληθούν. Μπορεί για παράδειγμα να υπάρξει μεταβολή στις αναλογίες των τύπων κολλαγόνου στις προφανείς θέσεις στη θεμέλια ουσία. Επιπλέον τα ινώδη κολλαγόνα, όπως τα τύπου II κολλαγόνα γίνονται περισσότερο μετουσιωμένα, αποτέλεσμα προφανώς ενζυμικής δραστηριότητας. Η ποσότητα μετουσιωμένου τύπου II κολλαγόνου αυξάνεται με τον εκφυλισμό.<sup>31,32</sup>

Παρ' όλα αυτά διασταυρωμένες μελέτες δείχνουν ότι όπως και με τις πρωτεογλυκάνες νέα μόρια κολλαγόνου δύναται να συντεθούν, τουλάχιστον στα πρώτα στάδια του εκφυλισμού, σε μια πιθανή απόπειρα επιδιόρθωσης.<sup>33</sup>

## ΑΥΞΗΣΗ ΤΗΣ ΦΙΜΠΡΟΝΕΚΤΙΝΗΣ

Αλλα συστατικά υπόκεινται σε αλλαγές στην ποσότητα ή την κατανομή λόγω του εκφυλισμού του δίσκου. Για παράδειγμα η περιεκτικότητα φιβρονεκτίνης αυξάνεται και κομματιάζεται.<sup>34</sup> Τα αυξημένα επίπεδα φιβρονεκτίνης μπορεί να διαστρεβλώνουν την αντίδραση των κυττάρων. Ανεξαρτήτως της αιτίας, ο σχηματισμός θραυσμάτων φιβρονεκτίνης συνεισφέρει στον κατακερματισμό του δίσκου, αφού επιβραδύνει τη σύνθεση αγγρεκάνης και επιταχύνει την *in vitro* παραγωγή της μεταλλοπρωτεΐνης θεμέλιας ουσίας.

## ΕΝΖΥΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

Η βιοχημεία του εκφυλισμού του δίσκου υποδεικνύει τη συνεισφορά ενζυματικής δραστηριότητας, όπως η θρυμματίση του κολλαγόνου πρωτεογλυκανών και φιβρονεκτίνων, σε αυτή τη διαταραχή. Πολλές οικογένειες ενζύμων είναι ικανές για διάσπαση των μορίων της θεμέλιας ουσίας του δίσκου, μεταξύ των οποίων είναι οι καθεψίνες, οι μεταλλοπρωτεΐνάσες θεμέλιας ουσίας, και οι αγγρεκανάσες. Οι καθεψίνες έχουν μέγιστη δραστηριότητα σε όξινες συνθήκες. Αντίθετα, για τις μεταλλοπρωτεΐνάσες θεμέλιας ουσίας και τις αγγρεκανάσες, βέλτιστες συνθήκες είναι το σχεδόν ουδέτερο pH. Όλα τα παραπάνω ένζυμα έχουν αναγνωρισθεί στο δίσκο.

## ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ ΔΙΣΚΟΥ ΛΟΓΩ ΕΚΦΥΛΙΣΜΟΥ

Η απώλεια πρωτεογλυκανών στους εκφυλισμένους δίσκους<sup>29</sup> έχει μεγάλη επίδραση στην ανθεκτικότητα του δίσκου. Η απώλεια πρωτεογλυκανών οδηγεί στην πτώση της οσμωτικής πίεσης<sup>35</sup> και ο φορτισμένος δίσκος δυσκολεύεται να διατηρήσει την ενυδάτωσή του υπό φορτίο. Οι εκφυλισμένοι δίσκοι έχουν μικρότερη περιεκτικότητα νερού από τους αντίστοιχης ηλικίας υγιείς δίσκους<sup>29</sup> και όταν φορτίζονται χάνουν ύψος<sup>36</sup> και υγρά πιο γρήγορα. Τότε οι δίσκοι τείνουν να προεξέχουν. Η απώλεια πρωτεογλυκανών και η αποδιοργάνωση της θεμέλιας ουσίας έχουν κι άλλες επιδράσεις στη μηχανική. Λόγω της επακόλουθης απώλειας ενυδάτωσης οι εκφυλισμένοι δίσκοι χάνουν την υδροστατική τους συμπεριφορά υπό

φόρτιση.<sup>37</sup> Έτσι μπορεί να εμφανιστούν ακατάλληλες συγκεντρώσεις πίεσης κατά μήκος του χόνδρινου τελικού πετάλου ή στον ινώδη δακτύλιο. Οι συγκεντρώσεις αυτές έχουν συσχετιστεί με το δισκογενή πόνο που εκδηλώνεται κατά τη διάρκεια δισκογραφίας.<sup>38</sup> Αυτές οι μεγάλες αλλαγές στη συμπεριφορά του δίσκου έχουν ισχυρή επίδραση και σε άλλες δομές της σπονδυλικής στήλης και δύναται να επηρεάσουν τη λειτουργία τους και να τις προδιαθέσουν σε τραυματισμό. Για παράδειγμα με την άμεση απώλεια ύψους υπο φορτίο στους εκφυλισμένους δίσκους οι παρακείμενες αποφυσικές αρθρώσεις μπορεί να υποβληθούν σε αφύσικα φορτία<sup>39</sup> και τελικώς να αναπτύξουν οστεοαρθρικές αλλαγές. Η απώλεια ύψους μπορεί να επηρεάσει κι άλλες δομές. Μειώνει την εφελκυστική δυναμική του ωχρού συνδέσμου με αποτέλεσμα τη πιθανή δημιουργία αναμορφοποιήσεων και πυκνώσεων. Με την επακόλουθη απώλεια ελαστικότητας,<sup>40</sup> ο σύνδεσμος τείνει να παρεκτοπιστεί προς το εσωτερικό του νωτιαίου σωλήνα με πιθανή εξέλιξη σπονδυλικής στένωσης, ένα πρόβλημα που εμφανίζεται όλο και περισσότερο με την αύξηση ηλικίας.

Η απώλεια πρωτεογλυκανών επηρεάζει και την κίνηση των μορίων μέσα και έξω από το δίσκο. Η αγγρεκάνη λόγω της υψηλής πυκνότητας και φόρτισης στον υγρή δίσκο εμποδίζει την διέλευση μεγάλων αφόρτιστων μορίων όπως οι πρωτεΐνες ορού και οι κυτοκίνες από τη θεμέλια ουσία.<sup>41</sup> Η πτώση της συγκέντρωσης αγγρεκάνης στους εκφυλισμένους δίσκους διευκολύνει την απώλεια μικρών αλλά ενεργών οσμωτικά τρημάτων αγγρεκάνης από το δίσκο και πιθανώς επιταχύνεται έτσι η εξέλιξη του εκφυλισμού. Επιπλέον, απώλεια αγγρεκάνης επιτρέπει την αυξημένη διείσδυση μεγάλων μορίων όπως τα συμπλέγματα αυξητικού παράγοντα οι κυτοκίνες στο εσωτερικό του δίσκου, κάτι που επηρεάζει τη συμπεριφορά των κυττάρων και πιθανώς την εξέλιξη του εκφυλισμού. Η αυξημένη ανάπτυξη αγγείων και νεύρων που παρατηρείται στον εκφυλισμένο δίσκο και συνδέεται με χρόνιο πόνο στη πλάτη,<sup>42</sup> είναι προφανώς συσχετισμένη με την απώλεια πρωτεογλυκανών, αφού η αγγρεκάνη του δίσκου έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει την ανάπτυξη νεύρων στο εσωτερικό του.<sup>43,44</sup>

Είναι πλέον σαφές ότι η πίεση κήλης πάνω στη νευρική ρίζα δεν είναι η μόνη αιτία του πόνου, αφού σε περισσότερο από 70% φυσιολογικών ασυμπτωματικών ανθρώπων παρατηρείται πρόπτωση δίσκου που πιέζει τις νευρικές ρίζες, χωρίς την εκδήλωση πόνου.<sup>3,45</sup> Μια υπόθεση είναι ότι στα άτομα που εμφανίζουν συμπτώματα τα νεύρα είναι ευαισθητοποιημένα στη πίεση<sup>46</sup> από αλγογόνα μόρια.

Τα μόρια αυτά μπορεί να παραχθούν από κύτταρα δισκοκήλης και λόγω της στενής σωματικής επαφής του δίσκου με τη ρίζα του νεύρου μπορεί να το ευαισθητοποιούν.<sup>48,49</sup> Η ακριβής ακολουθία γεγονότων και τα συγκεκριμένα μόρια που εμπλέκονται δεν έχουν ταυτοποιηθεί.

## ΘΡΕΠΤΙΚΕΣ ΔΙΟΔΟΙ ΤΟΥ ΕΚΦΥΛΙΣΜΕΝΟΥ ΔΙΣΚΟΥ

Μια από τις βασικές αιτίες εκφυλισμού θεωρείται η ανεπάρκεια θρεπτικού ανεφοδιασμού στα κύτταρα του δίσκου.<sup>50</sup> Όπως όλα τα κύτταρα έτσι και αυτά του δίσκου χρειάζονται θρεπτικές ουσίες όπως γλυκόζη και οξυγόνο για να ζήσουν και να παραμείνουν ενεργά. Η In Vitro δραστηριότητα των κυττάρων του δίσκου είναι πολύ ευαίσθητη στο εξωκυτταρικό οξυγόνο και pH. Η ταχύτητα σύνθεσης θεμέλιας ουσίας πέφτει απότομα σε όξινο pH και χαμηλή περιεκτικότητα νερού,<sup>51,52</sup> και τα κύτταρα δεν επιβιώνουν στην παρατεταμένη έκθεση σε χαμηλό pH ή συγκέντρωση γλυκόζης.<sup>53</sup> Πτώση θρεπτικού ανεφοδιασμού οδηγεί σε μείωση οξυγόνου ή του pH (που προκύπτει από αυξημένες συγκεντρώσεις γαλακτικού οξέος), που μπορεί να επηρεάσει τη δυνατότητα των κυττάρων να συνθέσουν και να συντηρήσουν την εξωκυτταρική

θεμέλια ουσία, κάτι που σε τελικό στάδιο οδηγεί στον εκφυλισμό του δίσκου. Ο δίσκος είναι μεγάλος και στερείται αγγείων και τα κύτταρα βασίζονται σε αγγεία της περιφέρειάς τους για να ανεφοδιαστούν με θρεπτικά συστατικά και να απομακρύνουν τα μεταβολικά απόβλητα.<sup>54</sup> Το μονοπάτι από το αγγειακό δίκτυο στα κύτταρα του πυρήνα είναι επισφαλές επειδή τα κύτταρα αυτά εφοδιάζονται σχεδόν εξολοκλήρου με τριχοειδή αγγεία που ξεκινούν από το σώμα του σπονδύλου, διεισδύουν στο υποχόνδρινο πέταλο καταλήγοντας μόλις πάνω από το χόνδρινο τελικό πέταλο.<sup>15,55</sup> Τα θρεπτικά στοιχεία πρέπει τότε να διαμοιραστούν από τα τριχοειδή αγγεία μέσα από το χόνδρινο τελικό πέταλο και τη πυκνή εξωκυτταρική θεμέλια ουσία του ηκτηοειδή πυρήνα στα κύτταρα, που μπορεί να απέχουν έως και 8 mm από το τριχοειδές στρώμα.

Ο εφοδιασμός στα κύτταρα του πυρήνα μπορεί να διαταραχθεί σε πολλά στάδια. Παράγοντες που επηρεάζουν το κυκλοφορικό σύστημα όπως είναι η αρτηριοσκλήρωση,<sup>56,57</sup> η δρεπανοκυτταρική αναιμία, η νόσος του Gaucher<sup>58</sup> και η νόσος του Caisson φαίνεται πως οδηγούν σε σημαντική αύξηση του εκφυλισμού του δίσκου. Μακροχρόνια άσκηση ή και έλλειψη αυτής φαίνεται επίσης να επηρεάζει τον θρεπτικό ανεφοδιασμό του δίσκου και συνεπώς τη παρουσία θρεπτικών συστατικών στον ιστό.<sup>59,60</sup>

Ο μηχανισμός είναι άγνωστος, αλλά εικάζεται ότι η άσκηση επηρεάζει τη δομή του τριχοειδούς στρώματος στο σημείο διασύνδεσης του δίσκου με το κόκκαλο. Τέλος, ακόμα και αν το κυκλοφορικό δεν παρουσιάζει διαταραχές, τα θρεπτικά συστατικά μπορεί να μη φτάσουν στα κύτταρα του δίσκου αν το τελικό χονδροειδές πέταλο έχει ασβέστωση.<sup>50,61</sup> Στην σκολίωση παρατηρείται έντονη ασβέστωση του δίσκου.

## ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΜΗΧΑΝΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ ΚΑΙ ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟΣ ΣΤΟ ΔΙΣΚΟ

Αφύσικα μηχανικά φορτία μπορεί να οδηγήσουν σε εκφυλισμό του δίσκου. Εδώ και πολλές δεκαετίες θεωρείται ότι από τις κυριότερες αιτίες πόνου στη πλάτη είναι ο τραυματισμός, συχνά κατά την εργασία, που προκαλεί δομική ζημιά. Μια τέτοια κάκωση δημιουργεί τις συνθήκες που οδηγούν σταδιακά στον εκφυλισμό του δίσκου και την εκδήλωση συμπτωμάτων και πόνου στη πλάτη.<sup>62</sup> Αν και η εντατική άσκηση δεν φαίνεται να επιδρά δυσμενώς στο δίσκο<sup>63</sup> και έχει παρατηρηθεί ότι ανταποκρίνονται σε μερικά μακροχρόνια φορτία με αύξηση πρωτεογλυκανών,<sup>64</sup> πειραματική υπερφόρτιση<sup>65</sup> ή κάκωση στο δίσκο<sup>66,67</sup> μπορεί να επιφέρει εκφυλιστικές αλλαγές.

## ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΗΣ ΕΚΦΥΛΙΣΗΣ ΔΙΣΚΟΥ

Πρόσφατες μελέτες συνιστούν ότι οι παράγοντες που οδηγούν σε εκφυλισμό στο δίσκο μπορεί να έχουν Γενετική φύση. Αρκετές μελέτες αναφέρουν ισχυρή οικογενή προδιάθεση για εκφυλισμό δίσκου και δισκοκήλη.<sup>68-70</sup> Τα ευρήματα από δυο διαφορετικές έρευνες σε διδύμους, που έγιναν κατά τη διάρκεια της προηγούμενης δεκαετίας, έδειξαν κληρονομικότητα μεγαλύτερη του 60%.<sup>71,72</sup> Μαγνητικές τομογραφίες σε μονοζυγωτικά δίδυμα έμοιαζαν πολύ μεταξύ τους όσον αφορά τη σπονδυλική στήλη και το μοτίβο εκφύλισης.<sup>73</sup>

Γονίδια που σχετίζονται με την εκφύλιση του δίσκου έχουν αναγνωρισθεί. Ανακαλύφθηκε ότι για τα άτομα με πολυμορφισμό στο γονίδιο αγγρεκάνης υπάρχει υψηλός κίνδυνος πρώιμου εκφυλισμού του δίσκου. Μελέτες σε διαγονιδιακά ποντίκια υποδεικνύουν ότι μετάλλαξη σε δομικά μόρια της θεμέλιας ουσίας όπως είναι η αγγρεκάνη,<sup>74</sup> το κολλαγόνο II<sup>75</sup> και το κολλαγόνο IX<sup>76</sup> μπορεί να οδηγήσουν σε

εκφυλισμό του δίσκου. Μετάλλαξη κι άλλων γονιδίων, εκτός αυτών των δομικών μακρομορίων της θεμέλιας ουσίας, έχει συσχετισθεί με τον εκφυλισμό του δίσκου.<sup>77-79</sup>

## ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΕΚΦΥΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΔΙΣΚΟΥ

Οι κακώσεις του δίσκου μπορεί να κατηγοριοποιηθούν σε περιορισμένες και αναφυσικές. Η εξέλιξη του εκφυλισμού του δίσκου μπορεί περαιτέρω να κατηγοριοποιηθεί ως εξής:

Βαθμού 0: Φυσιολογικός αδιαπέραστος πηκτοειδής πυρήνας

Βαθμού 1: δακτυλοειδής σκίσιμο περιορισμένο στην εσωτερική περιοχή του ινώδη δακτυλίου. Εδώ ένα σκίσιμο ή ράγισμα γίνεται ευδιόρατο. Επεκτείνεται από τον πυρήνα ακτινωτά μέχρι το 1/3 του εσωτερικού του ινώδη δακτυλίου. Περιγράφεται η κατάσταση αυτή ως 1ου Βαθμού ακτινωτή δακτυλοειδής ρωγμή ή 1ου Βαθμού διαταραχή μεσοσπονδύλιου δίσκου.

Βαθμού 2: σε αυτή τη κατάσταση δακτυλοειδείς ρωγμές έχουν πλήρως αποδιοργανώσει τη διάρθρωση του δίσκου, χωρίς όμως να επιδρούν στο εξωτερικό περίγραμμα του ινώδη δακτυλίου. Δεν παρατηρείται διαρροή σκιαγραφικού στη δισκογραφία ούτε πρήξιμο ή προβολή του δίσκου. Αυτή η κατάσταση του δίσκου ονομάζεται 2ου Βαθμού ακτινωτή δακτυλοειδής ρωγμή ή 2ου Βαθμού διαταραχή μεσοσπονδύλιου δίσκου. Δεν υπάρχει άσκηση πίεσης στη ρίζα του νεύρου. Πολλοί ασθενείς που ανήκουν σε αυτή τη κατηγορία παραπονιούνται για πόνο στη μέση, ο οποίος μπορεί να είναι διαπεραστικός στο κάτω άκρο ακόμα και κάτω από το γόνατο.

Βαθμού 3: Σε αυτή τη περίπτωση ρωγμές έχουν πλήρως αποδιοργανώσει τη δομή του ινώδη δακτυλίου και του οπίσθιου επιμήκη συνδέσμου και έχουν παραμορφώσει το περίγραμμα στο οπίσθιο τμήμα του δίσκου. Υπάρχει σοβαρό ακτινωτό σκίσιμο χάρη στο οποίο ο εξωτερικός δακτύλιος και ο οπίσθιος επιμήκης σύνδεσμος έχουν έρθει σε πλήρη ρήξη. Στη δισκογραφία παρατηρείται διαρροή του σκιαγραφικού υλικού στο οπίσθιο τμήμα του δίσκου στον επισκληρίδιο χώρο. Επιπλέον υπάρχει προεξοχή του δίσκου ή/ και δισκοκήλη. Αυτή η κατάσταση ονομάζεται 3ου Βαθμού ακτινωτή δακτυλοειδής ρωγμή ή 3ου Βαθμού διαταραχή μεσοσπονδύλιου δίσκου. Σε αυτή τη κατηγορία η συχνότητα ισχιαλγίας είναι ίδια με την 2ου Βαθμού διαταραχή μεσοσπονδύλιου δίσκου. Αυτό υποδεικνύει ότι οι νευρικές ίνες στο πίσω μέρος του δακτυλίου δίνουν ισχυρό έναυσμα στο σχηματισμό δακτυλοειδών σχισμών.<sup>80</sup> Αυτή η κατηγορία έχει τροποποιηθεί βάση της αντίληψης ισχιαλγικού πόνου στα κάτω άκρα.

## ΑΞΟΝΟΤΟΜΟΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ ΔΑΚΤΥΛΙΟΕΙΔΩΝ ΡΩΓΜΩΝ

Η παρακάτω κατηγοριοποίηση οριστικοποιήθηκε στα τέλη της δεκαετίας του 90 και αποτελεί το χρυσό κανόνα για την αξονοτομογραφική κατηγοριοποίηση δακτυλοειδών ρωγμών.<sup>80</sup> Υπέστη τροποποιήσεις<sup>81</sup> το 1992 από την ερευνητική ομάδα του Bogduk και ξανά το 1996<sup>82</sup> από την ερευνητική ομάδα του Schellhas. Υπάρχουν 5 πιθανές εντάσεις δακτυλοειδούς σχισμής όπως αυτή διακρίνεται στην αξονική τομογραφία.

Βαθμού 0 είναι ο υγιής δίσκος όπου δεν υπάρχει διαρροή σκιαγραφικού υγρού από το πηκτοειδή πυρήνα.

Στη Βαθμού 1 κατηγορία υπάρχει διαρροή από τη ρωγμή σκιαγραφικού υλικού που περιορίζεται μέχρι το 1/3 του εσωτερικού του δακτυλίου.

Στη Βαθμού 2 κατηγορία η διαρροή του σκιαγραφικού φτάνει μέχρι και τα εξωτερικά 2/3 του δακτυλίου.

Στη Βαθμού 3 κατηγορία η ρωγμή έχει επιτρέψει τη πλήρη διαρροή σκιαγραφικού σε όλες τις ζώνες του δακτυλίου. Αυτή η ρωγμή πιστεύουμε ότι προκαλεί πόνο αφού το εξωτερικό 1/3 του δίσκου έχει πολλές μικρές νευρικές ίνες που ερεθίζονται.

Η Βαθμού 4 ρωγμή είναι σοβαρότερη από τη βαθμού 3 γιατί εδώ το σκιαγραφικό απλώνεται περιφερειακά γύρω από το δίσκο, με σχήμα που συχνά θυμίζει άγκυρα πλοίου. Προϋπόθεση για την κατηγοριοποίηση ως 4ου βαθμού είναι το σκιαγραφικό να περικλείει περισσότερο από 30° της περιφέρειας του δίσκου. Παθολογικά αυτή η κατάσταση απεικονίζει τη συγχώνευση μιας σοβαρής ακτινωτής ρωγμής με μια ομόκεντρη δακτυλιοειδή ρωγμή.

Η 5ου βαθμού κατηγορία περιλαμβάνει ακτινωτές ρωγμές 4ου ή 3ου βαθμού που έχουν διαρρήξει εντελώς τα εξωτερικά στρώματα του δίσκου και το σκιαγραφικό χύεται στον επισκληρίδιο χώρο. Τέτοιου τύπου ρωγμές μπορεί να προκαλέσουν σοβαρή φλεγμονώδη αντίδραση στις παρακείμενες νευρικές δομές. Σε περιπτώσεις ασθενών αυτή η διαδικασία είναι τόσο σοβαρή που προκαλεί επίπονη χημική ριζοπάθεια και ισχιαλγία χωρίς να ασκείται πίεση στη ρίζα του νεύρου.

## ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΔΙΣΚΟΓΕΝΗ ΠΟΝΟΥ

Το 1979 οι Brodsky και Binder <sup>83</sup> περιέγραψαν τον μηχανισμό πρόκλησης πόνου με δισκογραφία.

Τα ευρήματά τους περιλάμβαναν:

- 1- διάταση τέντωμα των ινών ενός αφύσικου δακτυλίου
- 2- εξαγγείωση ή εξωμηνιγγικός ερεθιστικές ουσίες όπως γλυκοζαμίνες, γαλακτικό οξύ και άλλα όξινα μέσα
- 3- πίεση των νεύρων από κάτω που προκαλείται από την προέκταση του δακτυλίου
- 4- υπέρμετρη κάμψη των οπίσθιων αρθρώσεων κατά τον εμβολιασμό του δίσκου <sup>84</sup> και
- 5- παρουσία αγγειακού κοκκιώδη ιστού και πρόκληση πόνου από την διάταση της ουλής.<sup>85</sup>

Εικάζεται επίσης η ύπαρξη μηχανισμού κατά τον οποίο γεννήτριες πόνου στα χόνδρινα τελικάπέταλα που μπορεί να ενεργοποιηθούν από την εκτροπή του πετάλου.<sup>86</sup>

Η ερευνητική ομάδα του Ohnmeiss <sup>86</sup> μελέτησε τα τυπικά μοτίβα αναφοράς πόνου από διαφορετικούς βαθμούς οπίσθιες δακτυλιοειδείς ρωγμές (επιβεβαιωμένες με δισκόγραμμα). Απροσδόκητα ανακάλυψαν ότι ο δίσκος δεν είναι απαραίτητο να είναι πλήρως σχισμένος για να προκληθεί πόνος στο κάτω άκρο του ασθενή. Μάλιστα δεν ήταν καν απαραίτητο να είναι σε πλήρη ρήξη ή διόγκωση.

Τα ποσοστά αναφοράς πόνου κάτω άκρου στη δισκογραφία ήταν ίδια για 2ου και 3ου Βαθμού δίσκους, περίπου 60%. Αυτή η μελέτη υποστηρίζει τη θεωρία ότι το πυρηνικό υλικό στην εξωτερική περιοχή του οπίσθιου τμήματος του δακτυλίου δύναται από μόνο του να είναι αιτία ισχιαλγίας.

Η διαδρομή του δισκογενή πόνου είναι ακόμη αμφιλεγόμενα. Μέχρι πρότεινος πιστεύαμε ότι ο πόνος πηγάζει από την παραπλήσια στο δίσκο νευρική ρίζα και κινείται προς το αντίστοιχο νωτιαίο γάγγλιο και εν συνεχεία τον νωτιαίο μυελό. Όμως πρόσφατες μελέτες συνιστούν ότι τα σήματα πόνου από τους κατώτερους οσφυϊκούς δίσκους (O4 και O5) παρακάμπτονται προς τους φαιούς αναστομωτικούς κλάδους και αν συνεχεία στα ανώτερα νωτιαία γάγγλια κυρίως τα O2.<sup>87-89</sup> Κλινικώς για κάποιες

περιπτώσεις θα ήταν πιθανόν ασθενείς με O4 και O5 παθολογία δίσκου να εκδηλώσουν O1 και O2 δερμοτόμο πόνο.

## ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΕΚΦΥΛΙΣΜΕΝΟΥ ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΟΥ ΔΙΣΚΟΥ

Ο χρυσός κανόνας στη διάγνωση εκφυλισμού μεσοσπονδύλιου δίσκου είναι ένα επίπονο και παρεισφρητικό τεστ που ονομάζεται Προκλητή δισκογραφία και ακόλουθη αξονική τομογραφία δίσκων. Η ολοκλήρωση του τεστ επιτυγχάνεται σε δυο φάσεις. Σε πρώτη φάση ο θεράπων ιατρός επιχειρεί να προκαλέσει τον συνήθη πόνο του ασθενούς αυξάνοντας την πίεση στο δίσκο με εμβολιασμό σκιαγραφικού υγρού. Σε δεύτερη φάση πραγματοποιείται ανώδυνο δισκόγραμμα στους παραπλήσιους δίσκους.

Ο Διεθνής Οργανισμός για τη Μελέτη του Πόνου στην ταξονομία του <sup>90</sup> υιοθέτησε τα ακόλουθα κριτήρια για τη διάγνωση εκφυλισμού μεσοσπονδύλιου δίσκου:

- 1- απουσία δισκοκήλης στη μαγνητική τομογραφία
- 2- ακριβής αναπαραγωγή του πόνου στη πλάτη ή/και στο πόδι, κατά τον εμβολιασμό του δίσκου στη Προκλητή δισκογραφία <sup>91,92</sup>
- 3- εμβολιασμός ανώτερου ή κατώτερου δίσκου χωρίς εκδήλωση πόνου τον οποίο και θεωρούμε φυσιολογικό υγιή δίσκο
- 4- 3ου ή 4ου βαθμού ακτινωτή δακτυλιοειδή σχισμή πρέπει να είναι εμφανής στην αξονική τομογραφία <sup>93-96</sup>

## ΕΝΙΣΧΥΜΕΝΗ ΜΕ ΓΑΔΟΛΙΝΙΟ-DTPA ΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ

Αν και ο χρυσός κανόνας είναι ο συνδυασμός προκλητής δισκογραφίας με ακόλουθη μαγνητική τομογραφία για τη διάγνωση εκφυλισμού μεσοσπονδύλιου δίσκου που παρουσιάζει συμπτώματα, η διαδικασία από μόνη της μπορεί να αποδειχθεί επιζήμια για το δίσκο και να συνεισφέρει στον εκφυλισμό του. <sup>97-102</sup> Μια εναλλακτική λύση είναι η ενδοφλέβια χορήγηση γαδολίνιου-διμεθοξυπροπάνιου, το οποίο φωτίζει στη μαγνητική τον κοκκιώδη ιστό που σχηματίζεται σε μια δακτυλιοειδή σχισμή που επουλώνει ή έχει πλήρως επουλωθεί.

## ΖΩΝΗ ΥΠΕΡΟΞΥΤΗΤΑΣ

Η ζώνη αυτή είναι ένα σφοδρό εστιακό σήμα στο πίσω μέρος του ινώδη δακτυλίου που ξεχωρίζει από τον πυρήνα όταν ο δίσκος δεν έχει προβολή. Το φαινόμενο αυτό υπαινίσσεται τη συμμετοχή του εκφυλισμού στο σύνδρομο πόνου του ασθενούς αν και τα ευρήματα τέτοιων T2 σταθμευμένων μαγνητικών είναι αμφιλεγόμενα.

## ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ ΔΙΣΚΟΓΕΝΗ ΠΟΝΟΥ

Η παθολογική αιτία του πόνου στη μέση μπορεί να οφείλεται σε εκφυλισμένους μεσοσπονδύλιους δίσκους και συγκεκριμένα σε ευαισθητοποιημένες δακτυλιοειδείς ρωγμές. Οι θεραπείες που αποδεδειγμένα αντιμετωπίζουν την εκφύλιση Μεσοσπονδύλιου δίσκου και το δισκογενή πόνο περιλαμβάνουν χειρουργική παρέμβαση με απόλυτη εκτομή του δίσκου και αρθροδεσία ή πιο συντηρητικά μέτρα



όπως επισκληρίδιος έγχυση στεροειδών, χημική λύση του πηκτοειδή πυρήνα, ενδοδισκική αποσυμπίεση, Δακτυλιοπλαστική και ενδοδισκική χρήση λέιζερ.

Δυο ελάχιστα παρεμβατικές μέθοδοι έχουν προωθηθεί ως εναλλακτικής της μείζων χειρουργικής επέμβασης. και οι δύο γίνονται με εισαγωγή στον στοχευμένο πάσχον δίσκο εύκαμπτου ηλεκτροδίου με σκοπό την πήξη του οπίσθιου τμήματος του δακτυλίου. Επιπροσθέτως έχουν εισαχθεί νέες ελάχιστα παρεμβατικές μέθοδοι αποσυμπίεσης δίσκου που εκδηλώνεται παθολογικά με πόνο. μια κατηγοριοποίηση τέτοιων διαδερματικών επεμβάσεων δίνετε παρακάτω.

#### 1 Δακτυλιοπλαστική

A ενδοδισκική ηλεκτροθερμική θεραπεία

B οπίσθια Δακτυλιοπλαστική με ραδιοσυχνότητες

Γ πλαστική καταστροφής ινών πόνου με θερμότητα

#### 2 Διαδερματική αποσυμπίεση δίσκου

A δισκεκτομή με λέιζερ

B αποκοπή με ραδιοσυχνότητες

Γ μηχανική αποσυμπίεση δίσκου (decompressor)

Δ χειροκίνητη οσφυϊκή δισκεκτομή

#### 3 Ενδοσκοπική διαδερματική δισκεκτομή

### ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΗ ΔΙΑΧΕΙΡΗΣΗ

Στο 90% όλων των ασθενών με εκφυλισμό μεσοσπονδύλιου δίσκου επιτυγχάνεται ικανοποιητική ανακούφιση από τον πόνο με συντηρητικές μεθόδους. Όμως μπορεί να χρειαστούν αρκετοί μήνες θεραπείας ώστε η συντηρητική αγωγή να είναι αποτελεσματική. Η συντηρητική θεραπεία συνήθως έχει τη μορφή χορήγησης αναλγητικών από το στόμα, ήπιας έλκυσης και μη δυναμικής σπονδυλικής σταθεροποίησης με θεραπεία και άσκηση.

### 1. ΧΗΜΙΚΗ ΛΥΣΗ ΤΟΥ ΠΗΚΤΟΕΙΔΗ ΠΥΡΗΝΑ

Στις αρχές της δεκαετίας του 40 οι Jansen και Balls αποκόμισαν εκχύλισμα από το καρπό της παπάγιας, την chymopapain όπως αναφέρθηκε από τους Jaikumar, Kim, Kam, και Maroon.<sup>103,104</sup> Στα 1956 ο Thomas πίστεψε στις προοπτικές αυτής της ενζυματικής ουσίας και ερεύνησε την κλινική της χρησιμότητα. Με ενδοφλέβιο εμβολιασμό χορήγησε chymopapain στα αφτιά κουνελιών.<sup>105</sup> Παρατήρησε οτι αυτά έγιναν πιο εύκαμπτα και επιβεβαίωσε τη μεταβολή του χονδροειδούς υλικού λόγω της chymopapain στα αφτιά. Εν συνεχεία η ερευνητική ομάδα του Smith αποπειράθηκε ανεπιτυχώς να θεραπεύσει με chymopapain χονδροβλαστικούς όγκους. Παρατήρησε όμως οτι με τον εμβολιασμό chymopapain στο εσωτερικό των δίσκων στα κουνέλια ο πηκτοειδής πυρήνας εξαφανίστηκε αλλά ο ινώδης δακτύλιος έμεινε ανέπαφος.<sup>104,105</sup> Το 1963 ο Smith εμβολίασε με chymopapain τον πρώτο ασθενή για θεραπεία ισχιαλγίας. Η chymopapain αποπολυμερίζει τα μόρια πτωεογλυκάνης και γλυκοπρωτεΐνης του πηκτοειδούς πυρήνα.<sup>104</sup> Τα μεγάλα αυτά μόρια είναι υπεύθυνα για την κατακράτηση νερού και τη διόγκωση. Όταν εκτίθενται σε chymopapain η περιεκτικότητα νερού μειώνεται ακολουθεί συρρίκνωση και το ύψος και η περιφέρεια του δίσκου μειώνεται. Η προβολή του δίσκου συνεπώς συρρικνώνεται.

## ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Ο ασθενής τοποθετείται σε πλάγια ή πρηνή θέση. Γίνεται μερική νάρκωση και με την καθοδήγηση ακτινοσκόπησης μια 6 ιντσών βελόνα διαμετρήματος 1,02 mm εισέρχεται οπισθοπλαγίως κεντρικά στο δίσκο. Ακολουθεί αξιολόγηση του δίσκου που νοσεί με προκλητή δισκογραφία.

Στη συνέχεια ο πηκτοειδής πυρήνας εμβολιάζεται με chymoparain. Η ποσότητα chymoparain κυμαίνεται από 1000 έως 4000 U. Η ποσότητα αυτή μειώνεται αναλόγως εάν περισσότεροι από ένας δίσκους πρόκειται να υποβληθούν στην επέμβαση.<sup>104,105</sup>

Η chymoparain χρησιμοποιείται περισσότερο από 30 χρόνια. Μετά την έγκριση του FDA στις ΗΠΑ το 1982 αναφέρθηκαν πρώιμες επιπλοκές παρ' όλο που οι μελέτες έδειχναν ασφαλή ποσοστά επιτυχίας.<sup>105</sup> Η αναφυλαξία που εμφανίστηκε στο 1% των περιπτώσεων αποδείχτηκε η πιο σοβαρή από τις επιπλοκές.<sup>105</sup> Κατέστη σαφές ότι με επιλεκτικότητα, κατάλληλη χειρουργική εκπαίδευση και τεχνική, προχειρουργικό τεστ υπερευαισθησίας και χορήγηση ανισταμινικών οι επιπλοκές μπορεί να μειωθούν σημαντικά. Με την χρήση αυτών των κριτηρίων οι επιπλοκές εκμηδενίστηκαν ως τα τέλη της δεκαετίας του 80 με αρχές της δεκαετίας του 90. Η θεραπεία με chymoparain ενδείκνυται ασθενείς που διαμαρτύρονται κυρίως για ακτινωτό πόνο, με επιβεβαιωμένη δισκοκήλη από μαγνητική ή αξονική τομογραφία και οι οποίοι έχουν πρωτύτερα δοκιμάσει ανεπιτυχώς συντηρητική θεραπεία.<sup>104-106</sup> Η ερευνητική ομάδα του Kim ανακάλυψε ότι οι ασθενείς με μέτριο έως σοβαρό πόνο κατά το τεστ ανίχνευσης τεντωμένου ποδιού είχαν σημαντικά μεγαλύτερα ποσοστά επιτυχίας από τους ασθενείς με ήπιο ή καθόλου πόνο.<sup>106</sup> Όσο πιο νέοι ήταν οι ασθενείς τόσο καλύτερο ήταν το αποτέλεσμα. Στους νεότερους το ποσοστό επιτυχίας κυμαίνεται από 82.3% για αυτούς στα 30 έως 94.6% για τους εφήβους. Ασθενείς από 50 ετών και πάνω είχαν μόνο 71% ποσοστό επιτυχίας.<sup>107</sup> Οι ασθενείς με θετικό τεστ πρόκλησης πόνου είχαν 91.7% ποσοστό επιτυχίας ενώ εκείνη που δεν βίωσαν πόνο είχαν 73.1% ποσοστό επιτυχίας.<sup>106</sup>

Η χημική λύση του πηκτοειδή πυρήνα από την έγκριση της (FDA) και μετά είναι θορυβημένη από αντιπαραθέσεις. Κάποιοι την απορρίπτουν λόγω των πρώιμων περιπλοκών και περιορισμένης διάθεσης στις ΗΠΑ από το 1999. Άλλοι υποστηρίζουν ότι με κατάλληλα κριτήρια ένταξης, προχειρουργικές εξετάσεις και καλή τεχνική η χημική λύση του πηκτοειδή πυρήνα έχει εξέχουσα θέση στις ελάχιστα παρεμβατικές μεθόδους.<sup>104-106</sup>

## 2. ΧΗΜΙΚΗ ΛΥΣΗ ΤΟΥ ΠΗΚΤΟΕΙΔΗ ΠΥΡΗΝΑ ΜΕ ΟΖΟΝ

Άλλη μια εναλλακτική μέθοδος, ανερχόμενη στην Ευρώπη, είναι η χρήση ιατρικού όζοντος για τη θεραπεία δισκοκήλης.<sup>107</sup> Η μέθοδος αναπτύχθηκε το 1983 από τον C. Verga. Στη μελέτη του, αποτέλεσμα 15ετους κλινικής ερευνάς, δήλωσε ότι το ποσοστό που υποτροπίασε ήταν μόλις 2%. Κατά τη μέθοδο αυτή χορηγούνται 40/60 ml όζοντος υπό αέρια μορφή και με συγκέντρωση 20/30 μικρογραμμάρια ανά ml επαναλαμβανόμενα από 8 έως 14 φορές. Ο εμβολιασμός γίνεται συνήθως στους παρασπονδυλικούς μύες και στην ευρύτερη περιοχή της κήλης. Είναι σχεδόν ανώδυνος και ανεκτός πέρα από μια σύντομη τοπική ελαφριά αίσθηση πόνου. Δεν έχουν δημοσιευτεί επαρκή δεδομένα ώστε να αποδεχτούμε αυτή τη τεχνική ως υποσχόμενη εναλλακτική μέθοδο.

## ΕΛΑΧΙΣΤΑ ΠΑΡΕΜΒΑΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

### 1. ΔΑΚΤΥΛΙΟΠΛΑΣΤΙΚΗ

#### 1Α. ΕΝΔΟΔΙΣΚΙΚΗ ΗΛΕΚΤΡΟΘΕΡΜΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Το 2000 οι Saal και Saal ανέπτυξαν και δημοσίευσαν τη μέθοδο της ενδοδισκικής ηλεκτροθερμικής θεραπείας, ως εναλλακτική της συγχώνευσης για ασθενείς με χρόνια πόνο στη μέση.<sup>108,109</sup> Υπάρχουν διαφορές προτεινόμενες αιτίες δισκογενή πόνου. Κάποιοι πιστεύουν ότι οφείλεται στην διατάραξη του δίσκου και πιθανότερα στις δακτυλιοειδείς ρωγμές ή σχισμές.<sup>104</sup> Άλλοι θεωρούν ότι ο δισκογενής πόνος πιθανόν να οφείλεται σε εκφυλιστική νόσο του δίσκου.<sup>106</sup> Ακόμα και αυτοί που ανέπτυξαν τη μέθοδο της ενδοδισκικής ηλεκτροθερμικής θεραπείας παραδέχονται ότι η παθοφυσιολογία του δισκογενή πόνου πολύπλοκη και δύσκολα προσδιορίζεται.<sup>108</sup> Αυτό που έχει συμφωνηθεί είναι ότι ο μεσοσπονδύλιος δίσκος και κυρίως ο ινώδης δακτύλιος έχει αλογόνους νευρικούς αισθητήρες που αυξάνονται όταν ο δίσκος εκφυλίζεται, τραυματίζεται ή εκτίθεται σε ορισμένες φλεγμονώδεις ουσίες. Η αύξηση αυτή προκαλεί οξύτατο πόνο στη μέση.<sup>108,110,111</sup> Εδώ μπορεί να χρησιμοποιηθεί η ενδοδισκική ηλεκτροθερμική θεραπεία για τροποποίηση του κολλαγόνου, το οποίο πυκνώνει και συστέλλεται (πήζει), μειώνοντας την ικανότητα επαναιμάτωσης του οργανισμού.

#### ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η επέμβαση πραγματοποιείται με την καθοδήγηση ακτινοσκόπησης. Ο ασθενής είναι σε πρηνή θέση υπό μερική αναισθησία. Όπως σε πολλές ενδοδισκικές επεμβάσεις ακολουθεί προκλητή δισκογραφία για την αξιολόγηση του πάσχον δίσκου. Μια βελόνα διαμετρήματος 1.473 mm εισέρχεται οπισθοπλαγίως στο δίσκο από την λιγότερο επίπονη πλευρά του ασθενούς.

Ένας καθετήρας 30 cm με 5 έως 6 cm ελαστικό θερμαινόμενο άκρο προωθείται περιμετρικά στο εσωτερικό του δίσκου και διαπερνά τον πυρήνα ώσπου να φτάσει στη παθογενή περιοχή του δακτυλίου. Μετά την ακτινοσκοπική επιβεβαίωση το άκρο του καθετήρα θερμαίνεται στους 90°C για 13 λεπτά. Αφού αγγίξει τους 90°C το άκρο παραμένει για 4 λεπτά επιπλέον. Τότε ο καθετήρας και η βελόνα αφαιρούνται. Ο ασθενής παρακολουθείται στο τμήμα ανάρρωσης και παίρνει εξιτήριο την ίδια μέρα.<sup>108,110,111</sup>

Οι ενδείξεις για ενδοδισκική ηλεκτροθερμική θεραπεία συμπεριλαμβάνουν χρόνια πόνο στη μέση, ανεπιτυχή συντηρητική θεραπεία, φυσιολογικές νευρολογικές εξετάσεις, αρνητικό τεστ αντίχνευσης τεντωμένου ποδιού, επιβεβαιωμένη με μαγνητική απουσία νευρικής συμπίεσης βλάβης και θετικό τεστ πρόκλησης πόνου.<sup>111</sup> Τα κριτήρια αποκλεισμού συμπεριλαμβάνουν φλεγμονώδη αρθρίτιδα, πόνο μιμητικό του οσφυϊκού που δεν σχετίζεται με τη σπονδυλική στήλη και κάθε κλινική ή μεταβολική προδιάθεση που αποκλείει τη κατάλληλη παρακολούθηση.<sup>108,111,112</sup> Η τεχνική αυτή παραμένει πηγή αντιπαραθέσεων καθώς οι ανεξάρτητες σχετικές μελέτες αλλά και μελέτες μακροχρόνιας παρακολούθησης ασθενών που έκαναν ενδοδισκική ηλεκτροθερμική θεραπεία είναι περιορισμένες.<sup>108,109,113</sup> Υπάρχει επίσης η πιθανότητα με την τροποποίηση κολλαγόνου να οδηγεί σε μείωση του μεγέθους των δακτυλιοειδών ρωγμών και να αυξάνεται η σταθερότητα του ίδιου του δίσκου.<sup>108,110</sup> Ακόμη η ενδοδισκική ηλεκτροθερμική θεραπεία καταστρέφει τους

αλγούποδοχείς που βρίσκονται στα τοιχώματα της δακτυλιοειδούς σχισμής διακόπτοντας έτσι την μετάδοση του σήματος του πόνου.<sup>110,111</sup>

Οι επιπλοκές περιλαμβάνουν σπάσιμο του καθετήρα, βλάβες στη ρίζα του νεύρου, μετεγχειρητική δυσκοκλήλη, ιππουριδική συνδρομή, λοίμωξη, επισκληρίδιο απόστημα και βλάβη στο νωτιαίο μυελό.

Η αποτελεσματικότητα της ενδοδισκικής ηλεκτροθερμικής θεραπείας κατά του χρόνιου δισκογενή πόνου στη μέση χαρακτηρίζεται ως μετριοπαθής.

## 1Β. ΔΑΚΤΥΛΙΟΠΛΑΣΤΙΚΗ ΜΕ ΡΑΔΙΟΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ

Η Δακτυλιοπλαστική με ραδιοσυχνότητες είναι μια ελάχιστη παρεισφορητική μέθοδος θεραπείας του πόνου στη μέση με κατανομή θερμικής ενέργειας μέσω ραδιοσυχνοτήτων. Το σύστημα discTRODE™ με καθετήρα ηλεκτρόδιο ραδιοσυχνοτήτων θερμάνει το δίσκο ο οποίος πήζει και αποσυμπιέζεται, παρέχοντας αποτελεσματική ανακούφιση από το πόνο. Ιδανικοί υποψήφιοι για τη συγκεκριμένη θεραπεία είναι οι ασθενείς με χρόνια μόνο στη μέση που έχει εξακριβωθεί ότι προέρχεται από εκφυλισμό του μεσοσπονδύλιου δίσκου.

## ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η επέμβαση με discTRODE™ γίνεται κατά βάση σε εξωτερικούς ασθενείς σε κλινικό περιβάλλον. Με χορήγηση ήπιου αναισθητικού και τοπική αναισθησία μειώνεται οποιαδήποτε δυσφορία μπορεί να βιώσει ο ασθενής.

Με την καθοδήγηση ακτινογραφίας ο θεράπων ιατρός εισάγει την κάνουλα του discTRODE™ στον μεσοσπονδύλιο δίσκο. Μέσα από την κάνουλα εισάγεται καθετήρας ηλεκτρόδιο που εισχωρεί στα εξωτερικά στρώματα του ιστού του δίσκου. Τάση ραδιοσυχνοτήτων διαπερνά το ηλεκτρόδιο θερμαίνοντας τον ιστό γύρω από το ενεργό άκρο του ηλεκτροδίου σε προκαθορισμένη θερμοκρασία. Καθ' όλη τη διάρκεια ο θεράπων ιατρός παρακολουθεί στενά τις αλλαγές θερμοκρασίας στον περιβάλλοντα ιστό σε ειδικό μόνιτορ.

Οι επιπλοκές είναι παραπλήσιες με αυτές της ενδοδισκικής ηλεκτροθερμικής θεραπείας και περιλαμβάνουν σπάσιμο του καθετήρα, βλάβες στη ρίζα του νεύρου, ριζίτιδα, μετεγχειρητική δυσκοκλήλη, ιππουριδική συνδρομή, λοίμωξη, επισκληρίδιο απόστημα και βλάβη στο νωτιαίο μυελό.<sup>114,115</sup>

## 1Γ. ΠΛΑΣΤΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΡΟΦΗΣΙΝΩΝ ΠΟΝΟΥ ΜΕ ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ

Αυτή η νέα μέθοδος δακτυλιοπλαστικής χρησιμοποιεί ένα διπολικό σύστημα με δύο ψυχρά ηλεκτρόδια ραδιοσυχνοτήτων που τοποθετούνται στις οπισθοπλάγιες πλευρές του ινώδη δακτυλίου του μεσοσπονδύλιου δίσκου. Οι Karural και Mekhail έχουν αναφέρει την θεραπεία νεαρού άνδρα με ισχυρό αξονικό δισκογενή πόνο.<sup>116</sup> Τα ηλεκτρόδια τοποθετήθηκαν με την καθοδήγηση ακτινογράφησης. Δύο διαδισκικοί εισαγωγείς διαμετρήματος 1.473 mm τοποθετήθηκαν στο οπίσθιο τμήμα του δακτυλίου χρησιμοποιώντας την οπισθοπλάγια λοξή προσέγγιση. Στη συνέχεια βελόνες ραδιοσυχνοτήτων τοποθετήθηκαν μέσα από κάθε εισαγωγή αμφοτερόπλευρα ώστε να δημιουργηθεί μια διπολική διάταξη. Υπήρξε σταδιακή αύξηση της θερμοκρασίας των ηλεκτροδίων στους 55°C μέσα σε 11 λεπτά. Δεν εκδηλώθηκαν επιπλοκές κατά τη διάρκεια της επέμβασης. Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας ο ασθενής τέθηκε υπο ιατρική παρακολούθηση για 45 λεπτά και πήρε εξιτήριο. Σε εξωτερική βάση πλέον η παρακολούθηση του ασθενούς διήρκεσε 6 μήνες. Η

μετεγχειρητική αξιολόγηση συμπεριλάμβανε έντυπο SF-36 αναφοράς γενικής κατάστασης υγείας και ερωτηματολόγια Oswestry. Οι βαθμολογίες στην οπτική αναλογική κλίμακα πόνου άλλαξαν από 5 (σημείο αναφοράς) σε 2 cm σε 30 ημέρες και 1 cm σε επαναξιολόγηση μετά από 6 μήνες. Στη κλίμακα Oswestry σημειώθηκε βελτίωση από 14 πόντους προεγχειρητικά σε 11 πόντους σε επανεξέταση 1 μήνα μετά και 6 πόντους 6 μήνες μετά.

Η μέθοδος αυτή εγγυάται μελλοντικές μελέτες για τον προσδιορισμό αποτελεσματικότητας, ποσοστού περιπλοκών και πιθανών πλεονεκτημάτων συγκριτικά με αντίστοιχες ελάχιστα παρεμβατικές τεχνικές.

## 2. ΔΙΑΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΑΠΟΣΥΜΠΙΕΣΗ ΔΙΣΚΟΥ

### 2Α. ΔΙΣΚΕΚΤΟΜΗ ΜΕ ΛΕΙΖΕΡ

Τα χειρουργικά λέιζερ χρησιμοποιούνται από τις αρχές της δεκαετίας του 60. η ερευνητική ομάδα των Ascher και Choy δημοσίευσε τις εμπειρίες της από τη χρήση λέιζερ νεοδμίου:Γρανάτη από ύτριο αλουμίνιο (Nd : YAG) στην οσφυϊκή μοίρα για τη λύση του πηκτοειδή πυρήνα.<sup>117</sup> Υπάρχουν διάφοροι τύποι λέιζερ κατάλληλη για χρήση στην οσφυϊκή μοίρα με συνηθέστερο το λέιζερ ολμίου:Γρανάτη από ύτριο αλουμίνιο (Ho : YAG). Άλλοι τύποι είναι το λέιζερ νεοδμίου και τα KTP λέιζερ.

Τα λέιζερ ολμίου χρησιμοποιούνται συνήθως παράλληλα με το ενδοσκόπιο κατά την εκτομή και απομάκρυνση του δίσκου.<sup>118,119</sup> Αυτή η τεχνική με τη βοήθεια λέιζερ συνδυάζει δυο αποτελεσματικές αλλά περιορισμένων δυνατοτήτων προσεγγίσεις.

Καθώς ο επηρεασμένος ιστός απορροφά το λέιζερ, το φως μετατρέπεται σε θερμότητα. Στους 100°C ο ιστός αεριοποιείται και πραγματοποιείται η εκτομή. Με αεροποίηση μικρής ποσότητας πηκτοειδούς πυρήνα μειώνεται η ενδοδισκική πίεση, επιτρέποντας στο δίσκο να επανέλθει στη φυσική του κατάσταση.<sup>119,120</sup> Εάν χρειαστεί αφαίρεση υλικού τα ενδοσκοπικά εργαλεία δύναται να χρησιμοποιηθούν.

### ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Ο ασθενής υπό μερική αναισθησία παίρνει πρηνή ή πλευρική στάση. Μια βελόνα 7 ιντσών και διαμετρήματος 1,02 mm εισάγεται μόλις μπροστά από την ανώτερη αρθρική απόφυση και πάνω από την εγκάρσια απόφυση μέσω της αποκαλούμενης τριγωνικής ζώνης ασφαλείας. Με ακτινοσκόπηση η βελόνα εισάγεται σε βάθος 1 cm στο εσωτερικό του πηκτοειδή πυρήνα παράλληλα στον άξονα του δίσκου κατά προτίμηση στο μέσον της απόστασης μεταξύ του άνω και κάτω χόνδρινου τελικού πετάλου. Στην περίπτωση που η επέμβαση υποβοηθείται ενδοσκοπικά τοποθετούνται διαστολείς για οπτικοποίηση και εισαγωγή του ενδοσκοπίου. Επίχυση με φυσιολογικό ορό βοηθάει την οπτικοποίηση των χώρων. Ανάλογα με τον τύπο του λέιζερ η εκπομπή του φωτός είναι συνεχόμενη ή με παλμούς ρυθμιζόμενης διάρκειας. Τα νέα λέιζερ προσφέρουν πλάγιας δέσμης δυνατότητες. Η τεχνολογική αυτή ανέλιξη παρέχει καλύτερο έλεγχο τοποθέτησης λέιζερ, καλύτερη οπτικοποίηση και συνεισφέρει στη μείωση κινδύνου τραυματισμού γύρω περιοχών ειδικά μπροστά στην σπονδυλική στήλη. Τα λέιζερ μπορούν επίσης να βοηθήσουν στην αποκόλληση μεγάλων θραυσμάτων που είναι δύσκολο να αφαιρεθούν από το ενδοσκόπιο. Αφού με τη χρήση λέιζερ αφαιρεθεί/αποκολληθεί επαρκής ποσότητα πηκτοειδούς πυρήνα το λέιζερ και οι διαστολείς αφαιρούνται. Η τομή κλείνει με ράμματα ή χειρουργική συγκόλληση και ο ασθενής μεταφέρεται στην ανάρρωση και παίρνει εξιτήριο την ίδια

μέρα. Ενδείξεις για δισκεκτομή με λέιζερ είναι πόνος στη πλάτη ή το πόδι και συναφή δισκοκήλη. Ρήξη του ιώδη δακτυλίου και πλευρική αποφυσική στένωση δεν αποτελούν αντενδείξεις. Νέες διατηρηματικές επεμβάσεις μπορούν να θεραπεύσουν τους ασθενείς με θραύσματα στον επισκληρίδιο χώρο. Το 2002 οι Tsoi και Yeung παρουσίασαν τα αναδρομικά αποτελέσματα 9 ετών της δικής τους διαδερματικής διατηρηματικής προσέγγισης, με 88,1% ποσοστά αποτελεσματικότητας.<sup>120</sup> Άλλες μελέτες παρουσιάζουν ποσοστό αναδρομικής αποτελεσματικότητας από 78% έως 85%.<sup>121</sup> Υπάρχει ανεπάρκεια κλινικών δοκιμών όσον αφορά τα διαδερματικά λέιζερ. Αρνητική πλευρά της χρήσης λέιζερ είναι η απότομη καμπύλη μάθησης του ιατρού. Επίσης παράλληλη χρήση λέιζερ κατά την ενδοσκοπική προσέγγιση αυξάνει σημαντικά το επίπεδο δυσκολίας για το χειρουργό.

## 2B. ΑΠΟΚΟΠΗ ΜΕ ΡΑΔΙΟΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ

Η αποκοπή με ραδιοσυχνότητες είναι άλλη μια επέμβαση που έχει εισβάλει στην κατηγορία των ελάχιστα παρεμβατικών μεθόδων τον 21 αιώνα. Η πρώτη πυρηνοπλαστική έγινε το 2000.

### ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η αποκοπή με ραδιοσυχνότητες συνδυάζει αφαίρεση του δίσκου και θερμική πήξη για αποσυμπίεση περιορισμένης δισκοκήλης. Ο ασθενής είναι ναρκωμένος και σε πρινή ή πλευρική θέση. Ακολουθείται η οπισθοπλάγια οδός με ένα θυροειδή στυλό διαμετρήματος 1.473 mm, υποβοηθούμενη από ακτινοσκόπηση. Σε αυτή τη φάση μπορεί να πραγματοποιηθεί δισκόγραμμα για επαλήθευση τοποθέτησης και θετικού τεστ πρόκλησης πόνου. Αποφεύγοντας προσεκτικά την επαφή με το ανώτερο τμήμα του δακτυλίου ο πυρήνας αποκολλάται πρώτος με ραδιοσυχνότητες καθώς το ραβδί προχωρά διεισδυτικά προκαλώντας μια διαδικασία διάσπασης και μετατρέποντας τον ιστό σε αέριο που απομακρύνεται από τη βελόνα. Καθώς το ραβδί υποχωρεί πραγματοποιείται πήξη που οδηγεί σε αλλαγή της φύσης των νευρικών ινών γύρω από το κανάλι στο εσωτερικό του πηκτοειδούς πυρήνα. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως και 6 φορές σε κάθε δίσκο. Ο ασθενής μεταφέρεται στην ανάρρωση και αργότερα την ίδια μέρα παίρνει εξιτήριο. Ενδείξεις για αυτή την επέμβαση αποτελούν ο πόνος στη μέση με ή χωρίς ριζοπάθεια, περιορισμένη δισκοκήλη επιβεβαιωμένη με μαγνητική, και αποτυχία συντηρητικών θεραπειών. Οι ασθενείς που πρέπει να αποκλειστούν από αυτή τη μέθοδο είναι αυτοί που παρουσιάζουν σπονδυλική στένωση, απώλεια ύψους του δίσκου της τάξης του 50%, οξεία εκφύλιση του δίσκου οσφυϊκό κάταγμα ή όγκο.

## 2Γ. ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΑΠΟΣΥΜΠΙΕΣΗ ΔΙΣΚΟΥ (DEKOMPRESSOR)

Λίγες αλλαγές έχουν γίνει στην αυτοματοποιημένη δισκεκτομή μέχρι πρόσφατα με τις καινοτομίες στην αυτοματοποίηση. Η τελευταία από αυτές είναι το Dekompressor® που εισήχθη το 2002.<sup>122</sup> Το Dekompressor® είναι ένα αναλώσιμο αυτόνομο όργανο χειρός που λειτουργεί με μπαταρίες και είναι συνδεδεμένο με ελικοειδή βελόνα. Η εξωτερική κάνουλα του έχει περίμετρο 1,5 mm και περιέχει μια ελικοειδή περιστρεφόμενη βελόνα. Όταν ενεργοποιείται η βελόνα περιστρέφεται δημιουργώντας αναρρόφηση που τραβά τον αλεσμένο πηκτοειδή πυρήνα από το δίσκο σε ειδικό θάλαμο στη βάση του οργάνου. Αφαιρείται από 0.5 μέχρι 2 cc περίπου περιεχόμενο από τον πηκτοειδή πυρήνα. Ο αποτελεσματικός αυτός τρόπος αφαίρεσης

υλικού από το πηκτοειδή πυρήνα μειώνει τη διάρκεια του χειρουργείου σχεδόν κατά 30 λεπτά, με την διάρκεια χρήσης του εξαρτήματος να μην ξεπερνά τα 10 λεπτά. Η διαδικασία πραγματοποιείται υπό την καθοδήγηση ακτινογράφησης. Η τεχνική αυτή όμως δεν έχει μελετηθεί με ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές και τα αποτελέσματα είναι περιορισμένα. Γενικά η διαδερμική δισκεκτομή έχει ποσοστά επιτυχίας από 60% έως 87%.<sup>123</sup>

## 2Δ. ΧΕΙΡΟΚΙΝΗΤΗ ΟΣΦΥΪΚΗ ΔΙΣΚΕΚΤΟΜΗ

Η διαδερματική οσφυϊκή δισκεκτομή πραγματοποιείται για περισσότερο από 30 χρόνια, με συνολικά αποτελέσματα να κυμαίνονται από απογοητευτικά έως καλά αποτελέσματα. Οι τεχνικές και ο εξοπλισμός που επιστρατεύονται ποικίλουν και έχουν δεχθεί θετικές και αρνητικές κριτικές. Η ερευνητική ομάδα του Hijikata έχει αναφερθεί πρώτη να πραγματοποιεί διαδερματική πυρηνεκτομή, το 1975.<sup>124</sup> Η επέμβαση συμπεριλάμβανε τη χρήση κανουλών από 3 έως 5 mm μέσω της οπισθοπλάγιας οδού, ξέστρα και χρονοβόρα δια χειρός αφαίρεση πηκτοειδούς πυρήνα με υποφυσιακή λαβίδα. Η θεωρία ήταν ότι η μείωση ενδοδισκικής πίεσης θα οδηγούσε και σε μείωση ερεθισμού της ρίζας του νεύρου και των αλογόνων αισθητήρων του πυρήνα. Η επέμβαση παρέμεινε περιοριστική ως το 1985, όταν η ερευνητική ομάδα του Onik ανέπτυξε έναν νέο μικρότερο σε μέγεθος τύπο βελόνας εισρόφησης που μείωσε τον κίνδυνο τραυματισμού των περιφερειακών νεύρων και του δακτυλίου, διευκόλυνε την απομάκρυνση του πηκτοειδούς πυρήνα χάρη σε ένα πολυλειτουργικό μηχανισμό αναρρόφησης/τεμαχισμού και μείωσε τη διάρκεια του χειρουργείου.<sup>125</sup>

## ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Και οι δυο διαδικασίες χρησιμοποιούν την οπισθοπλάγια οδό προς τον πάσχων δίσκο και γίνονται σε εξωτερική βάση. Η αυτοματοποιημένη διαδικασία πραγματοποιείται ενώ ο ασθενής είναι σε πλευρική κατάκλιση ή πρηνή θέση. Κενή θήκη διαμέτρου 1,02 χιλιοστών με κεντρικό τροκάρ οδηγείται στοχευμένα στο δίσκο. Το τροκάρ αφαιρείται και μια μικρότερη κάννουλα 2,5 mm με εσωτερικό αμβλύ τελικό χωνάκι τοποθετείται επάνω στη κενή θήκη. Αφού επιβεβαιωθεί η σωστή τοποθέτηση η κενή θήκη αφαιρείται αφήνοντας πίσω την κάννουλα των 2,5 mm. Ένα πριόνι 2 mm εισάγεται μέσα στη κάννουλα και ανοίγεται τρύπα στο δακτύλιο για την εισαγωγή της βελόνας εισρόφησης. Η βελόνα εισρόφησης είναι μια ακονισμένη κάννουλα που έχει εισαχθεί σε μια βελόνα. Κατά την αναρρόφηση υλικού από τον πυρήνα η εσωτερική ακονισμένη κάννουλα με μια ολισθητική κίνηση τομής κόβει τον ιστό ο οποίος στη συνέχεια αναρροφάται μαζί με την επίχυση μέσω της κάννουλας σε δοχείο περισυλλογής. Η βελόνα, που ενεργοποιείται με πεντάλ, μετακινείται μαλακά εμπρός και πίσω μέσα στο δίσκο, ώσπου να μην αναρροφάται πλέον καθόλου υλικό από το πυρήνα και στη συνέχεια περιστρέφεται. Όταν το υλικό που αναρροφάται μειωθεί σημαντικά, η βελόνα απομακρύνεται από το δίσκο, συνήθως μέσα σε 20 έως 40 λεπτά.<sup>126-128</sup>

## 3. ΔΙΑΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΕΝΔΟΣΚΟΠΙΚΗ ΔΙΣΚΕΚΤΟΜΗ

Ο Burman είναι ο πρώτος αναφερθείς συγγραφέας που εισήγαγε το 1931 την αντίληψη της άμεσης οπτικοποίησης του νωτιαίου μυελού. Λίγα χρόνια μετά οι Mixer και Barr πραγματοποίησαν ανοικτή πεταλεκτομή με δισκεκτομή για τη θεραπεία δισκοκήλης που προβαλλόταν στο νωτιαίο σωλήνα.<sup>129</sup> Αργότερα ο Pool εισήγαγε την

αντίληψη της ενδοραχιαίας ενδοσκόπησης και δημοσίευσε τα αποτελέσματα περισσότερων από 400 μυελοσκοπικές επεμβάσεις.<sup>130</sup> Λόγω χειρουργικών περιπλοκών της ενδοσπονδυλικής επέμβασης η ενδοσκοπία παρέμεινε ξεχασμένη μέχρι την έρευνα του Οοι κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 70.<sup>131</sup>

Η ερευνητική ομάδα του Hijikata το 1975 επέδειξε μια διαδερματική πυρηνοτομή με αρθροσκοπικό εξοπλισμό αφαίρεσης δίσκου για τη θεραπεία οπίσθιας η οπισθοπλάγιας οσφυϊκής δισκοκήλης με τοπική αναισθησία.<sup>132</sup> Ο Kambin περιέγραψε την τριγωνική ζώνη ασφαλείας και τα αποτελέσματα αρθροσκοπική μικροδισκεκτομής, στην οποία αρθροσκοπική οπτικοποίηση της κήλης μέσω της οπισθοπλάγιας οδού χρησιμοποιήθηκε για δισκεκτομή περιορισμένων κήλων. Το 1985 η ερευνητική ομάδα του Onik<sup>133</sup> ανέφερε την ανάπτυξη βελόνας αναρρόφησης/κοπής 2 mm με αμβλύ άκρο αυτοματοποιημένη διαδερματική δισκεκτομή σε O4-O5 ή υψηλότερα επίπεδα.

## ΔΙΑΤΡΗΜΑΤΙΚΗ ΕΝΔΟΣΚΟΠΙΚΗ ΔΙΣΚΕΚΤΟΜΗ

Η τεχνική της τρηματικής επισκληρίδιας ενδοσκοπικής δισκεκτομής αναπτύχθηκε από την επισκληρίδιο ενδοσκόπηση. Διαφέρει από άλλες διαδικασίες διαδερματικής δισκεκτομής στο ότι άμεση οπτικοποίηση του επισκληρίδιου χώρου, της παθολογίας και των νευροανατομικών δομών είναι εφικτή.<sup>134</sup>

Πρόσφατα η χρήση ενδοσκοπίας της σπονδυλικής στήλης έχει μεγεθύνει ώστε να συμπεριλαμβάνει κλειστή αποσυμπίεση νωτιαίας ρίζας, χρήση λέιζερ, επισκληρίδιες βιοψίες, διαδερματική διασωματική ένωση και λύση επισκληρίδιων συμφύσεων. Όπως και σε άλλου τύπου ελάχιστα παρεμβατικές χειρουργικές επεμβάσεις στο δίσκο, η επιλεκτικότητα είναι κρίσιμη.

Οι ασθενείς πρέπει να έχουν πόνο στα πόδια μεγαλύτερο από τον πόνο στη μέση και 6 μήνες ανεπιτυχή συντηρητική θεραπεία. Ιδανική παθολογία είναι μια παρθένα (μη χειρουργημένη) παράμεση τρηματική ή εξωτρηματική περιορισμένη κήλη ή μια μη περιορισμένη που καλύπτει λιγότερο από το 50% διαμετρικά του σπονδυλικού σωλήνα.

## ΤΟΠΙΚΕΣ ΕΝΔΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

### ΟΣΦΥΙΚΗ ΔΙΣΚΕΚΤΟΜΗ

Επί του παρόντος αποτελεί την ύψιστη μορφή ελάχιστα παρεμβατικής επέμβασης στη σπονδυλική στήλη. Σε αυτή τη τεχνική χρησιμοποιείται ενδοσκόπιο. Όλη η διαδικασία πραγματοποιείται με τοπική αναισθησία και ο ασθενείς είναι ξύπνιος, σε πρηνή θέση, καθ' όλη τη διάρκεια του χειρουργείου. Χαρτογραφείται το ακριβές σημείο εισόδου στο σώμα του ασθενούς με τη χρήση ενός συστήματος ενίσχυσης εικόνας ακτινών X και μια μακριά βελόνα σπονδυλικής στήλης εισέρχεται από την οπισθοπλάγια πλευρά της οσφυϊκής μοίρας. Μέσα από αυτή τη βελόνα εισάγεται ένα καλώδιο οδηγός. Τότε γίνεται στο δέρμα τομή 5 mm. Ακολούθως εισάγονται υπό τοπική αναισθησία ένας διαστολέας και μια λειτουργική κάννουλα, μέσα από την οποία θα περάσει το ενδοσκόπιο. Η κάμερα και το μόνιτορ που είναι προσαρτημένα στο ενδοσκόπιο επιτρέπουν την αφαίρεση του τμήματος του δίσκου που έχει υποστεί πρόπτωση υπό άμεση οπτικοποίηση. Το τραύμα κλείνει με ένα μόνο ράμα. Ο ασθενής συνήθως ανακουφίζεται άμεσα και περνει εξιτήριο σε 24 ώρες.



## ΑΥΧΕΝΙΚΗ ΔΙΣΚΕΚΤΟΜΗ

Οι δίσκοι στην αυχενική μοίρα δεν μπορούν να προσεγγιστούν ούτε από πίσω (λόγω του νωτιαίου μυελού), ούτε από εμπρός (λόγω του αεραγωγού), ούτε οπισθοπλάγίως (λόγω της σπονδυλικής αρτηρίας). Πολλοί συγγραφείς πιστεύουν ότι προσέγγιση από δεξιά πρέπει να ακολουθούν οι δεξιόχειρες ιατροί και προσέγγιση από αριστερά πρέπει να ακολουθούν οι αριστερόχειρες.

Η παρακέντηση πρέπει να γίνει μεταξύ του καρωτιδικού ελύτρου και του αεραγωγού. Εκείνη τη στιγμή ψηλαφίζεται με τον δείκτη και τον μέσο ο καρωτιδικός σφυγγός στο επίπεδο του δίσκου και οι δομές του καρωτιδικού ελύτρου εκτοπίζονται πλευρικά από τη χειροκίνητη ψηλάφηση.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μια μεγάλης κλίμακας μη τυχαιοποιημένη προοπτική έρευνα παρακολούθησε 402 ασθενείς που δέχτηκαν θεραπεία για ισχιαλγία προερχόμενη από κήλη.<sup>135</sup> Σχηματίστηκαν δυο ομάδες. Η πρώτη αποτελούταν από 220 ασθενείς που είχαν χειρουργηθεί. Η δεύτερη αποτελούταν από 182 ασθενείς που είχαν επιλέξει συντηρητικές (μη χειρουργικές) θεραπείες. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι η χειρουργική αντιμετώπιση ισχιαλγίας συνδεδεμένης με δισκοκήλη είναι γρηγορότερη και λίγο πιο αποτελεσματική από τη συντηρητική, μη χειρουργική αντιμετώπιση. Υπήρξαν αναφορές για περισσότερες από 7000 αυτοματοποιημένες και μη διαδερμικές οσφυϊκές δισκεκτομές.

Δημοσιευμένα αποτελέσματα υποδεικνύουν ένα γενικό ποσοστό επιτυχίας της τάξης του 75% με ποσοστό επιπλοκών στο 1%.

## ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΩΝ ΘΕΡΑΠΕΙΩΝ

### ΕΝΔΟΔΙΣΚΙΚΗ ΗΛΕΚΤΡΟΘΕΡΜΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η ερευνητική ομάδα του Appleby<sup>136</sup> με συστηματική επανεξέταση της υπάρχουσας βιβλιογραφίας, το 2006, κατέληξε ότι υπάρχουν αδιάσειστα στοιχεία για τη σχετική αποτελεσματικότητα και ασφάλεια της ενδοδισκικής ηλεκτροθερμικής θεραπείας. Ο Freeman<sup>137</sup> έκανε μια ιατρική αξιολόγηση των στοιχείων της μεθόδου (δημοσιευμένα επίσης το 2006) και κατέληξε ότι η αποτελεσματικότητά της παραμένει αδύναμη και δεν πληρεί επιστημονικά κριτήρια. Τα υπάρχοντα στοιχεία περιλαμβάνουν μια θετική τυχαία οργανωμένη κλινική μελέτη, μια αρνητική, επτά θετικές προοπτικές αξιολογήσεις<sup>138-144</sup> και δυο αρνητικές αναφορές.<sup>145,146</sup> Τα στοιχεία για την ενδοδισκική ηλεκτροθερμική θεραπεία είναι μετριοπαθή όσον αφορά στη διαχείριση χρόνιου δισκογενή πόνου.

### ΧΡΗΣΗ DISCTRODE

Η ερευνητική ομάδα του Finch<sup>147</sup> μελέτησε 31 ασθενείς που έκαναν Δακτυλιοπλαστική με ραδιοσυχνότητες και τους σύγκρινε με 15 ασθενείς που έκαναν συντηρητική διαχείριση. Η οπτική αναλογική κλίμακα πόνου μειώθηκε σημαντικά. Τα στοιχεία για δακτυλιοπλαστική συχνοτήτων ήταν περιορισμένα για βραχυπρόθεσμη βελτίωση και ασαφή για μακροπρόθεσμη βελτίωση στην διαχείριση χρόνιου δισκογενή πόνου στη μέση.

## ΔΙΑΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΑΠΟΣΥΜΠΙΕΣΗ ΔΙΣΚΟΥ

Η ερευνητική ομάδα του Waddell<sup>148</sup> σε μια συστηματική επανεξέταση βασισμένη στην Cochrane Collaboration Review και μεταανάλυση χειρουργικών παρεμβάσεων στην οσφυϊκή μοίρα,<sup>149</sup> ταυτοποίησε τρεις κλινικές μελέτες συγκρίνοντας την αυτοματοποιημένη διαδερμική οσφυϊκή δισκεκτομή με άλλες χειρουργικές τεχνικές και κατέληξε ότι τα στοιχεία ήταν περιορισμένα και αντικρουόμενα. Τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες πάνω στην αυτοματοποιημένη διαδερματική αποσυμπίεση και την δισκεκτομή συμπεριλάμβαναν αυτήν της ερευνητικής ομάδας του Chatterjee<sup>150</sup> και αυτήν της επιστημονικής ομάδας του Haines.<sup>151</sup> Η ομάδα του Chatterjee σύγκρινε την αυτοματοποιημένη διαδερματική αποσυμπίεση με μικροδισκεκτομή για την θεραπεία περιορισμένης οσφυϊκής δισκοκήλης, σε τυχαιοποιημένη μελέτη με τυφλή εκτίμηση. Η μελέτη αφορούσε σε 71 ασθενείς με κύριο σύμπτωμα τον ακτινωτό πόνο, αποτυχία συντηρητικής θεραπείας (διάρκειας τουλάχιστον 6 μηνών) και μαγνητική απεικόνιση περιορισμένης δισκοκήλης σε ένα μόνο επίπεδο με προβολή δίσκου μικρότερη από το 30% του σπονδυλικού σωλήνα. Η μελέτη απέρριψε ασθενείς με κυρίαρχα συμπτώματα: πόνο στη μέση, έκθλιψη δισκοκήλης, υπο-αρθρική ή τρηματική στένωση, ή πολλαπλά επίπεδα κήλης. Το πόρισμα γνωστοποίησε ικανοποιητικά αποτελέσματα για το 29% των ασθενών με αυτοματοποιημένη διαδερμική οσφυϊκή δισκεκτομή και το 80% των ασθενών με μικροδισκεκτομή. Κατέληξαν ότι η αυτοματοποιημένη διαδερμική οσφυϊκή δισκεκτομή είναι αναποτελεσματική μέθοδος θεραπείας για μικρές περιορισμένες οσφυϊκές δισκοκήλες.

Η ομάδα του Haines διεξήγαγε τυχαιοποιημένες μελέτες συγκρίνοντας την αυτοματοποιημένη διαδερμική οσφυϊκή δισκεκτομή με την συμβατική δισκεκτομή ως μια πρώτη γραμμή αντιμετώπισης οσφυϊκής δισκοκήλης.<sup>151</sup> Η μελέτη στάθμισε την μετεγχειρητική εξέλιξη βάση των σωματικών ενδείξεων που σχετίζονται με τη σοβαρότητα πόνου στη μέση και την ισχιαλγία, αλλά χρησιμοποίησε τροποποιημένη κλίμακα Roland για εκτίμηση της αναπηρίας και το έντυπο SF-36 αναφοράς γενικής κατάστασης υγείας. Το κύριο καταληκτικό σημείο ήταν η εκτίμηση του ίδιου του ασθενή για την μετεγχειρητική εξέλιξη, 12 μήνες μετά την επέμβαση. Η μελέτη συμπεριέλαβε ασθενείς με πόνο στο ένα πόδι ή παραίσθηση και καθόλου ιστορικό χειρουργείου στην οσφυϊκή μοίρα, ενώ απέκλεισε περιπτώσεις με μέτρια ή προχωρημένη οσφυϊκή σπονδύλωση, σπονδυλολίσθηση, πλευρική επαναστένωση, δισκοκήλη με προβολή που καταλαμβάνει πάνω από το 30% της διαμέτρου του νωτιαίου σωλήνα, μετακίνηση προβολής κήλης μεγαλύτερη του 1 mm με άνω ή κάτω κατεύθυνση, ασβεστωμένη δισκοκήλη, πλευρική κήλη, οπίσθιο ύψος δίσκου μικρότερο από 3 mm. Το ποσοστό επιτυχίας για την αυτοματοποιημένη διαδερμική οσφυϊκή δισκεκτομή ήταν 41% σε σύγκριση με την συμβατική δισκεκτομή που είχε 40%. Παρ'όλα αυτά κατέληξαν ότι η μελέτη, λόγω της ανεπαρκούς προσέλευσης ασθενών, δεν είχε τη δύναμη να αναγνωρίσει σημαντικές κλινικά διαφορές. Οι προοπτικές εκτιμήσεις και περιγραφικές μελέτες<sup>152,153</sup> όλες ανέφεραν θετικά αποτελέσματα για περισσότερο από το 50% ασθενών σε μεγάλο πληθυσμό. Τα στοιχεία είναι μετριοπαθή για τη βραχυπρόθεσμη και περιορισμένα για τη μακροπρόθεσμη ανακούφιση.<sup>154</sup>

## ΔΙΑΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΔΙΣΚΕΚΤΟΜΗ ΜΕ ΛΕΙΖΕΡ

Σύμφωνα με τη συστηματική επανεξέταση του Waddell<sup>148</sup> δεν υπάρχουν αποδεκτά στοιχεία για τη δισκεκτομή με λέιζερ. Οι σχετικές μελέτες αξιολόγησής ης

αποτελεσματικότητας της διαδερμική δισκεκτομής με λέιζερ συμπεριλάμβαναν 14 οι οποίες την απέκλειαν. Δεν υπέρχον καθόλου τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές. Τα στοιχεία είναι μετριοπαθή για βραχυπρόθεσμη και περιορισμένα για μακροπρόθεσμη ανακούφιση.<sup>154-159</sup>

## ΔΙΣΚΕΚΤΟΜΗ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

Δεν υπάρχουν καθόλου συστηματικές έρευνες αξιολόγησης της αποτελεσματικότητας της πυρηνοπλαστικής μέχρι τώρα στην υπάρχουσα βιβλιογραφία. Σε αυτήν έχει γίνει αναφορά σε έξι προοπτικές μελέτες.<sup>160-165</sup> Οι Sharps και Isaac αξιολόγησαν 49 ασθενείς.<sup>161</sup> Τα στοιχεία αυτής της μεθόδου είναι περιορισμένα για τη βραχυπρόθεσμη και μακροπρόθεσμη ανακούφιση.

## ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΑΠΟΣΥΜΠΙΕΣΗ ΔΙΣΚΟΥ

Δεν υπάρχουν συστηματικές μελέτες αξιολόγησης της διαδερματικής αποσυμπίεσης δίσκου με τη χρήση DeKompressor. Επίσης δεν υπάρχουν κατευθυντήριες γραμμές που να περιγράφουν αυτή τη τεχνολογία. Η ερευνητική ομάδα του Amoretti<sup>162</sup> δημοσίευσε αποτελέσματα κλινικής παρακολούθησης 50 ασθενών στους οποίους έγινε διαδερμική οσφυϊκή δισκεκτομή με χρήση DeKompressor. Αν και δεν ήταν μια τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη η συλλογή δεδομένων θεωρήθηκε έγκυρη. τα στοιχεία για διαδερματική αποσυμπίεση δίσκου με χρήση DeKompressor είναι περιορισμένα για βραχυπρόθεσμη και μακροπρόθεσμη ανακούφιση.

## ΝΕΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

Οι υπάρχουσες θεραπείες επιχειρούν περισσότερο να μειώσουν το πόνα παρά να επιδιορθώσουν τον εκφυλισμένο δίσκο. Είναι κυρίως συντηρητικές και καταπραΰντικές, στοχευμένες να επιτρέπουν στον ασθενή να γυρίσει στην εργασία του. Κυμαίνονται από κατάκλιση (που δεν συνιστάται πλέον) σε αναλγησία, στη χορήγηση μυοχαλαρωτικών ή ενέσεων κορτικοστεροειδών, ή τοπική αναισθησία και αρθροτικές θεραπείες. Διάφορες παρεμβάσεις (π.χ. ενδοδισκική ηλεκτροθεραπεία) επίσης χρησιμοποιούνται, αλλά παρά τις δηλώσεις επιτυχίας οι κλινικές μελέτες μέχρι τώρα χαρακτηρίζουν τη χρήση τους μικρής άμεσης ωφέλειας.<sup>144</sup> Ο σχετικός με εκφυλισμό δίσκου πόνος θεραπεύεται επίσης χειρουργικά, είτε με δισκεκτομή, είτε με ακινητοποίηση του επηρεασμένου δίσκου, αλλά η χειρουργική αντιμετώπιση του πόνου προτείνεται σε μόνον ένα για κάθε 2000 επεισόδια πόνου στη πλάτη, στο UK. Στις ΗΠΑ το ποσοστό χειρουργικής θεραπείας είναι πέντε φορές υψηλότερο.

Το ποσοστό επιτυχίας όλων αυτών των επεμβάσεων είναι σχετικά το ίδιο. Παρ' όλο που μια πρόσφατη μελέτη υποδεικνύει ότι το χειρουργείο βελτιώνει τον ρυθμό ανάρρωσης σε καλά επιλεγμένους ασθενείς, το 70% με 80% των ασθενών με προφανείς χειρουργικές ενδείξεις για πόνο στη πλάτη ή δισκοκήλη τελικά αναρρώνουν με ή χωρίς χειρουργείο.<sup>168,169</sup>

Επειδή ο εκφυλισμός του μεσοσπονδύλιου δίσκου θεωρείται ότι οδηγεί σε εκφυλισμό παρακείμενων ιστών και υπάρχει ο κίνδυνος ανάπτυξης σπονδυλικής στένωσης, αναπτύσσονται νέες θεραπείες, στοχευμένες στην αποκατάσταση του ύψους και της βιομηχανικής λειτουργίας του δίσκου. Μερικές από τις βιολογικές αυτές θεραπείες περιγράφονται συνοπτικά στη συνέχεια.

## ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΠΟ ΤΟ ΣΤΟΜΑ ΘΕΙΚΗΣ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗΣ ΚΑΙ ΧΟΝΔΡΟΪΤΙΝΗΣ

Οι παράγοντες αυτοί έχουν χρησιμοποιηθεί σε πολλές κλινικές μελέτες πάνω στην οστεοαρθρίτιδα περιφερειακών αρθρώσεων. Οι σχετικές αναφορές έχουν γενικά μεγαλοποιηθεί από προκατάληψη.<sup>170</sup>

Υπάρχουν παρ' όλα αυτά στοιχεία που συνιστούν ότι η θεική γλυκοζαμίνη και χονδροϊτίνη ενισχύουν την φυσική υπερμεταβολική διορθωτική αντίδραση των χονδροσιτών και καθυστερούν την ενζυματική αποδόμηση του χόνδρου. Η ερευνητική ομάδα του Derby έκανε μια πιλοτική μελέτη κατά την οποία χρησιμοποιήθηκε ενδοδισκικά, ενέσιμη θεική γλυκοζαμίνη και χονδροϊτίνη με διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και υπερτονική δεξτρόζη για να προωθηθεί επιδιορθωτική αντίδραση στο μεσοσπονδύλιο δίσκο.<sup>171</sup> Υπέθεσαν ότι η μείωση πόνου και αναπηρίας που παρατηρήθηκε σε ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκε μείγμα γλυκοζαμίνης και χονδροϊτίνης είναι αποτέλεσμα της ευνοϊκής τροποποίησης στο βιοχημικό περιβάλλον του μεσοσπονδύλιου δίσκου. Η κλινική αποτελεσματικότητα είναι αντίστοιχη με αυτή της ενδοδισκικής ηλεκτροθερμικής θεραπείας, αλλά πιο οικονομική. Υπάρχει ανάγκη για ελεγχόμενες τυχαίοποιημένες συγκριτικές μελέτες ώστε να εξακριβωθεί η αποτελεσματικότητα του ενδοδισκικού εμβολιασμού με θεική γλυκοζαμίνη και χονδροϊτίνη.

### ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Στόχος αυτών των θεραπειών είναι η επίτευξη κυτταρικής διόρθωσης της θεμέλιας ουσίας του εκφυλισμένου δίσκου. Μια προσέγγιση ήταν η κινητοποίηση κυττάρων του δίσκου για παραγωγή θεμέλιας ουσίας. Αυξητικοί παράγοντες μπορούν να αυξήσουν τον ρυθμό σύνθεσης θεμέλιας ουσίας έως και πέντε φορές.<sup>172,173</sup> Αντίθετα οι κιτοκίνες οδηγούν σε απώλεια θεμέλιας ουσίας επειδή αναστέλλουν τη σύνθεσή της και προωθούν τη παραγωγή συντελεστών που εμπλέκονται στη διάσπαση του ιστού.<sup>174</sup> Οι πρωτεΐνες αυτές αποτελούν έτσι στόχο της γενετικής μηχανικής. Άμεσος εμβολιασμός αυξητικών παραγόντων ή αναστολών κιτοκίνης αποδείχθηκε ανεπιτυχής λόγω βραχυπρόθεσμης αποτελεσματικότητας. Έτσι η γονιδιακή θεραπεία είναι τώρα υπο διερεύνηση. Έχει την προοπτική να διατηρήσει υψηλά επίπεδα σχετικού αυξητικού παράγοντα ή αναστολής στον ιστό.

Στη γονιδιακή θεραπεία, το γονίδιο ενδιαφέροντος (π.χ. αυτό που είναι υπεύθυνο για τη παραγωγή ενός αυξητικού παράγοντα όπως είναι ο μεταμορφωτικός αυξητικός-β παράγοντας ή διασταλτική ιντερλευκίνη-1) εισάγεται σε στοχευόμενα κύτταρα τα οποία στη συνέχεια παράγουν την σχετική πρωτεΐνη.<sup>175</sup> Αυτή η προσέγγιση είναι μια τεχνική εφικτή στο δίσκο όπως αποδείχτηκε με τη μεταφορά γονιδίου σε κουνέλι, που σχεδόν εξαπλασίασε τη παραγωγή μεταμορφωτικού αυξητικού-β. Παρ' όλα αυτά, η θεραπεία απέχει πολύ από κλινική χρήση. Πέρα από τη τεχνική δυσκολία διανομής του γονιδίου σε ανθρώπινα δισκικά κύτταρα, η σωστή επιλογή θεραπευτικών γονιδίων απαιτεί καλύτερη κατανόηση της παθογένειας του εκφυλισμού. Επιπλέον η κυτταρική πυκνότητα σε φυσιολογικό ανθρώπινο δίσκο είναι χαμηλή και πολλά από αυτά είναι νεκρά κύτταρα.<sup>20</sup> Κινητοποίηση των κυττάρων που υπολείπονται μπορεί να είναι ανεπαρκής για τη διόρθωση της θεμέλιας ουσίας.<sup>176</sup>

Η κυτταρική εμφύτευση από μόνη της ή σε συνδυασμό με γονιδιακή θεραπεία είναι μια προσέγγιση που μπορεί να υπερνικήσει την ανεπάρκεια κυττάρων του εκφυλισμένου δίσκου. Εδώ τα κύτταρα του εκφυλισμένου δίσκου συμπληρώνονται με πρόσθεση νέων κυττάρων, είτε μόνων τους είτε με τη χρήση κατάλληλου μέσου. Η

τεχνική αυτή έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία σε αρθρωτικούς χόνδρους<sup>177,178</sup> και έχει επιχειρηθεί με κάποια επιτυχία σε δίσκους ζώων.<sup>179</sup> Παρ' όλα αυτά για την ώρα δεν υπάρχει προφανής πηγή χρήσιμων κλινικά κυττάρων για τον ανθρώπινο δίσκο και κυρίως τον πυρήνα, που συγκεντρώνει και το ενδιαφέρον.<sup>180</sup> Επιπλέον, οι συνθήκες στους εκφυλισμένους δίσκους και ειδικά στην περίπτωση που η θρεπτική δίοδος έχει διαταραχθεί μπορεί να μην ευνοήσουν την επιβίωση των εμφυτευμένων κυττάρων.<sup>50</sup> Όπως και να' χει, αυτόλογη μεταφορά δισκικών κυττάρων έχει χρησιμοποιηθεί κλινικά σε μικρές ομάδες ασθενών<sup>180</sup> με θετικά αρχικά αποτελέσματα.

Ο S. Richardson από το University of Manchester, σε συνεργασία του με την Arthro Kinetics παρήγαγε με επιτυχία κύτταρα πηκτοειδούς πυρήνα με τη χρήση μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων.<sup>181</sup> Έχει αναπτύξει κλινική διαδικασία εμβολιασμού των κυττάρων αυτών στο δίσκο, αυξάνοντας έτσι το δισκικό ύψος και παρέχοντας επιπλέον μετρίαση κραδασμών σε εκφυλισμένους δίσκους. Η επέμβαση αυτή αφορά στη μείξη μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων σε τζελ κολλαγόνου και εν συνεχεία εμφύτευση του τζελ στο μεσοσπονδύλιο δίσκο με αρθροσκοπική διαδικασία. Η ιδέα να χρησιμοποιηθούν τα βλαστοκύτταρα του ίδιου του ασθενούς στην αναζωογόνηση του δυσλειτουργικού μεσοσπονδύλιου δίσκου είναι πολλά υποσχόμενη.

Προς το παρόν, παρ' όλο που η πειραματική έρευνα επιδεικνύει τη προοπτική αυτών των κυτταρικών θεραπειών, πολλά εμπόδια αποτρέπουν τη κλινική τους χρήση. Ακόμη αυτές οι θεραπείες είναι απίθανο να είναι κατάλληλες για όλους τους ασθενείς. Θα χρειασθεί κάποια μέθοδος κατάλληλης επιλογής εάν πρόκειται η επιτυχία της να γίνει πραγματικότητα.

## ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗ ΠΥΚΤΟΕΙΔΟΥΣ ΠΥΡΗΝΑ

Στόχος της προσθετικής, που ακολουθεί μετά την απομάκρυνση του δίσκου, είναι να αποτρέψει την ελάττωση του ύψους του και τις επακόλουθες βιομηχανικές και βιοχημικές αλλαγές. Ρευστές ουσίες μπορούν να εμβολιαστούν μέσω μικρής τομής, επιτρέποντας την ελάχιστη επεμβατική πρόσβαση στο χώρο του δίσκου. Τα υγρά μπορούν να συνηφαστούν με τις ανώμαλες χειρουργικές ατέλειες, μπορούν ακόμα και να συσσωματωθούν με τον παραπλήσιο ιστό. Ενέσιμα βιοϋλικά επιτρέπουν την ενοποίηση και ομοιόμορφη διάχυση κυττάρων και/ή θεραπευτικών παραγόντων. Έχουν παραχθεί ενέσιμα βιοϋλικά που μπορούν να λειτουργήσουν ως υποκατάστατα του πηκτοειδή πυρήνα.<sup>182</sup>

Με σκοπό την αξιολόγηση κάποιας ανασυνδιασμένης πρωτεΐνης παράχθηκε σε ενέσιμη μορφή πολυμερές από συνδυασμένες αλληλουχίες αμινοξέων, το οποίο μπορεί να λειτουργήσει ως βιοϋλικό για τη προσθετική του πηκτοειδούς πυρήνα.

Το εμφύτευμα NuCore™ Injectable Nucleus παράγεται από την εταιρεία Spine Wave. Ο NuCore™ αποτελείται από διάλυμα πρωτεϊνικών πολυμερών σε έναν πολυλειτουργική διασυνδεδετικό παράγοντα. Μιμείται στενά τη συγκέντρωση πρωτεϊνών, τη συγκέντρωση νερού, το pH και τα πολυσύνθετα μέρη του φυσικού πηκτοειδούς πυρήνα. Περιγραφικές μελέτες συνιστούν ότι ο NuCore™ Injectable Nucleus έχει τη δυνατότητα να αποκαταστήσει τη βιομηχανική του δίσκου μέσω μικροδισκεκτομής.

## ΑΝΑΖΩΟΓΟΝΗΣΗ ΤΟΥ ΧΟΝΔΡΙΝΟΥ ΤΕΛΙΚΟΥ ΠΕΤΑΛΟΥ

Νέες μελέτες αναζητούν μεθόδους αποκατάστασης και αναγέννησης του χόνδρινου τελικού πετάλου.<sup>183</sup> Στόχος είναι η επαναφορά του πετάλου όσο το δυνατό πιο κοντά στη αρχική φυσική του κατάσταση, πριν τον εκφυλισμό του δίσκου. Η φύση της θεραπείας εξαρτάται από τη μορφή του εκφυλισμού του πετάλου και από τη μορφή του βοηθητικού μέσου που πρόκειται να χορηγηθεί στη πυρηνική κοιλότητα. Η θεραπεία του πετάλου δύναται να ενισχύσει την ενσωμάτωση βιοϋλικών και την επιβίωση των κυττάρων, αλλά παραμένει μακροπρόθεσμη και προς το παρόν ανεπαλήθευτη μεθοδολογία.

## ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ ΔΙΣΚΟΥ

Η νεότερη τεχνολογία στη χειρουργική πλάτης είναι η χειρουργική εμφύτευση τεχνητού δίσκου.<sup>184</sup> Σε αυτή την επέμβαση ο βιολογικός τραυματισμένος ή εκφυλισμένος δίσκος αφαιρείται και στη θέση του εμφυτεύεται ένας συνθετικός. Η τεχνολογία αυτή χρησιμοποιείται εδώ και πολλά χρόνια στην Ευρώπη αλλά στην Αμερική είναι κυρίως σε στάδιο κλινικών μελετών. Η αντικατάσταση μεσοσπονδύλιου δίσκου είναι όχι μόνον εφικτή αλλά και ένας συναρπαστικός τομέας κλινικής έρευνας, με επαναστατικές προοπτικές θεραπείας σπονδυλικής εκφύλισης. Η παρασκευή προσθετικού δίσκου θέτει τεράστιες προκλήσεις, αλλά τα πρώτα αποτελέσματα των προσπαθειών είναι ευοίωνα. Το μέλλον αυτού του κλάδου και των ασθενών προβλέπεται λαμπρό.

## ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΗΣ ΕΚΦΥΛΙΣΗΣ ΤΟΥ ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΟΥ ΔΙΣΚΟΥ

Οι ιστολογικές αλλοιώσεις κατά την εκφύλιση του μεσοσπονδύλιου δίσκου επηρεάζουν τόσο τα κύτταρα όσο και την ενδοκυττάρια ουσία. Αρχικά τα χονδροκύτταρα κάτω από την επίδραση των βλαπτικών παραγόντων ερεθίζονται και πολλαπλασιάζονται. Έτσι ενώ τα κύτταρά τους, τόσο του πηκτοειδούς πυρήνα όσο και του ινώδους δακτυλίου του φυσιολογικού δίσκου απαντούν μονήρη, κατά την εκφύλιση πολλαπλασιαζόμενα σχηματίζουν ομάδες κυττάρων μέσα σε λακκούβες της μεσοκυττάριας ουσίας. Ο αριθμός των κυττάρων σε κάθε ομάδα αντανακλά και τη βαρύτητα της εκφύλισης. Έτσι όταν υπάρχουν μικρές ομάδες με 3-7 χονδροκύτταρα ανά ομάδα το σκορ βαρύτητας είναι 3. Μεσαίες ομάδες με 8-15 κύτταρα ανά ομάδα δίνουν σκορ 4 και μεγάλες ομάδες με περισσότερα από 15 κύτταρα ανά ομάδα δίνουν σκορ βαρύτητας 5 (Boos et al. 2002).

Τα κύτταρα πολλαπλασιάζονται σαν μια αντίδραση προσαρμογής, αλλά στο τέλος πεθαίνουν είτε μέσω του μηχανισμού της νέκρωσης ή της απόπτωσης. Αλλοιώσεις όμως υφίσταται και η μεσοκυττάρια ουσία. Έτσι παρατηρούνται δομικές αλλοιώσεις που χαρακτηρίζονται από σχισμές και χάσματα που προσβάλλουν τόσο τον ινώδη δακτύλιο όσο και τον πηκτοειδή πυρήνα. Αν οι σχισμές είναι σπάνιες το σκορ βαρύτητας είναι 1, αν υπάρχουν από 1-3 σχισμές το σκορ είναι 2 και αν είναι άφθονες το σκορ είναι 3. Οι σχισμές του ινώδους δακτυλίου συνήθως είναι συγκεντρικές και του πηκτοειδούς πυρήνα ακτινωτές.

Όταν στη περιφέρεια του δίσκου σχηματίζεται ουλώδης ιστός με αγγεία ή όταν υπάρχουν μεγάλα ελλείμματα τότε το σκορ βαρύτητας γίνεται 4. Μια άλλη αλλοίωση που παρατηρείται συνίσταται στην εμφάνιση ηωσινόφιλων άμορφων κοκκίων μέσα στην ινοχόνδρινη θεμέλια ουσία. Όταν τα κοκκία είναι σπάνια το σκορ βαρύτητας είναι 1 όταν υπάρχουν μέτριες από 1-3 ποσότητες το σκορ είναι 2 και όταν τα κοκκία είναι άφθονα σε ποσότητα το σκορ βαρύτητας είναι 3. Τέλος παρατηρείται και βλενωδής εκφύλιση της εξωκυττάριας ουσίας που χαρακτηρίζεται από την παρουσία κυστικών περιοχών ομαλού ή ανώμαλου σχήματος που περιέχουν όξινους βλεννοπολυσακχαρίτες, γύρω από τις ομάδες των κυττάρων. Όταν οι περιοχές είναι σπάνιες το σκορ βαρύτητας είναι 1, όταν είναι λίγες και μέτριας ποσότητας από 1-3 σε αριθμό το σκορ είναι 2 και όταν είναι άφθονες, το σκορ είναι 3. Εξυπακούεται όταν υπάρχει απουσία οποιασδήποτε από τις παραπάνω αλλοιώσεις, το σκορ είναι 0 σε κάθε κατηγορία.

Παράμετροι ιστολογικής εκτίμησης και διαβάθμισης της εκφύλισης του δίσκου  
(Boos et al. 2002)

| Κριτήρια  | Διαβάθμιση  |
|---|---|
| Κυτταρική πυκνότητα<br>(πολλαπλασιασμός χονδροκυττάρων)<br>Πολλαπλά χονδροκύτταρα<br>αναπτυσσόμενα σε μικρές ομάδες ή<br>αθροίσεις αφοριζόμενα<br>ευκρινώς από ένα περίγραμμα θεμέλιας<br>ουσίας  | 0= όχι πολλαπλασιασμός<br>1= αυξημένη κυτταρική πυκνότητα<br>2= δυο ενωμένα (ζεύγος) χονδροκύτταρα<br>3= μικρή ομάδα με 3-7 χονδροκύτταρα<br>4= μεσαία ομάδα με 8-15 χονδροκύτταρα<br>5= μεγάλη ομάδα με > 15 χονδροκύτταρα |
| Δομικές αλλοιώσεις<br>(σχισμές και χάσματα)<br>Συγκεντρικές σχισμές που ακολουθούν<br>τον προσανατολισμό των δεσμίδων των<br>ινών κολλαγόνου του ινώδους δακτυλίου<br>ή ακτινωτά ελλείμματα που εκτείνονται<br>από τον πηκτοειδή πυρήνα προς τα<br>εξωτερικά πετάλλια του ινώδους<br>δακτυλίου παράλληλα ή λοξά προς το<br>τελικό πέταλο του δίσκου | 0= απουσία<br>1= σπάνια<br>2= παρουσία μεσαίου μεγεθους-3 σε<br>αριθμό<br>3= άφθονα<br>4= ουλή/ελλείμματα ιστού   |
| Κοκκιώδεις αλλοιώσεις<br>Ηωσινόφιλα άμοφρα κοκκία μέσα στην<br>ινοχόνδρινη θεμέλια ουσία  | 0= απουσία<br>1= σπάνια<br>2= παρουσία μέτριων ποσοτήτων μεταξύ<br>1-3<br>3= άφθονα   |
| Βλεννώδης εκφύλιση<br>Κυστικές, ωοειδείς ή ανώμαλου<br>σχήματος περιοχές με έντονη εναπόθεση<br>όξινων βλεννοπολυσακχαριτών (δηλαδή<br>θεικών γλυκοζαμινογλυκανών) που<br>βάφονται βαθειά γαλάζιες με Alc-PAS   | 0= απουσία<br>1= σπάνια<br>2= παρουσία μέτριων ποσοτήτων μεταξύ<br>1-3<br>3= άφθονα   |
| Σκορ ιστολογικής εκφύλισης  | 0-15 πόντοι   |



## Η O-GlcNAc ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ

### ΙΣΤΟΡΙΚΟ

Η O-GlcNAc είναι ξεχωριστή από όλες τις άλλες κοινές μορφές πρωτεϊνικής γλυκοζυλίωσης από διάφορες απόψεις (Εικόνα 1A και 1B). (1) Συμβαίνει αποκλειστικά μέσα στα πυρηνικά και κυτταροπλασματικά διαμερίσματα του κυττάρου. (2) Η O-GlcNAc γενικά δεν επιμηκύνεται ή τροποποιείται ώστε να σχηματίσει πολυπλοκότερες δομές. (3) Προσκολλάται και απομακρύνεται πολλές φορές στη διάρκεια ζωής ενός πεπτιδίου, και συχνά προσκολλάται και απομακρύνεται ταχύτατα, σε διαφορετικά επίπεδα και σε διαφορετικές θέσεις πάνω στο πολυπεπτίδιο. Τις περισσότερες φορές, η O-GlcNAc τροποποίηση εμφανίζει ομοιότητες με την πρωτεϊνική φωσφορυλίωση και όχι τόσο με την κλασσική πρωτεϊνική γλυκοζυλίωση. Η έρευνα πάνω στην O-GlcNAc σχετίζεται ειδικότερα με χρόνιες ανθρώπινες ασθένειες στις οποίες περιλαμβάνονται ο διαβήτης, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές και ο καρκίνος. Ένα μακροπρόθεσμο δόγμα, που ακόμα δημοσιεύεται σε πολλά εγχειρίδια κυτταρικής βιολογίας και βιοχημείας σήμερα, είναι ότι η πρωτεϊνική γλυκοζυλίωση δεν συμβαίνει μέσα στα πυρηνικά και κυτταροπλασματικά διαμερίσματα του κυττάρου. Αυτή η άποψη είναι εμφανώς σωστή για τυπικές N-γλυκάνες και O-γλυκάνες που προσκολλώνται σε πρωτεΐνες μέσω γλυκοζυλοτρανσφερασών με τις ενεργές περιοχές τους να είναι μέσα στα αυλικά διαμερίσματα του ενδοπλασματικού δικτύου και του συμπλέγματος Golgi. Ωστόσο, είναι πλέον ξεκάθαρο ότι κάποιοι εξειδικευμένοι τύποι πρωτεϊνικής γλυκοζυλίωσης, πράγματι συμβαίνουν μέσα στον πυρήνα και στο κυτταρόπλασμα. Όντως, στη διάρκεια των δυο προηγούμενων δεκαετιών έγινε γνωστό ότι η O-GlcNAc είναι μια από τις άφθονες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις μέσα στα πυρηνοκυτταροπλασματικά διαμερίσματα όλων των μεταζώων, συμπεριλαμβανομένων φυτών, ζώων και των ιών που τους μολύνουν (Εικόνες 1A και 1B και 2A και 2B).

Η O-GlcNAc ανακαλύφθηκε το 1983, όταν η καθαρισμένη γαλακτοσιδική τρανσφεράση βοοειδούς και ο ραδιοσημασμένος δότης υποστρώματός της (UDP-[ $\alpha$ H]γαλακτόζη), χρησιμοποιήθηκαν για να ανιχνεύσουν O-GlcNAc τερματικά γλυκοσυνδετικά σε ζωντανά κύτταρα θύμου ποντικού, σε B και T λεμφοκύτταρα σπληνός και σε μακροφάγα. Η γαλακτοσιδική τρανσφεράση είναι μια γλυκοζυλική τρανσφεράση του Golgi που προσκολλά γαλακτόζη σε μια  $\beta$ 1-4 σύνδεση σε σχεδόν όλες τις τελικές N-ακετυλογλυκοζαμινικές ρίζες. Σε αντίθεση με τις προσδοκίες μας, ανάλυση του προϊόντος, που περιλαμβάνει απελευθέρωση από την πρωτεΐνη από αλκαλοεπαγόμενη  $\beta$ -εξάλειψη και αντοχή στο χώρισμα από την πεπτιδική N-γλυκοζιδάση F ( PNGase F), έδειξε ότι οι περισσότερες από τις γλυκοσιδικές γλυκάνες υπήρχαν μέσα στο κύτταρο ως μοναδικά O-συνδεδεμένα O-GlcNAc μόρια. Μελέτες για τον υποκυττάριο εντοπισμό της O-GlcNAc σε ήπαρ αρουραίου καθιέρωσαν ότι είναι πιο άφθονη μέσα στην χρωματίνη, σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στους πυρηνικούς πόρους του πυρηνικού φακέλου, και επίσης είναι παρούσα στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου. Δεν υπάρχει προς το παρόν απόδειξη για την παρουσία O-GlcNAc σε περιοχές πολυπεπτιδίων που βρίσκονται έξω από τα κύτταρα ή μέσα σε αυλικά διαμερίσματα. Η γαλακτοσιδική τρανσφεράση σε συνδυασμό με δότες υποστρώματος είτε από ραδιοσημασμένη UDP-γαλακτόζη, είτε από χημικά τροποποιημένη UDP-γαλακτόζη, στην οποία μπορούν να προσκολληθούν φθορίζοντα άκρα ή άκρα βιοτίνης, ακόμα αντιπροσωπεύει μια από τις καλύτερες μεθόδους για την ανίχνευση και την μελέτη της O-GlcNAc. Πιο πρόσφατες μελέτες, έχουν

χρησιμοποιήσει μεταβολική ενσωμάτωση N-αζιδοακετυλογλυκοζαμίνης σε ζωντανά κύτταρα, σε συνδυασμό με επισήμανση χημικών άκρων, συγγενική απομόνωση, και φασματομετρία μάζας, προκειμένου να ταυτοποιήσουν μεγαλύτερους αριθμούς πρωτεϊνών που έχουν τροποποιηθεί με O-GlcNAc. Σε αντίθεση με άλλες μεθόδους, αυτοί οι ομοιοπολικοί ανιχνευτές για την O-GlcNAc επιτρέπουν άμεσες χημικές και ενζυματικές αναλύσεις των προϊόντων που σχηματίζονται.

## Η O-GlcNAc ΕΙΝΑΙ ΜΙΑ ΤΑΧΕΩΣ ΜΕΤΑΒΑΛΛΟΜΕΝΗ ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ

Σε αντίθεση με την σχετικά σταθερή φύση των ώριμων N- και O- γλυκανών στις γλυκοπρωτεΐνες, η O-GlcNAc προσκολλάται και απομακρύνεται ταχύτατα στις περισσότερες πρωτεΐνες εξαιτίας της συνδυασμένης δράσης των O-GlcNAc τρανσφεράσης (συχνά αναφερόμενης ως OGT) και O-GlcNAcase (Εικόνα3). Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι μιτογονική ή αντιγονική ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων μείωσε ταχύτατα την O-GlcNAc τροποποίηση πολλών κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών, και ταυτόχρονα αύξησε την O-GlcNAc τροποποίηση πολλών πυρηνικών πρωτεϊνών. Παρομοίως, έχει δείχθει ότι τα ουδετερόφιλα διαφοροποιούν ταχύτατα την O-GlcNAc τροποποίηση διαφόρων πρωτεϊνών ως απάντηση σε χημειοτακτικά ερεθίσματα. Οι Pulse-chase αναλύσεις έχουν αποκαλύψει ότι O-GlcNAc ρίζες σε κρυσταλλικές πρωτεΐνες φακού θερμικού σοκ ( $\alpha$ -κρυσταλλίνη) και σε ενδιάμεσες νηματοειδείς πρωτεΐνες (κυτοκερατίνες) μεταβάλλονται ταχύτερα από τις πολυπεπτιδικές αλυσίδες στις οποίες είναι προσκολλημένες. Παρόμοιες μελέτες σε διάφορες πρωτεΐνες έχουν επιβεβαιώσει ότι η O-GlcNAc προσκολλάται και απομακρύνεται μερικές φορές πολύ γρήγορα, ανάλογα με την πρωτεΐνη και ανάλογα με την περιοχή της πρωτεΐνης στην οποία προσκολλάται. Πρόσφατες πρωτεωμικές μελέτες που έχουν ποσοτικοποιήσει την προσκόλληση και απομάκρυνση της O-GlcNAc ως απάντηση σε εξωτερικά σήματα (π.χ. ινσουλίνη, υψηλή γλυκόζη, ή κυτταρικό στρες) και/ή αναστολείς της O-GlcNAcase έχουν καθιερώσει ότι τα επίπεδα της O-GlcNAc προσκόλλησης και απομάκρυνσης είναι παραπλήσια με αυτά που συχνά παρατηρούνται κατά την πρωτεϊνική φωσφορυλίωση, με χρόνο ημιζωής 1 λεπτό ή και λιγότερο. Είναι επίσης ξεκάθαρο ότι τα επίπεδα O-GlcNAc μεταβάλλονται κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου και ότι η O-GlcNAc εμπλέκεται στην εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου. Ωστόσο, σε μερικές πρωτεΐνες (π.χ. πρωτεΐνες του πυρηνικού πόρου) η O-GlcNAc προσκολλάται και απομακρύνεται αργά ή μόνο ως απάντηση σε εξωτερικά σήματα που παραμένει να ταυτοποιηθούν.

## ΓΙΑΤΙ Η O-GlcNAc ΕΜΕΙΝΕ ΤΟΣΟ ΚΑΙΡΟ ΑΠΑΡΑΤΗΡΗΤΗ;

Όπως φαίνεται στις εικόνες 1 και 2, η O-GlcNAc βρίσκεται σε εκατοντάδες ή ακόμα και χιλιάδες πυρηνοκυτταροπλασματικές πρωτεΐνες. Πράγματι, πολλές από τις πιο καλά μελετημένες πρωτεΐνες στη βιολογία, έχουν τροποποιηθεί με O-GlcNAc. Ενώ πολλοί ερευνητές αφιέρωσαν τη μελέτη τους στη δομή και στις λειτουργίες αυτών των πρωτεϊνών, παραδόξως, παρέμειναν να αγνοούν την παρουσία της O-GlcNAc. Επομένως γιατί η O-GlcNAc παρέμεινε απαρατήρητη μέχρι το 1983, και γιατί ακόμα και τώρα δεν λαμβάνεται υπόψη από ερευνητές που μελετούν τη μεταγραφή, τη σηματοδότηση και τον κυτταροσκελετό; Πρώτον, σε αντίθεση με «ηλεκτρικώς φορτισμένες» τροποποιήσεις (π. χ φωσφορικά), η προσθήκη και η απομάκρυνση της O-GlcNAc γενικά δεν επηρεάζει την μετανάστευση των πολυπεπτιδίων σε SDS-PAGE gel ηλεκτροφόρησης ή ακόμα και σε υψηλής ανάλυσης ηλεκτροφόρησης δυο

διαστάσεων. Μια μικρή αλλαγή στην πρωτεϊνική μετανάστευση μπορεί να παρατηρηθεί αν οι O-GlcNAc ρίζες είναι πολύ ομαδοποιημένες ή αν η πρωτεΐνη είναι έντονα τροποποιημένη με O-GlcNAc σε πολλαπλές περιοχές (π. χ η p62 πρωτεΐνη του πυρηνικού πόρου ή ο μεταγραφικός παράγοντας Sp1). Δεύτερον, όλα τα κύτταρα περιέχουν υψηλά επίπεδα υδρολασών, που περιλαμβάνουν άφθονες λυσοσωμικές εξοζαμινιδάσες και πυρηνοκυτταροπλασματικές β-N-ακετυλογλυκοζαμινιδάσες, οι οποίες ταχύτατα απομακρύνουν την O-GlcNAc από ενδοκυττάρια πρωτεΐνες όταν το κύτταρο έχει υποστεί βλάβη ή λύση. Έτσι η O-GlcNAc συνήθως χάνεται κατά την απομόνωση μιας πρωτεΐνης. Τρίτον, O-GlcNAc είναι ιδιαίτερα δύσκολο να ανιχνευθεί με φυσικές μεθόδους όπως η φασματομετρία μάζας, γιατί συνήθως υπάρχει σε υποστοιχειομετρικές ποσότητες σε διαφορετικές περιοχές της πρωτεΐνης και εύκολα ξεκολλά από το πολυπεπίδιο κατά την διάρκεια της διαδικασίας ιονισμού σε μια φασματομετρία μάζας. Σε αναλύσεις μείγματος μη τροποποιημένων και O-GlcNAc τροποποιημένων πεπτιδίων, και με φασματομετρία μάζας με ηλεκτροψεκασμό και με MALDI-TOF φασματομετρία μάζας, όχι μόνο χάνεται η O-GlcNAc στη διάρκεια του ιονισμού, αλλά και το σήμα από τα O-GlcNAc τροποποιημένα πεπτιδία, σχεδόν καταστέλλεται από την παρουσία του μη τροποποιημένου πεπτιδίου. Ωστόσο, η πρόσφατη ανάπτυξη μονοκλωνικών αντισωμάτων που ανιχνεύουν την O-GlcNAc και η εφεύρεση πιο εξελιγμένων μεθόδων φασματομετρίας μάζας, όταν συνδυαστούν με νέους πιθανούς αναστολείς των β-N-ακετυλογλυκοζαμινιδάσων έχουν ουσιαδώς βελτιώσει την ικανότητά μας να ανιχνεύουμε την O-GlcNAc στις πρωτεΐνες. Μέχρι σήμερα, έχει βρεθεί πυρηνοκυτταροπλασματική O-β-O-GlcNAc σε όλους τους πολυκύτταρους οργανισμούς που έχουν διερευνηθεί, που κυμαίνονται από νηματοειδείς μύκητες, σκώληκες, έντομα, μέχρι φυτά και ανθρώπους. Ωστόσο η O-GlcNAc και τα ένζυμα που ελέγχουν τον κύκλο της, δε φαίνεται να υπάρχουν στις ζύμες, όπως ο *Saccharomyces cerevisiae* και ο *Shizosaccharomyces pombe*. Η O-α-GlcNAc φαίνεται να αποτελεί μια κοινή τροποποίηση της κυτταρικής επιφάνειας και των εξωκυττάρια πρωτεϊνών στα πρωτόζωα, όπου προσκολλάται από ένζυμα που σχετίζονται δομικά με την αυλική πρωτεΐνη : O-GalNAc τρανσφεράσες (ppGalNAc-Ts) στα θηλαστικά . Ωστόσο, παραμένει ασαφές εάν η πυρηνοκυτταροπλασματική O-β-O-GlcNAc εμφανίζεται μέσα σε ελεύθερα ζώντα ή σε παρασιτικά πρωτόζωα. Για παράδειγμα, τα γνωστά γονίδια που κωδικοποιούν την O-GlcNAc τρανσφεράση και την O-GlcNAcase απουσιάζουν από το γονιδίωμα του παρασιτικού μαστιγοπού πρωτόζωου *Trypanosoma brucei*. Φαίνεται ότι προηγούμενες μελέτες που ανέφεραν την παρουσία O-GlcNAc στα πρωτόζωα, βασίζονταν κυρίως στην παρουσία της O-α-O-GlcNAc σε εξωκυττάρια πρωτεΐνες, η οποία φαίνεται να εξυπηρετεί τις ίδιες λειτουργίες που επιτελούν οι τύπου βλεννίνης α-GalNAc O-γλυκάνες στους ανώτερους οργανισμούς, ίσως γιατί πολλά πρωτόζωα δεν διαθέτουν την C-4 επιμεράση που απαιτείται ώστε να μετατραπεί η UDP-GlcNAc σε UDP-GalNAc. Γενετικές και επακόλουθες βιοχημικές μελέτες του *Arabidopsis* έδειξαν ότι τα γονίδια SPY και SECRET AGENT ρυθμίζουν τη σηματοδότηση αυξητικής ορμόνης (γιββερελλικό οξύ), και αργότερα άλλες μελέτες καθιέρωσαν ότι και τα δύο αυτά γονίδια κωδικοποιούν τις O-β-O-GlcNAc τρανσφεράσες. Μεταλλάξεις είτε στο SPY είτε στο SECRET AGENT προκαλούν σοβαρούς αναπτυξιακούς φαινοτύπους, αλλά δεν είναι θανατηφόροι. Ωστόσο, ταυτόχρονη μετάλλαξη και των δυο γονιδίων είναι θανατηφόρος. Μελέτες σε ρύζι, πατάτες και άλλα φυτά, έχουν επίσης δείξει ότι η O-GlcNAc τροποποίηση είναι σημαντική για την ρύθμιση της αύξησης.

Σε αντίθεση με τα φυτά, τα θηλαστικά και τα έντομα φαίνεται να έχουν μόνο ένα γονίδιο που κωδικοποιεί την καταλυτική υπομονάδα της O-GlcNAc τρανσφεράσης (OGT). Χρησιμοποιώντας την μέθοδο Cre-LoxP σε ποντίκια, δείχθηκε

ότι το OGT απαιτείται για την βιωσιμότητα των εμβρυικών βλαστικών κυττάρων. Ιστό-στοχευμένη διατάραξη σε ποντίκια και διατάραξη της OGT έκφρασης σε κυτταροκαλλιέργεια έχουν καθιερώσει ότι η O-GlcNAc τροποποίηση είναι απαραίτητη για την βιωσιμότητα σε επίπεδο ενός κυττάρου στα κύτταρα θηλαστικών. Διατάραξη του OGT στον σκώληκα *C. elegans*, προκαλεί ανεπαρκή μεταβολισμό των υδατανθράκων και ανωμαλίες στον σχηματισμό dauer, μιας μεταβολικά ανενεργής προνύμφης του σκώληκα με μακρά διάρκεια ζωής και αντοχή στο στρες, ανάλογης των σπορίων στα βακτήρια. Πρωτεΐνες τροποποιούμενες από την O-GlcNAc έχουν βρεθεί επίσης και σε πολλούς ιούς που μολύνουν μετάζωα (π. χ αδενοϊός, SV40, κυτταρομεγαλοϊός, ροτιϊός, βακιλλοϊός, ιός της ευλογιάς, HIV, και άλλοι). Στους ιούς, αντί να εντοπίζεται στο εξωτερικό καψίδιο του ιού όπου βρίσκονται κλασσικά οι N- και O- γλυκάνες, η O-GlcNAc βρίσκεται βαθειά μέσα στους ιούς, στην εφυμενίδα και σε άλλες ρυθμιστικές πρωτεΐνες, κοντά στα συστατικά των νουκλεϊκού οξέος. Ως τώρα, τουλάχιστον ένα παθογόνο βακτήριο (*Clostridium novyi*), έχει βρεθεί να εκμεταλλεύεται την O-GlcNAc τροποποίηση. Η α τοξίνη του *C. novyi* είναι μια O-GlcNAc τρανσφεράση (χωρίς ομολογία με το ένζυμο των θηλαστικών) που σκοτώνει κύτταρα με το να προσκολλάται σε μία O-GlcNAc ρίζα σε περιοχές που δεσμεύουν GTP πάνω σε μικρές G πρωτεΐνες όπως οι Rho, Rac και Ran που ρυθμίζουν τον κυτταροσκελετό. Κάποιες από αυτές τις G πρωτεΐνες έχουν φυσιολογικά τροποποιηθεί με O-GlcNAc από μια ενδογενή O-GlcNAc τρανσφεράση, αλλά οι περιοχές προσκόλλησης της O-GlcNAc δεν είναι γνωστές.

## Η O-GlcNAc ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΕ ΜΙΑ ΜΕΓΑΛΗ ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ

Μελέτες από διάφορα εργαστήρια έχουν περιγράψει πρωτεΐνες που έχουν τροποποιηθεί με O-GlcNAc σε όλα τα κυτταρικά διαμερίσματα, αντιπροσωπεύοντας σχεδόν όλες τις λειτουργικές τάξεις πρωτεϊνών (Εικόνα 2). Συνοπτικά, η O-GlcNAc υπάρχει οπουδήποτε έχει βρεθεί Ser(Thr)-O- φωσφορυλίωση. Η O-GlcNAc βρίσκεται σε μεγάλο βαθμό μέσα στον πυρήνα, όπου και υπάρχει πάνω στην μεταγραφική ρυθμιστική μηχανή, που περιλαμβάνει την καταλυτική υπομονάδα της καρβοξυτελικής περιοχής της RNA πολυμεράσης II (CTD), και σε μυριάδες βασικούς και εξειδικευμένους μεταγραφικούς παράγοντες της RNA πολυμεράσης II. Περίπου το ένα τέταρτο των πρωτεϊνών που έχουν τροποποιηθεί με O-GlcNAc είναι ρυθμιστικοί παράγοντες της μεταγραφής ή της μετάφρασης. Οι πρωτεΐνες του πυρηνικού πόρου είναι ανάμεσα στις πιο έντονα τροποποιημένες με O-GlcNAc πρωτεΐνες. Η O-GlcNAc τροποποίηση φαίνεται να είναι ιδιαίτερος άφθονη σε πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη σηματοδότηση, στις απαντήσεις στο στρες και στον ενεργειακό μεταβολισμό. Επίσης υπάρχει σε πρωτεΐνες ρύθμισης του κυτταροσκελετού όπως αυτές που ρυθμίζουν τον πολυμερισμό της ακτίνης (π. χ βινκουλίνη, ταλίνη, βιμεντίνη και αγκυρίνη) και τον πολυμερισμό της τουμπουλίνης (π. χ MAPs, δυνείνη, και tau). Ακόμα και η ίδια η α-τουμπουλίνη φαίνεται να τροποποιείται δυναμικά από την O-GlcNAc, αλλά με μικρή στοιχειομετρία. Ενδιάμεσα νημάτια, όπως οι κυττοκερατίνες και τα νευρονημάτια στον εγκέφαλο, επίσης τροποποιούνται έντονα από την O-GlcNAc. Μέχρι σήμερα, περισσότερες από 600 τροποποιημένες με O-GlcNAc πρωτεΐνες έχουν ταυτοποιηθεί, αλλά αυτός ο μεγάλος αριθμός μάλλον αντιπροσωπεύει μόνο ένα μικρό ποσοστό των πιο άφθονων πρωτεϊνών που τροποποιούνται δυναμικά μέσα στο κύτταρο.

Ατομικές περιοχές που τροποποιούνται από την O-GlcNAc έχουν ταυτοποιηθεί σε διάφορες πρωτεΐνες. Σχεδόν οι μισές από τις χαρτογραφημένες περιοχές διαθέτουν μία ρίζα προλίνης ή βαλίνης σε κάθε άκρο του τροποποιημένου υδροξυλιωμένου αμινοξέος. Το μοτίβο προλίνη -βαλίνη θέση είναι όμοιο με αυτό που αναγνωρίζουν

κινάσες καθοδηγούμενες από προλίνη, όπως η 3β-κινάση της συνθάσης του γλυκογόνου (GSK3β). Οι άλλες O-GlcNAc περιοχές δεν έχουν πολλά κοινά σε επίπεδο πρωτοταγούς δομής, αλλά έχουν αλληλουχίες κοινές με αυτές που αναγνωρίζουν διαφορετικές κινάσες. Πολλές από τις ταυτοποιημένες O-GlcNAc περιοχές έχουν υψηλά “PEST” σκορ, ένα μοτίβο αλληλουχίας που σχετίζεται με ταχεία αποικοδόμηση της πρωτεΐνης, και κάποιες μελέτες προτείνουν ότι η O-GlcNAc τροποποίηση μέσα στην PEST αλληλουχία αποτρέπει την ταχεία αποικοδόμηση της πρωτεΐνης.

## Η O-GlcNAc ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΔΥΝΑΜΙΚΑ ΚΑΙ ΠΟΛΥΠΛΟΚΑ ΜΕ ΤΗΝ Ο-ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗ

Η O-GlcNAc και η O-φωσφορυλίωση παρουσιάζουν μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση πάνω στις ρυθμιστικές πρωτεΐνες της σηματοδότησης, της μεταγραφής και του κυτταροσκελετού μέσα στο κύτταρο (Εικόνα 4). Στην πραγματικότητα, ένα κύριο ένζυμο που απομακρύνει O-φωσφορικό, η καταλυτική υπομονάδα της πρωτεϊνικής φωσφατάσης 1 (PP1c), αποτελεί δυναμικό σύμπλοκο με την OGT, υποδεικνύοντας ότι σε πολλές περιπτώσεις το ίδιο ενζυμικό σύμπλοκο απομακρύνει O-φωσφορικά και ταυτόχρονα προσκολλά O-GlcNAc(Εικόνα 5). Η ρυθμιστική πρωτεΐνη των μικροσωληνίσκων tau φωσφορυλιώνεται έντονα στα πρώιμα στάδια της ανάπτυξης του εγκεφάλου, αλλά κατά την ενήλικη ζωή τροποποιείται με O-GlcNAc χωρίς να φωσφορυλιώνεται ιδιαίτερα. Ωστόσο, στον εγκέφαλο ασθενών με Alzheimer, η tau τροποποιείται με O-GlcNAc λιγότερο και φωσφορυλιώνεται εντονότερα, οδηγώντας στο σχηματισμό ενδονευρωνικών “κουβαριών ή πλεγμάτων” που συντίθενται από (PHF)-tau, που είναι χαρακτηριστικά της ασθένειας. Η CTD επαναλαμβανόμενη περιοχή της RNA πολυμεράσης II είναι εναλλακτικά, ιδιαίτερα τροποποιημένη με O-GlcNAc ( με τρεις O-GlcNAc ρίζες ανά επανάληψη) και φωσφορυλιωμένη. Σε κάποια φάση κατά τη διάρκεια του μεταγραφικού κύκλου, η O-GlcNAc απομακρύνεται από την CTD και αντικαθίσταται με O-φωσφορικό, ξεκινώντας τη φάση επιμήκυνσης της μεταγραφής. In vitro μελέτες έχουν δείξει ότι συνθετικά πεπτίδια με 10 CTD επαναλήψεις (αποτελούμενες από 70 αμινοξέα) δε μπορούν να φωσφορυλιωθούν από τις CTD κινάσες εάν περιέχουν ακόμα και ένα μοναδικό μόριο O-GlcNAc. Ομοίως, αυτά τα CTD πεπτίδια δε μπορούν να τροποποιηθούν με O-GlcNAc αν έστω και μια από τις επαναλήψεις περιλαμβάνει ένα μοναδικό O-φωσφορικό κατάλοιπο, παρά τις πολλές πιθανές διαθέσιμες θέσεις τροποποίησης πάνω στην ίδια ή σε άλλες επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες.

Η O-GlcNAc συμβαίνει αμοιβαία σε διάφορους μεταγραφικούς παράγοντες σημαντικούς για τον καρκίνο. Για παράδειγμα, η Thr-58 που εντοπίζεται μέσα στην περιοχή διενεργοποίησης του πρωτο-ογκογονιδίου c-myc, η οποία είναι μια κύρια περιοχή μετάλλαξης στα ανθρώπινα λεμφώματα, φωσφορυλιώνεται εναλλακτικά από την GSK3β και τροποποιείται με O-GlcNAc. Η φωσφορυλίωση στην Thr-58 είναι η κορύφωση της ιεραρχίας ενός καταρράκτη σηματοδότησης που περιλαμβάνει μια χαρακτηριστική πρωταρχική αντίδραση φωσφορυλίωσης πολλών GSK3β υποστρωμάτων. Πρώτα, φωσφορυλιώνεται η Ser-62 στο c-Myc από την κινάση του αυξητικού παράγοντα ERK, η οποία δημιουργεί μια θέση αναγνώρισης που επιτρέπει την φωσφορυλίωση της Thr-58 του c-Myc από την GSK3β. Μελέτες με ειδικά για τη θέση και την τροποποίηση αντισώματα έχουν δείξει ότι σε κύτταρα που δε μεγαλώνουν, οι Thr-58 του c-Myc τροποποιείται από την O-GlcNAc. Ωστόσο, μετά την εφαρμογή ενός διεγερτικού σήματος αύξησης, η O-GlcNAc απομακρύνεται γρήγορα και αντικαθίσταται από O-φωσφορικό στην θέση αυτή.

Με έναν παρόμοιο τρόπο, O-GlcNAc τροποποίηση της Ser-16 στον υποδοχέα β του οιστρογόνου, τον κάνει λιγότερο ενεργό μεταγραφικά, αλλά με μεγαλύτερη διάρκεια ζωής μέσα στο κύτταρο. Αντιθέτως, φωσφορυλίωση της Ser-16 κάνει τον υποδοχέα β του οιστρογόνου περισσότερο ενεργό μεταγραφικά, αλλά οδηγεί σε γρήγορη αποδόμησή του.

Η υπέρ O-GlcNAc τροποποίηση, όπως συμβαίνει στο διαβήτη, επίσης μπλοκάρει την εξαρτώμενη από το φωσφορικό ενεργοποίηση κάποιων πρωτεϊνών. Για παράδειγμα, η ρυθμιστική περιοχή της AKT κινάσης στην ενδοθηλιακή συνθάση του νιτρικού οξέος (eNOS) είναι κατελιημμένη από ένα O-GlcNAc μόριο σε άτομα με διαβήτη, εμποδίζοντας την ενεργοποίηση του ενζύμου. Αυτό το μπλοκάρισμα της ενεργοποίησης του eNOS που επάγεται από την O-GlcNAc σχετίζεται με τις αγγειακές επιπλοκές και την στυτική δυσλειτουργία που παρατηρείται σε ασθενείς με διαβήτη.

Σε κάποιες πρωτεΐνες (π. χ κινάση της καζεΐνης II), η O-GlcNAc και το O-φωσφορικό υπάρχουν σε ξεχωριστές αλλά παρακείμενες περιοχές, και είναι πάλι αμοιβαίες η μια με την άλλη. Ωστόσο, σε άλλες πρωτεΐνες, η σχέση μεταξύ O-GlcNAc και O-φωσφορικών δυναμικών παραμένει αδιευκρίνιστη. Για παράδειγμα, στις κυττοκερατίνες, η O-GlcNAc τροποποίηση και η φωσφορυλίωση φαίνεται να ρυθμίζοντα ανεξάρτητα, αλλά μπορεί να συνυπάρξουν αμοιβαία σε τελείως διαφορετικά υποσύνολα των ίδιων πολυπεπτιδίων.

Είναι πια ξεκάθαρο ότι η δυναμική αλληλεπίδραση μεταξύ O-GlcNAc τροποποίησης και φωσφορυλίωσης είναι εκτενής και αρκετά πολύπλοκη, απαιτώντας από μας να αλλάξουμε το ισχύον δόγμα, με σεβασμό στην κυτταρική σηματοδότηση. Δε μπορούμε πια να παρατηρούμε τη δυναμική ρύθμιση της σηματοδότησης, της μεταγραφής και άλλων κυτταρικών διαδικασιών σε απλά δυαδικά on και off συστήματα ελεγχόμενα από την προσθήκη και απομάκρυνση O-φωσφορικών, αλλά αντίθετα, θα έπρεπε να παρατηρούμε αυτές τις διαδικασίες ως ένα αναλογικό σύστημα στο οποίο η δυναμική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο (και ίσως περισσότερων) τροποποιήσεων, συχνά σε πολλαπλές θέσεις μιας πρωτεΐνης, δημιουργεί μια τεράστια ποικιλία υψηλά δυναμικών δομικών και λειτουργικών μοριακών πιθανοτήτων.

## ENZYMATA ΠΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥΝ ΤΟΝ ΚΥΚΛΟ ΤΗΣ O-GlcNAc

Παρόλο που ο κύκλος της O-GlcNAc είναι όμοιος με αυτόν της O-φωσφορυλίωσης και συχνά μπορεί ακόμα και να ανταγωνιστούν για την ίδια θέση, η ρύθμιση της O-GlcNAc διαφέρει αξιολογικά από την ρύθμιση της πρωτεϊνικής φωσφορυλίωσης από συγκεκριμένες κινάσες. Τα γονιδιώματα των θηλαστικών κωδικοποιούν εκατοντάδες καταλυτικές υπομονάδες κινασών ειδικές για συγκεκριμένες θέσεις, που κάθε μια ρυθμίζεται ανεξάρτητα για να δράσει ως «μικροδιακόπτης» που ελέγχει τα σηματοδοτικά κυκλώματα του κυττάρου. Αντιθέτως, τα γονιδιώματα των θηλαστικών, έχει βρεθεί ότι κωδικοποιούν μια μοναδική, υψηλά συντηρημένη, καταλυτική υπομονάδα για καθένα από τα ένζυμα OGT και O-GlcNAcase. Το ισχύον δόγμα ορίζει ότι διαφορετικά ερεθίσματα προκαλούν την αλλαγή συγκεκριμένου φωσφορικού κύκλου μόνο σε λίγες πρωτεΐνες μέσα σε έναν σηματοδοτικό καταρράκτη, ή μέσα σε ένα λειτουργικό σύμπλοκο. Ωστόσο στην περίπτωση της O-GlcNAc, διαφορετικά ερεθίσματα προκαλούν ταχύτατες αλλαγές στον κύκλο της O-GlcNAc σε πολλές πρωτεΐνες ταυτόχρονα, και υποθετικά ακόμα και σε διαφορετικά μονοπάτια και σύμπλοκα. Τα δυναμικά της O-GlcNAc τροποποίησης φαίνεται να δρουν σε «σφαιρικό» επίπεδο, ενώ τα δυναμικά της φωσφορυλίωσης φαίνεται να δρουν σε τοπικό επίπεδο. Ωστόσο, παρόλο που και η OGT και η O-GlcNAcase έχουν μια μοναδική καταλυτική υπομονάδα, στην πραγματικότητα

υπάρχουν μέσα στο κύτταρο ως ένα πλήθος διαφορετικών ολοενζύμων στα οποία οι καταλυτικές τους υπομονάδες προσδένονται μη ομοιοπολικά σε μυριάδες βοηθητικές πρωτεΐνες που φαίνεται ότι ελέγχουν τους ειδικούς στόχους τους.

## Η O-GlcNAc ΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗ

Η O-GlcNAc τρανσφεράση (OGT, ουριδινοδιφωσφο-N-ακετυλογλυκοζαμίνη: πολυπεπτιδική β-N-ακετυλογλυκοζαμινυλοτρανσφεράση) καταλύει την προσθήκη N-ακετυλογλυκοζαμίνης από UDP- GlcNAc σε συγκεκριμένες ρίζες σερίνης ή θρεονίνης για τη δημιουργία μιας β-γλυκοσιδικής σύνδεσης. Το ένζυμο αρχικά ταυτοποιήθηκε και απομονώθηκε από ήπαρ αρουραίου και αργότερα κλωνοποιήθηκε από αρουραίο, άνθρωπο, *C.elegans* και άλλους οργανισμούς. Το OGT γονίδιο βρίσκεται πάνω στο X χρωμόσωμα ( στην περιοχή Xq13 στους ανθρώπους) κοντά στο κεντρομερίδιο, και είναι ανάμεσα στις πιο υψηλά συντηρημένες πρωτεΐνες από τους σκώληκες μέχρι τον άνθρωπο. Όπως περιγράφηκε παραπάνω, η OGT απαιτείται για την βιωσιμότητα μεμονωμένων κυττάρων στα θηλαστικά και στα φυτά, αλλά όχι στον *C.elegans*. Στο ήπαρ του αρουραίου, η OGT φαίνεται να είναι τριμερές αποτελούμενο από δυο υπομονάδες των 110 kD και μια υπομονάδα των 78 kD. Η υπομονάδα των 78 Kd είναι άφθονη στους νεφρούς, στους μυς και στο ήπαρ, αλλά στους περισσότερους ιστούς, όπως στον εγκέφαλο και στο πάγκρεας το ένζυμο αποτελείται μόνο από υπομονάδες των 110 kD. Η λειτουργική σημασία αυτών των παραλλαγών δεν είναι ξεκάθαρη.

Επίσης, έχει περιγραφεί μια μοναδική, μιτοχονδριακή μορφή της OGT. Η OGT είναι παρούσα σε όλα τα κύτταρα, αλλά βρίσκεται σε αφθονία σε κύτταρα ανίχνευσης της γλυκόζης (α και β κύτταρα) στο πάγκρεας και στον εγκέφαλο. Η OGT έχει δυο διακριτές περιοχές που διαχωρίζονται από μια υποθετική αλληλουχία που εντοπίζεται στον πυρήνα. Το αμινοτελικό άκρο κάθε OGT υπομονάδας περιέχει περίπου 11.5 περιοχές επαναλαμβανόμενης αλληλουχίας 34 αμινοξέων (TRPs) που δρουν ως περιοχές αλληλεπίδρασης με πρωτεΐνης - πρωτεΐνης που αντιπροσωπεύουν τα σημεία όπου οι περισσότερες πρωτεΐνες που ρυθμίζουν ή έχουν ως στόχο την OGT, προσδένονται. Από την κρυσταλλική δομή των ανθρώπινων TRPs της OGT, προκύπτει ότι οι επαναλήψεις υπάρχουν ως στοιβαγμένες περιοχές α-ελίκων, που σχηματίζουν μια δομή «σωλήνα» που εμφανίζει αξιοσημείωτη δομική ομοιότητα με την TRP περιοχή της πυρηνικής πρωτεΐνης μεταφοράς ιμφορτίνης-α, προτείνοντας ότι η στοχοθέτηση της OGT συμβαίνει με τρόπο παρόμοιο με αυτόν του μηχανισμού της ιμφορτίνης-α που μεταφέρει πρωτεΐνες κατά μήκος του πυρηνικού φακέλου. Οι TRPs της OGT απαιτούνται και για τον πολυμερισμό των OGT υπομονάδων. Η καρβοξυτελική περιοχή της OGT φαίνεται να έχει εξελιχθεί από την υπερικογένεια των φωσφορυλασών του γλυκογόνου, και περιέχει την θέση δέσμευσης του UDP-GlcNAc και τις καταλυτικές περιοχές του ενζύμου.

Η ρύθμιση της OGT είναι αρκετά πολύπλοκη και δεν την έχουμε κατανοήσει ακόμα πλήρως (Εικόνα 6). Η OGT είναι τροποποιημένη με O-GlcNAc και φωσφορυλιωμένη σε ρίζα τυροσίνης. Η φωσφορυλίωση της τυροσίνης φαίνεται να ενεργοποιεί το ένζυμο, αλλά ο ρόλος της O-GlcNAc στην OGT δεν έχει διευκρινιστεί. Καθαρισμένη ή ανασυνδυασμένη OGT τροποποιεί μικρά συνθετικά πεπτιδία βασισμένη σε γνωστές περιοχές των τροποποιημένων με O-GlcNAc πρωτεϊνών, αλλά η OGT φαίνεται να απαιτεί βοηθητικές πρωτεΐνες που προσδένονται στα TRPs ώστε να τροποποιήσει αποτελεσματικά πρωτεϊνικά υποστρώματα. Από αναλύσεις διυβριδικού ζυμομύκητα έχουν ταυτοποιηθεί πολλές από τις πρωτεΐνες στόχους της OGT. Η καλύτερα χαρακτηριζόμενη είναι η OIP106, η οποία εμπλέκεται στην στοχοθέτηση της OGT στην μεταγραφική μηχανή της RNA πολυμεράσης II. Ωστόσο,

ο πιο σημαντικός παράγοντας που ρυθμίζει συνολικά την δράση της OGT μέσα στο κύτταρο είναι τα επίπεδα του υποστρώματός της UDP- GlcNAc. Οι συγκεντρώσεις κυτταρικού UDP- GlcNAc είναι εξαιρετικά ευαίσθητες στις μεταβολικές ροές υδατανθράκων, λιπαρών οξέων, ενέργειας και αζώτου (Εικόνα 7), κάνοντάς την έναν ιδανικό μεταβολικό αισθητήρα. Στα κύτταρα, το 2-5% της συνολικής χρήσης γλυκόζης, πραγματοποιείται μέσω του βιοσυνθετικού μονοπατιού της εξοζαμίνης, το οποίο κορυφώνεται στη βιοσύνθεση του UDP- GlcNAc. Κατά την μεταφορά της GlcNAc στις πρωτεΐνες, απελευθερώνεται UDP, με πιθανή ανασταλτική τροφοδότηση της OGT. Σε συνθήκες όπου το UDP απομακρύνεται γρήγορα (όπως συμβαίνει μέσα στο κύτταρο), η δραστηριότητα της OGT εξαρτάται από τα επίπεδα UDP- GlcNAc πάνω από ένα αξιοσημείωτο εύρος συγκεντρώσεων (από λίγα Mm έως και πάνω από 50 Mm). Το εύρος συγκέντρωσης UDP- GlcNAc σε ένα κύτταρο τυπικά είναι από σχεδόν 0.1 έως 1 Mm, για υψηλά ενεργειακά μικρά μόρια. Έτσι, ταχύτατες αλλαγές στις UDP- GlcNAc συγκεντρώσεις, ίσως εξυπηρετούν ως αισθητήρας θρεπτικών κα άμεσα επηρεάζουν την O-GlcNAc τροποποίηση ρυθμιστικών πρωτεϊνών.

Η πυρηνοκυτταροπλασματική β-N-ακετυλογλυκοζαμινιδάση (O-GlcNAcase) ταυτοποιήθηκε πρώτα ως μια ουδέτερη κυτοσολική εξοζαμινιδάση ( αναφερόμενη ως εξοζαμινιδάση C) και συγκρίθηκε με τις πιο καλά μελετημένες λυσοσωματικές εξοζαμινιδάσες A και B. Η O-GlcNAcase απομονώθηκε από νεφρό αρουραίου και εγκέφαλο βοοειδούς, και το ανθρώπινο γονίδιο κλωνοποιήθηκε χρησιμοποιώντας πληροφορίες πεπτιδικής αλληλουχίας. Το γονίδιο της O-GlcNAcase βρέθηκε να είναι ταυτόσημο με αυτό της MGEA5, μιας υποθετικής υαλουρονιδάσης γενετικά ταυτοποιημένης λόγω της σύνδεσής της με μηνιγγιώματα. Το γονίδιο της O-GlcNAcase εδράζεται στην θέση 10q24.1, περιοχή υπεύθυνη για το Alzheimer στους ανθρώπους, και βρίσκεται δίπλα στο γονίδιο που κωδικοποιεί το ένζυμο αποδόμησης της ινσουλίνης. Αναλύσεις αλληλουχίας προτείνουν ότι η O-GlcNAcase είναι ένζυμο διπλής λειτουργίας. Το αμινοτελικό άκρο της κωδικοποιεί την περιοχή της γλυκοσιδάσης, ενώ το καρβοξυτελικό άκρο της εμφανίζει ομολογία με το γονίδιο GCN5 της οικογένειας HAT, το οποίο ακετυλιώνει ειδικά ιστόνες για να ενεργοποιήσει τη γονιδιακή έκφραση. Η O-GlcNAcase έχει δράσεις και ως HAT και ως O-GlcNAcase *in vitro*. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων σταδίων της απόπτωσης (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος), η εκτελεστική κασπάση (κασπάση 3) διασπά την O-GlcNAcase ώστε να διαχωριστούν οι περιοχές HAT και O-GlcNAcase. Όπως και η OGT, η O-GlcNAcase επίσης αλληλεπιδρά δυναμικά με έναν μεγάλο αριθμό κυτταρικών πρωτεϊνών, αλλά οι θέσεις αλληλεπίδρασης πάνω στο ένζυμο δεν έχουν εντοπιστεί. Η O-GlcNAcase και η OGT είναι συχνά μέσα στο ίδιο λειτουργικό σύμπλοκο, ιδιαίτερα στα μεταγραφικά σύμπλοκα, όπου και τα δυο ένζυμα βρίσκονται με μεταγραφικούς ρυθμιστές, όπως ο μεταγραφικός καταστολέας mSin3A. Έτσι και τα δυο ένζυμα φαίνεται να ρυθμίζονται αυστηρά ώστε να αποφευχθεί ένας μάταιος κύκλος της O-GlcNAc.

## ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΗΣ O-GlcNAc

Όπως και με την φωσφορυλίωση, έτσι και οι εξειδικευμένες λειτουργίες της O-GlcNAc εξαρτώνται από την πρωτεΐνη και από τις θέσεις στις οποίες προσκολλάται η γλυκάνη. Ωστόσο, βάσει κάποιων μελετών, προκύπτουν κάποιες γενικότητες. Όπως συζητήθηκε και παραπάνω, μια από τις κύριες λειτουργίες της O-GlcNAc είναι να εμποδίζει την φωσφορυλίωση και κατ'επέκταση να ρυθμίζει τη σηματοδότηση και την μεταγραφή ως απάντηση στα κυτταρικά θρεπτικά και στο στρες.



## Η O-GlcNAc ΡΥΘΜΙΖΕΙ ΤΗΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

Η O-GlcNAc ρυθμίζει άμεσα τις δράσεις μιας ποικιλίας μεταγραφικών παραγόντων συμπεριλαμβανομένων των Sp1, υποδοχέων οιστρογόνων, STAT5, NF-KB, p53, YY1, Elf-1, c-Myc, Rb, PDX-1, CREB, forkhead και άλλων. Όπως περιγράφηκε παραπάνω, η RNA πολυμεράση II, και οι βασικοί μεταγραφικοί παράγοντες επίσης τροποποιούνται από την O-GlcNAc. Η O-GlcNAc τροποποίηση, έχει αναφερθεί ότι καταστέλλει ή ενισχύει την μεταγραφή, ανάλογα με τον υποκινητή και άλλες βοηθητικές πρωτεΐνες. Παρακάτω παρατίθενται κάποια παραδείγματα.

1. Σε διαβητικές καταστάσεις συμβαίνει υπεργλυκοζυλίωση του Sp1 και αυτή η τροποποίηση ενισχύει την μεταγραφή κάποιων γονιδίων χαρακτηριστικών της ασθένειας, ενώ παράλληλα καταστέλλει την μεταγραφή άλλων. Για παράδειγμα, ο Sp1 σε υψηλά επίπεδα O-GlcNAc καθοδηγεί την μεταγραφή του ενεργοποιητή του πασμινογόνου και των εξωκυττάρων πρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας που θεωρείται ότι έχουν σημαντικό ρόλο σε καρδιαγγειακές παθήσεις σχετιζόμενες με τον διαβήτη.
2. Αυξημένη O-GlcNAc συμβάλλει σε βλάβες στον κύκλο του ασβεστίου στην καρδιά και σε διαβητικές καρδιομυοπάθειες με το να ελαττώνει την μεταγραφή της σαρκοπλασματικής (SR) ATPάσης ασβεστίου (SERCA2a). Αυτή η πρωτεΐνη έχει σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση του κυτταροπλασματικού ασβεστίου και είναι ο κύριος μηχανισμός για την αποκατάσταση της SRCa φόρτωσης κατά τη διάρκεια της συστολής του κύκλου.
3. Ο μεταγραφικός παράγοντας STAT5 απαιτεί O-GlcNAc για να προσδεθεί στον μεταγραφικό συμπάραγοντα (CBP), που αποτελεί μια σημαντική αλληλεπίδραση για την μεταγραφή γονιδίων που ρυθμίζονται από τον STAT5. Και άλλα μέλη της οικογένειας STAT είναι τροποποιημένα με O-GlcNAc αλλά η λειτουργία της O-GlcNAc σε αυτές τις πρωτεΐνες είναι άγνωστη.
4. Αυξημένη O-GlcNAc τροποποίηση του PDX-1, ενός παγκρεατικού μεταγραφικού παράγοντα των β κυττάρων που ελέγχει την μεταγραφή της ινσουλίνης, αυξάνει την συγγένειά του για το DNA και καταλήγει σε αυξημένη μεταγραφή προϊνσουλίνης.
5. Η O-GlcNAc τροποποίηση εμποδίζει τον YY1 (ένας zink-finger, μεταγραφικός παράγοντας που προσδέεται στο DNA, και ρυθμίζει την έκφραση μιας μεγάλης ποικιλίας κυτταρικών και ιικών γονιδίων και είναι απαραίτητος για την ανάπτυξη των εμβρύων των θηλαστικών) από το να προσδεθεί στην πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος Rb. Εφόσον δεν είναι συνδεδεμένος με την Rb, ο τροποποιημένος με O-GlcNAc YY1 είναι ελεύθερος να προσδεθεί στο DNA και να ενεργοποιήσει την μεταγραφή.
6. Η ογκοκατασταλτική Rb πρωτεΐνη είναι τροποποιημένη με O-GlcNAc κατά τη διάρκεια σταδίων του κυτταρικού κύκλου στα οποία δεν είναι φωσφορυλιωμένη. Η τροποποιημένη με O-GlcNAc μορφή της Rb είναι αυτή που προσδέει τους μεταγραφικούς παράγοντες E2F.
7. Ο Elf-1 (μέλος της οικογένειας μεταγραφικών παραγόντων Ets) εμπλέκεται στη μεταγραφική ρύθμιση διάφορων αιμοποιητικών γονιδίων. Μετά την O-

GlcNAc τροποποίηση και την επαγόμενη από την PKC-θ φωσφορυλίωση, ο εντοπισμένος στο κυτταρόπλασμα Eif-1 μεταφέρεται στον πυρήνα όπου και προσδένεται στον υποκινητή του γονιδίου ζ του T κυτταρικού υποδοχέα (TCR) και προωθεί την μεταγραφή.

8. Η O-GlcNAc τροποποίηση του CREB (cyclic-AMP-responsive element-binding protein), ενός μεταγραφικού παράγοντα απαραίτητου για μακροχρόνια μνήμη, καταστρέφει την αλληλεπίδραση μεταξύ του CREB και του TAFII130, ενός συστατικού της βασικής μεταγραφικής μηχανής, καταστέλλοντας έτσι τη μεταγραφική δράση του CREB.
9. Η O-GlcNAc τροποποίηση του Sp1 και των υποδοχέων οιστρογόνων αυξάνει τη διατήρηση των επιπέδων τους σε μια σταθερή κατάσταση με το να εμποδίζει την αποδόμησή τους.

Έτσι, φαίνεται ότι η γλυκάνη είναι σημαντική στο να ρυθμίζει το σύμπλοκο πολυμερισμού και τις πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις που απαιτούνται προκειμένου να ελεγχθεί τόσο η ειδικότητα όσο και η δραστηριότητα της μεταγραφικής μηχανής. Τουλάχιστον 15 καλά χαρακτηρισμένες ριβοσωματικές πρωτεΐνες και πολλοί παράγοντες που σχετίζονται με την μετάφραση είναι τροποποιημένοι με O-GlcNAc. Έχει προταθεί ότι η δράση του ευκαρυωτικού παράγοντα εκκίνησης 2 (Eif2) ρυθμίζεται από την πρόσδεσή του στην p67. Η πρωτεΐνη p67 τροποποιείται με O-GlcNAc και οι αλληλεπιδράσεις της με τον Eif2 ελέγχονται από αυτήν την τροποποίηση. Έτσι, παρόλο που λίγη δουλειά έχει γίνει με αναφορά στην O-GlcNAc τροποποίηση και στην ρύθμιση της μετάφρασης των πρωτεϊνών, είναι πιθανό ότι η O-GlcNAc εμπλέκεται και σε αυτές τις διαδικασίες.

## Η O-GlcNAc ΡΥΘΜΙΖΕΙ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΗ ΔΙΑΚΙΝΗΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ

Στους νευρώνες, η O-GlcNAc τροποποίηση των πρωτεϊνών των συνάψεων φαίνεται να εμποδίζει την απελευθέρωση των συναπτικών κυστιδίων από τον κυτταροσκελετό, και έτσι ρυθμίζει την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών στη σύναψη. Η O-GlcNAc τροποποίηση φαίνεται επίσης να ρυθμίζει την μετακίνηση και κατανομή της β-κατενίνης και E-καντχερίνης στην κυτταρική επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων. Όταν αυτές οι πρωτεΐνες είναι τροποποιημένες με O-GlcNAc παραμένουν δεμένες στον κυτταροσκελετό και δεν μεταφέρονται στην κυτταρική επιφάνεια. Επειδή η E-καντχερίνη είναι ένα σημαντικό μόριο κυτταρικής προσκόλλησης, το μπλοκάρισμα της μεταφοράς της στην κυτταρική επιφάνεια μπορεί να είναι σημαντικό για την μετάσταση επιθηλιακών όγκων. Ομοίως, υπάρχουν ολόένα και αυξανόμενες αποδείξεις ότι, αυξημένη O-GlcNAc τροποποίηση των GLUT4 κυστιδιακών πρωτεϊνών όπως της Munc18 και άλλων, παίζει ρόλο στην αναστολή της μεταφοράς γλυκόζης στο διαβήτη. Ο GLUT4 είναι ένας ινσουλινο-ευαίσθητος μεταφορέας γλυκόζης, που όταν διεγερθεί από ινσουλίνη στον μυ και στον λιπώδη ιστό, μεταφέρεται γρήγορα στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και αυξάνει την πρόσληψη γλυκόζης.

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι η O-GlcNAc τροποποίηση των πρωτεϊνών, είτε άμεσα είτε έμμεσα, καθυστερεί την πρωτεολυτική αποδόμηση. Το πρωτεόσωμα 26S είναι μια πολύπλοκη δομή που αποικοδομεί ρυθμιστικές πρωτεΐνες σημασμένες με μόρια ουμπικοϊτίνης μέσα στο κύτταρο. Πρόσφατες πρωτεομικές αναλύσεις του πρωτεοσώματος 26S, έχουν αποδείξει ότι 5 από τις 19 και 9 από τις 14 πρωτεΐνες των καταλυτικών και ρυθμιστικών πυρήνων αντίστοιχα τροποποιούνται από την O-GlcNAc. Αυξημένη O-GlcNAc τροποποίηση της Rpt2 ATPάσης, ενός συστατικού του 19Scap (καπέλλου) του πρωτεοσώματος, μπλοκάρει τη δράση της ATPάσης, ελαττώνοντας την καταλύσιμη από το πρωτεόσωμα αποικοδόμηση. Έχει προταθεί ότι η O-GlcNAc τροποποίηση του πρωτεοσώματος επιτρέπει στο κύτταρο να απαντήσει στις μεταβολικές του ανάγκες ελέγχοντας την διαθεσιμότητα αμινοξέων και μεταβάλλοντας το χρόνο ημιζωής βασικών ρυθμιστικών πρωτεϊνών.

## Η O-GlcNAc ΕΜΠΛΕΚΕΤΑΙ ΣΤΙΣ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΕΣ ΝΟΣΟΥΣ

Το γονίδιο OGT έχει χαρτογραφηθεί στην θέση Xq13, έναν γενετικό τόπο που συνδέεται με διάφορες νευρολογικές παθήσεις όπως Parkinson και δυστονία. Παρομοίως, όπως σημειώθηκε παραπάνω, το γονίδιο που κωδικοποιεί την O-GlcNAcase εδράζεται στη θέση 10q24.1, έναν γενετικό τόπο που συνδέεται με την καθυστερημένη έναρξη της ασθένειας του Alzheimer (AD). Οι μεταβολικές διεργασίες του εγκεφάλου, συμπεριλαμβανομένης της γλυκόλυσης, καθώς και τα συνολικά επίπεδα γλυκόζης, είναι γνωστό ότι μειώνονται με την ηλικία, ιδιαίτερα στους AD νευρώνες. Όπως συζητήθηκε παραπάνω, μια φυσιολογική λειτουργία της O-GlcNAc είναι να καλύπτει θέσεις φωσφορυλίωσης και να τις καταργεί. Οι περισσότερες από τις πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην παθολογία του AD τροποποιούνται από την O-GlcNAc. Η tau, μια πρωτεΐνη που σχετίζεται με τους μικροσωληνίσκους και έχει πολλαπλές επαναλήψεις για δέσμευση στους μικροσωληνίσκους, απαιτείται για τον πολυμερισμό και την σταθεροποίηση των μικροσωληνίσκων στους νευρώνες. Υπάρχουν πολλές γνωστές κινάσες που φωσφορυλιώνουν την tau, συμπεριλαμβανομένης της κινάσης 3 της συνθάσης του γλυκογόνου (GSK-3), της CKII και της εξωκυτταρίως ρυθμιζόμενης πρωτεϊνικής κινάσης (ERK). Η υπερφωσφορυλιωμένη tau συναθροίζεται για να σχηματίσει νευροινιδιακά κουβάρια ή ζευγαρωμένα ελικοειδή ινίδια (PHF-tau) στους AD νευρώνες. Φυσιολογικά, στον ενήλικο εγκέφαλο η tau πρωτεΐνη τροποποιείται έντονα από την O-GlcNAc σε περισσότερες από 12 θέσεις. Τουλάχιστον μια ταυτοποιημένη O-GlcNAc θέση της tau βρίσκεται μέσα στην περιοχή δέσμευσης στους μικροσωληνίσκους. Αυτή η θέση (Ser-262) μετράει για το 70% της PHF-tau δραστηριότητας *in vitro*. Θεωρείται ότι η O-GlcNAc τροποποίηση της tau μπορεί να επηρεάζει την ικανότητα δέσμευσής της στους μικροσωληνίσκους, να ανταγωνίζεται την φωσφορυλίωση ή ακόμα και να επηρεάζει τον κυτταροπλασματικό της εντοπισμό. Από πρόσφατες μελέτες της ανθρώπινης εγκεφαλικής tau έχει καθιερωθεί ότι η O-GlcNAc τροποποίηση ρυθμίζει αρνητικά την φωσφορυλίωσή της με έναν τοπο-ειδικό τρόπο τόσο *in vivo* όσο και *In vitro*. Χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο νηστικών ποντικών, η χαμηλή πρόσληψη και ο

μεταβολισμός της γλυκόζης μιμήθηκαν την υπο O-GlcNAc τροποποίηση και την υπερφωσφορυλίωση της tau που παρατηρείται στον AD ανθρώπινο εγκέφαλο. Ποσοτικές συγκρίσεις ανάμεσα σε φυσιολογικό ανθρώπινο εγκεφαλικό ιστό και στον αντίστοιχο από AD ασθενείς πράγματι έδειξαν ότι η συνολική O-GlcNAc τροποποίηση μειώνεται στους AD εγκεφάλους.

Η πρόδρομη πρωτεΐνη του β-αμυλοειδούς (APP) τροποποιείται από την O-GlcNAc στην κυτταροπλασματική της ουρά. Ωστόσο, οι θέσεις της τροποποίησης δεν είναι γνωστές. Η APP επίσης φωσφορυλιώνεται στην κυτταροπλασματική της ουρά από την κυκλινοεξαρτώμενη κινάση 1, η οποία είναι γνωστό ότι επηρεάζει την διαδικασία πρωτεόλυσής της. Σε συνθήκες μη φυσιολογικής πρωτεόλυσης, η APP αυξάνει το τοξικό β1-42 πεπτιδικό θραύσμα το οποίο σχηματίζει τις πλάκες αμυλοειδούς που είναι παρούσες στους AD εγκεφάλους. Η κυτταροπλασματική ουρά επίσης περιέχει μια αλληλουχία που ελέγχει την ενδοκύττωση και μια θέση πρόσδεσης για G πρωτεΐνες, προτείνοντας ότι η O-GlcNAc τροποποίηση αυτής της περιοχής της APP μπορεί να επηρεάζει σηματοδοτικά γεγονότα, την διακίνηση και τον μεταβολισμό της APP.

Διαφορετική O-GlcNAc τροποποίηση έχει παρατηρηθεί σε άλλες πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Σε ασθενείς που πάσχουν από την LouGehrig's νόσο (ALS μυοατροφική πλάγια σκλήρυνση), φαίνεται ότι τα νευρονημάτια είναι υπό τροποποιημένα με O-GlcNAc στους νευρώνες. Οι πρωτεΐνες AP-3 και AP-180 τροποποιούνται και οι δυο από την O-GlcNAc και αυτές οι τροποποιήσεις μειώνονται στην AD, προτείνοντας ότι η μειωμένη O-GlcNAc σχετίζεται με απώλεια του κύκλου των συναπτικών κυστιδίων. Συγκεντρωτικά, τα τρέχοντα δεδομένα δείχνουν πιθανούς συγκεκριμένους ρόλους της O-GlcNAc τροποποίησης στη φυσιολογική νευρωνική λειτουργία και στους μοριακούς μηχανισμούς που υπαγορεύουν την παθολογία των νευροεκφυλιστικών νόσων.

## ΑΥΞΗΜΕΝΑ ΕΠΙΠΕΔΑ O-GlcNAc ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΖΟΥΝ ΤΟΝ ΔΙΑΒΗΤΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Ίσως η λειτουργία της O-GlcNAc που έχουμε κατανοήσει καλύτερα, να είναι ο ρόλος της στη σηματοδότηση της ινσουλίνης και στη ρύθμιση της τοξικότητας της γλυκόζης. Αυξημένη O-GlcNAc στα λιποκύτταρα ή στον μυ, μπλοκάρει την σηματοδότηση της ινσουλίνης σε διάφορα σημεία και υπερέκφραση του OGT στον μυ ή στον λιπώδη ιστό σε διαγονιδιακά ποντίκια, προκαλεί εμφανή διαβήτη. Πολλές από τις τοξικές επιδράσεις της γλυκόζης απαιτούν την μετατροπή της με γλυκοζαμίνες, κάτι που ταυτόχρονα αυξάνει την UDP-GlcNAc και την O-GlcNAcylation. Τρέχοντα μοντέλα προτείνουν ότι μη φυσιολογικές αυξήσεις της O-GlcNAcylation, λόγω υπεργλυκαιμίας, υπερλιπιδαιμίας, ή και υπερινσουλιναιμίας, διαταράσσουν την φυσιολογική δυναμική ισορροπία μεταξύ της O-GlcNAc τροποποίησης και φωσφορυλίωσης που ελέγχει τη σηματοδότηση, τη μεταγραφή και άλλες κυτταρικές λειτουργίες, οδηγώντας σε τοξικότητα που σχετίζεται με τον διαβήτη.

Οι πρώτες μελέτες που συνέδεσαν άμεσα τον μεταβολισμό των γλυκοζαμινών με την τοξικότητα της γλυκόζης στον διαβήτη, έδειξαν ότι η γλυκοζαμίνη έχει

περισσότερες πιθανότητες να επάγει αντοχή στην ινσουλίνη σε καλλιεργούμενα λιποκύτταρα, σε σχέση με την γλυκόζη. Αυτές οι μελέτες επίσης απέδειξαν ότι η ικανότητα της γλυκόζης να επάγει αντοχή στην ινσουλίνη μπορεί να μπλοκαρισθεί από την δεοξυνορλευκίνη (DON), ένα φάρμακο που αναστέλλει την γλυκοζοφρουκτοζο αμιδοτρανσφεράση (GFAT, ένα ένζυμο που μετατρέπει την 6-P-φρουκτόζη σε 6-P-γλυκοζαμίνη και ότι αυτό το μπλοκάρισμα μπορεί να παρακαμφθεί προσθέτοντας γλυκόζη στο καλλιεργητικό μέσο. Η αντοχή στην ινσουλίνη είναι το ορόσημο στο διαβήτη τύπου II. Από μεταγενέστερες μελέτες δείχθηκε ότι αυξημένη διαθεσιμότητα γλυκοζαμίνης επάγει έντονη μυοσκελετική αντοχή στην ινσουλίνη σε φυσιολογικούς αρουραίους και ότι ο μεταβολισμός της γλυκοζαμίνης παίζει ρόλο στην επαγόμενη από το λίπος αντοχή στην ινσουλίνη ίνβινο. Παρουσία αυξημένων λιπαρών οξέων όπως συμβαίνει στην υπεργλυκαιμία, επάγει αντοχή στην ινσουλίνη μέσω αυξημένης παραγωγής μεταβολιτών των γλυκοζαμινών. Η O-GlcNAc τροποποίηση της συνθάσης του γλυκογόνου εμποδίζει την ενεργοποίηση της από την ινσουλίνη, μπλοκάροντας το απόθεμα γλυκόζης. Μια πρόσφατη γενετική μελέτη, έδειξε έντονη συσχέτιση μεταξύ ενός SNP(πολυμορφισμός ενός νουκλεοτιδίου) στην O-GlcNAcase και ενός πληθυσμού ατόμων με διαβήτη τύπου II. Στον σκελετικό μυ αρουραίου, η υπερινσουλιναίμια, όπως συμβαίνει στον διαβήτη τύπου II, αυξάνει δραματικά τα επίπεδα των πρωτεϊνών που τροποποιούνται από την O-GlcNAc. Έγχυση γλυκοζαμίνης επίσης αυξάνει τα επίπεδα των πρωτεϊνών που τροποποιούνται από την O-GlcNAc στον μυ, ακόμα και απουσία αυξημένης ινσουλίνης.

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η υπεργλυκαιμία και/ή η υπερινσουλιναίμια συνολικά αυξάνουν την O-GlcNAc τροποποίηση των πρωτεϊνών σε διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι αυξημένη γλυκόζη αυξάνει την O-GlcNAc τροποποίηση πρωτεϊνών στα παγκρεατικά β κύτταρα ( κύτταρα που εκκρίνουν ινσουλίνη ), και όπως περιγράφηκε παραπάνω, η O-GlcNAc τροποποίηση μεταγραφικών παραγόντων μπορεί να ρυθμίζει την μεταγραφή του γονιδίου της ινσουλίνης. Μια μοναδική δόση ενός χημικά ενεργού αναλόγου της O-GlcNAc (στρεπτοζοτοκίνη STZ) που δόθηκε σε ζώα, επιλεκτικά σκοτώνει τα παγκρεατικά β κύτταρα, καταλήγοντας σε διαβήτη τύπου I. Η υψηλά επιλεκτική φύση των STZ προτείνει ότι τα β κύτταρα είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε αλλαγμένο μεταβολισμό των γλυκοζαμινών. Βιοχημικές και ιστολογικές μελέτες στην αορτή των αρουραίων και σε καλλιεργημένο αορτικό λείο μυ αρουραίου δείχνουν ότι η υπεργλυκαιμία μεταβάλλει ποιοτικά και ποσοτικά την έκφραση πολλών τροποποιημένων με O-GlcNAc πρωτεϊνών, προτείνοντας ένα ρόλο για την O-GlcNAc στην τοξικότητα της γλυκόζης στους αγγειακούς ιστούς. Διαγονιδιακά ποντίκια που υπερεκφράζουν την πρωτεΐνη μεταφορέα της γλυκόζης (GLUT1) στον μυ, έχουν αυξημένα επίπεδα UDP- GlcNAc, έχουν αντοχή στην ινσουλίνη και παρουσιάζουν αυξημένη O-GlcNAc τροποποίηση στις GLUT4-κυστιδιακές σχετιζόμενες πρωτεΐνες. Ελεύθερα λιπαρά οξέα αυξάνουν την UDP- GlcNAc σε ανθρώπινα καλλιεργούμενα μυοσωληνάρια και αυξάνουν την O-GlcNAc εξαρτώμενη δράση πρόσδεσης DNA του μεταγραφικού παράγοντα Sp1. Μελέτες από καλλιεργούμενα μυοσωληνάρια που μεγαλώνουν σε υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης ή/και ινσουλίνη έδειξαν ενισχυμένη O-GlcNAc τροποποίηση σε πολλές πρωτεΐνες. Πρωτεωμικές αναλύσεις αυτών των μυοσωληναρίων δείχνουν

ότι οι υπέρ τροποποιημένες με O-GlcNAc πρωτεΐνες περιλαμβάνουν τις HSP70, α-τουμπουλίνη, και Sp1. Οι ρόλοι της O-GlcNAc στην διαβητική καρδιομυοπάθεια έχουν εξεταστεί σε μοντέλο αρουραίου. Μυοκύτταρα που εκτίθενται σε υψηλή γλυκόζη παρουσιάζουν αλλαγμένη O-GlcNAc τροποποίηση σε διάφορους μεταγραφικούς παράγοντες που εμπλέκονται στην καρδιομυοκυτταρική λειτουργία, ταυτόχρονα με αλλαγμένη σηματοδότηση ασβεστίου. Αντιθέτως, όταν τα καρδιομυοκύτταρα επιμολύνονται με αδενιοό που κωδικοποιεί την O-GlcNAcase, η καρδιομυοκυτταρική λειτουργία βελτιώθηκε δραματικά. Άρα, είναι πια ξεκάθαρο ότι και η υπεργλυκαιμία και η ινσουλίνη ρυθμίζουν την κατάσταση της O-GlcNAc τροποποίησης μυριάδων κυτταρικών πρωτεϊνών, οι οποίες με τη σειρά τους ρυθμίζουν τη σηματοδότηση και την μεταγραφή. Παρόλο που πολλά απομένουν να μάθουμε, είναι ολοένα και πιο ξεκάθαρο ότι η απορρύθμιση της O-GlcNAc τροποποίησης υπογραμμίζει τη μοριακή βάση της τοξικότητας της γλυκόζης και της αντοχής στην ινσουλίνη, δύο κύριων οροσήμων στο διαβήτη.

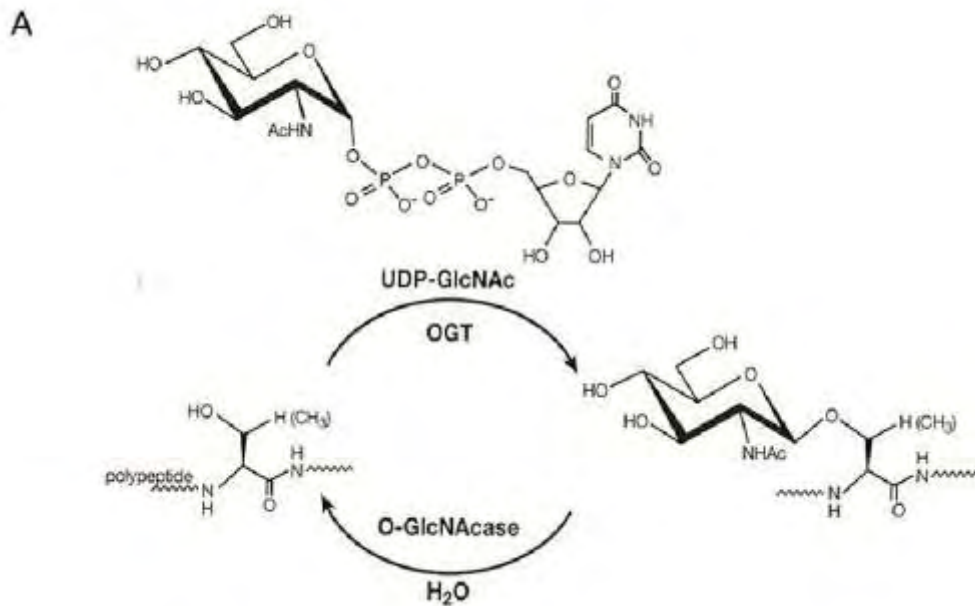
## O-GlcNAc ΚΑΙ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΣΤΟ ΣΤΡΕΣ

Σε κάθε κυτταρικό τύπο θηλαστικού που έχει εξεταστεί μέχρι σήμερα, μια από τις πρώιμες απαντήσεις στο κυτταρικό στρες είναι η ταχύτατη και συνολική αύξηση της O-GlcNAc τροποποίησης σε πολλές πρωτεΐνες. Τα επίπεδα της O-GlcNAc αυξάνουν γρήγορα ως απάντηση σε κάθε μορφή στρες (θερμικό σοκ, αιθανόλη, UV, υποξεία, αναγωγικό, οξειδωτικό και ωσμωτικό στρες). Επιπλέον, η επαγόμενη από το στρες αύξηση της O-GlcNAc τροποποίησης πολλών πρωτεϊνών, είναι δυναμική, επιστρέφοντας στα φυσιολογικά επίπεδα μετά από 24-48 ώρες. Αυτή η αύξηση της O-GlcNAc θα μπορούσε να είναι το αποτέλεσμα της αυξημένης εισροής γλυκόζης μέσα στα κύτταρα που συμβαίνει ως απάντηση στο στρες, ή της αυξημένης δράσης της OGT, ή της μειωμένης δράσης της O-GlcNAcase, ή συνδυασμός και των τριών.

Τεχνητή τροποποίηση των O-GlcNAc επιπέδων καταλήγει σε μεταβεβλημένη ανοχή των θανάσιμων επιπέδων κυτταρικού στρες. Μειωμένα επίπεδα OGT και O-GlcNAc καταλήγουν σε κύτταρα που είναι λιγότερο ανεκτικά, ενώ αυξημένα επίπεδα αυτών καταλήγουν σε κύτταρα που είναι περισσότερο ανεκτικά. Η βραχυπρόθεσμη αύξηση της O-GlcNAc τροποποίησης φαίνεται να είναι ένας σημαντικός μηχανισμός επιβίωσης. Η υπερέκφραση πρωτεϊνών θερμικού σοκ (συνοδοί) επίσης προστατεύει τα κύτταρα από το στρες. Παρουσία αυξημένης O-GlcNAc, η επαγωγή των πρωτεϊνών θερμικού σοκ (HSP70 και HSP40), συμβαίνει γρηγορότερα και μετά την αύξησή τους αυτές μειώνουν τα επίπεδά τους πιο αργά. Επιπλέον, μειωμένα επίπεδα των HSP70 και HSP40 παρατηρούνται σε κυτταρικές σειρές όπου η OGT είναι μειωμένη. Είναι ξεκάθαρο ότι η O-GlcNAc ρυθμίζει την ανεκτικότητα στο στρες, κατά ένα μέρος με το να μεταβάλλει τα επίπεδα των πρωτεϊνών θερμικού σοκ. Ωστόσο, η O-GlcNAc μπορεί να προστατεύει τα κύτταρα και με άλλους τρόπους, για παράδειγμα, (1) με το να σταθεροποιεί τη δομή των πρωτεϊνών, (2) με το να εμποδίζει την συσσωμάτωση πρωτεΐνης με πρωτεΐνη, (3) με το να ρυθμίζει μονοπάτια μεταγωγής σήματος που είχαν προηγουμένως εμπλακεί στην προστασία της γλυκόζης, όπως η JNK ενεργοποίηση, και τέλος (4) με το να μεταβάλλει την τη δράση ή τον εντοπισμό των πρωτεϊνών

θερμικού σοκ, πολλές από τις οποίες φαίνεται να είναι γνωστό ότι τροποποιούνται από την O-GlcNAc. Ανεξάρτητα από άλλους μηχανισμούς, είναι ξεκάθαρο ότι η O-GlcNAc τροποποίηση πολλών πρωτεϊνών είναι μια από τις πιο γρήγορες κυτταρικές απαντήσεις στο στρες από μια ποικιλία μη σχετιζόμενων πηγών. Το να διευκρινίσουμε πως η αυξημένη O-GlcNAc τροποποίηση βοηθά ένα κύτταρο να επιβιώσει σε συνθήκες στρες, θα βοηθούσε να κατανοήσουμε τους ρόλους αυτής της πανταχού παρούσας μετά-μεταφραστικής τροποποίησης.

## ΕΙΚΟΝΑ 1



(A) Η O-συνδεόμενη β-N-ακετυλογλυκοζαμίνη (O-GlcNAc) είναι μια πρωτεϊνική δυναμική τροποποίηση που συναντάται άφθονη μέσα στον πυρήνα και στο κυτταρόπλασμα. Η O-GlcNAc τρανσφεράση (OGT) προσκολλά την O-GlcNAc στις πρωτεΐνες σε συγκεκριμένα κατάλοιπα σερίνης ή θρεονίνης. Η O-GlcNAcase υδρολύει την O-GlcNAc από τις πρωτεΐνες. Τα δύο ένζυμα βρίσκονται συχνά μέσα στο ίδιο σύμπλοκο και ρυθμίζονται υψηλά στο να ελέγχουν τον O-GlcNAc κύκλο.

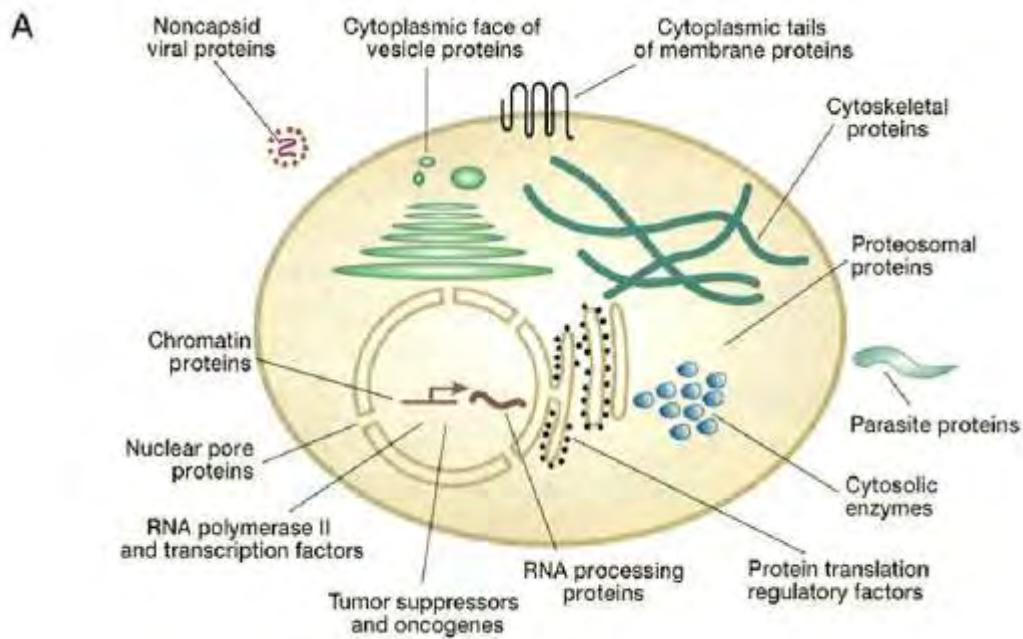
## B



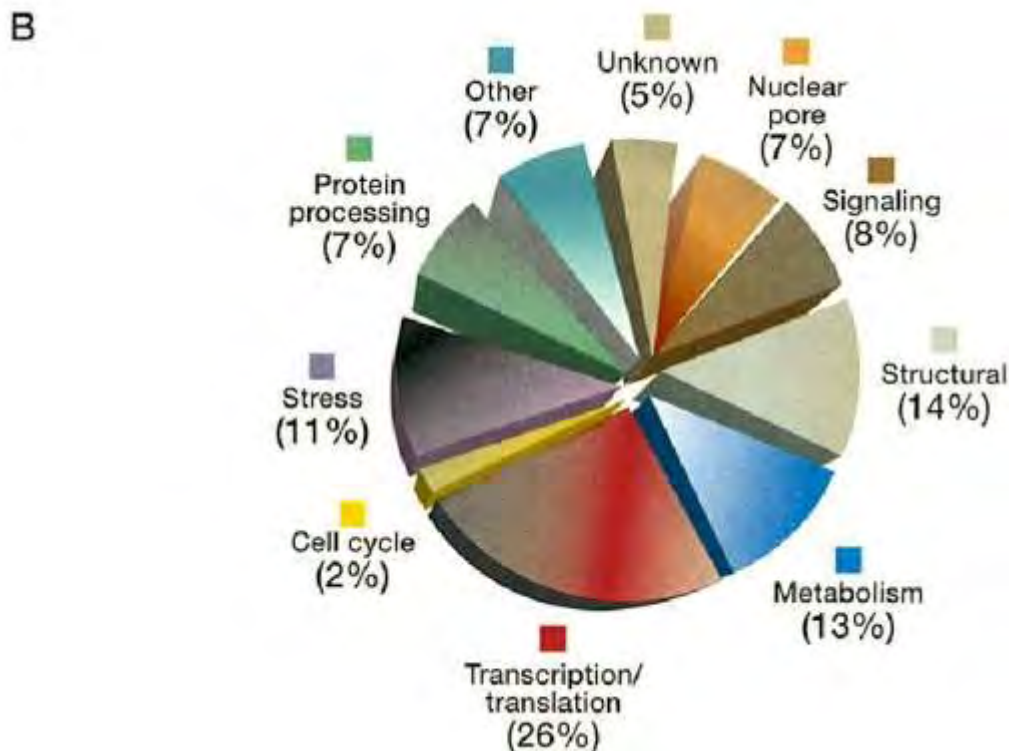
(B) Ηλεκτροφόρηση δύο διαστάσεων των O-GlcNAc τροποποιημένων πρωτεϊνών που είχαν απομονωθεί με ανοσοσυγγένεια από πυρηνοκυτταροπλασματικά εκχυλίσματα κυττάρων HeLa. Η ηλεκτροφόρηση δύο διαστάσεων αποκαλύπτει ότι πολλές πρωτεΐνες τροποποιούνται από την O-GlcNAc.



## ΕΙΚΟΝΑ 2

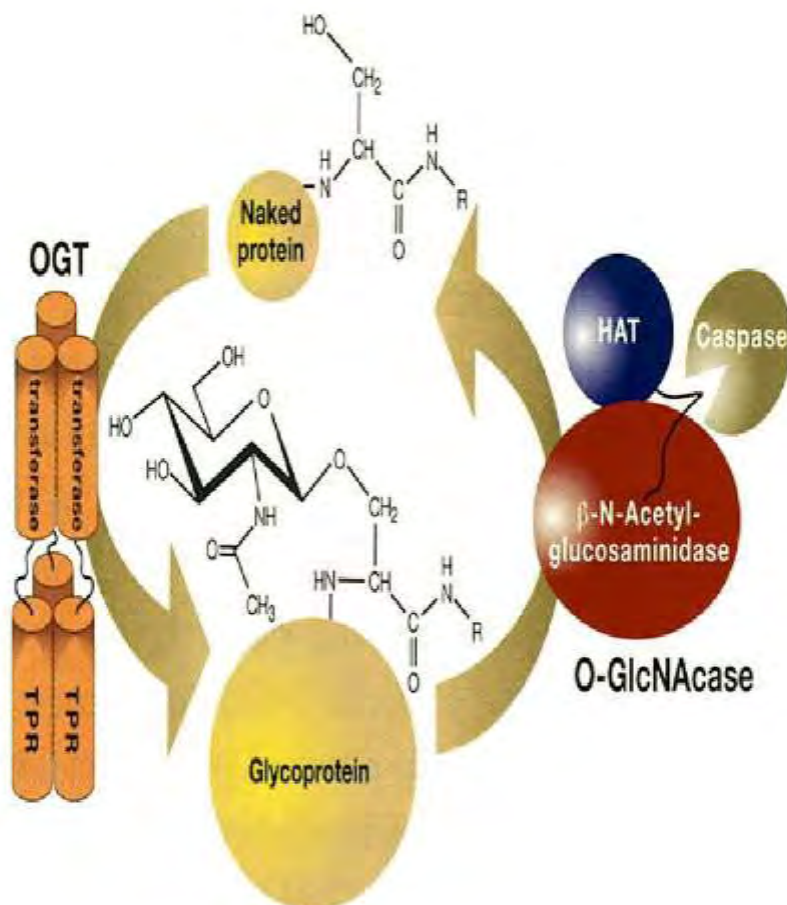


(A) Οι πρωτεΐνες που έχουν υποστεί O-GlcNAc τροποποίηση βρίσκονται σε πολλά διαφορετικά κυτταρικά διαμερίσματα. Βρίσκονται κυρίως μέσα στον πυρήνα, αλλά υπάρχουν επίσης στο κυτταρόπλασμα και μέσα σε ιούς που μολύνουν ευκαρυωτικά κύτταρα. Η υποκυτταρική κατανομή της O-GlcNAc είναι παρόμοια με αυτήν της Ser(Thr)-O-φωσφορυλίωσης. Comer F.I. and Hart G.W



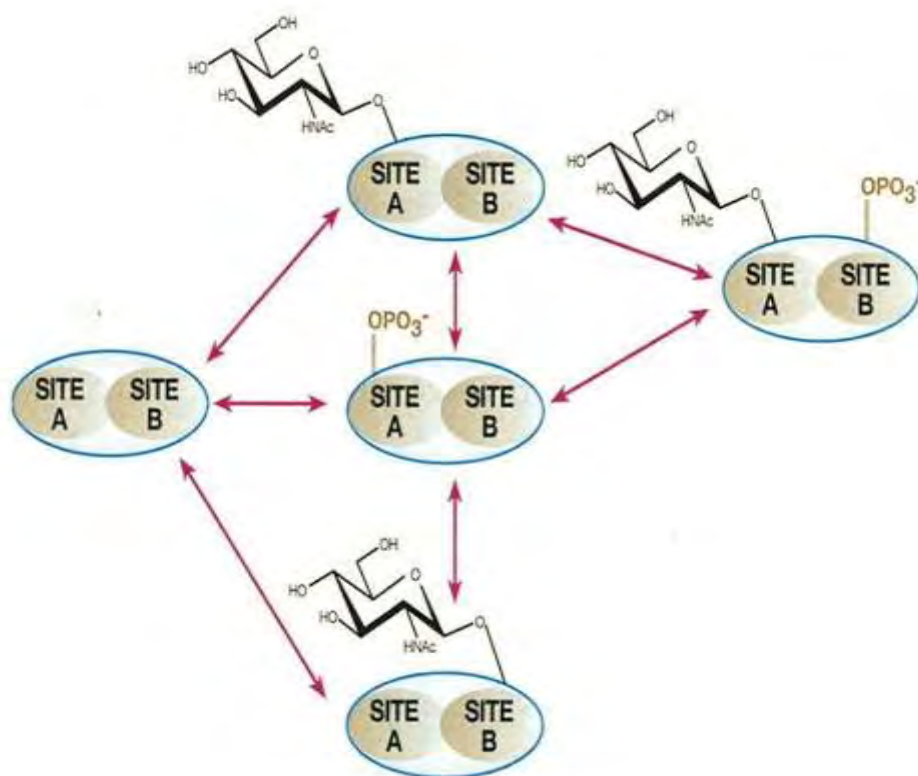
(B) Οι πρωτεΐνες που έχουν υποστεί O-GlcNAc τροποποίηση ανήκουν σε πολλές διαφορετικές λειτουργικές τάξεις. Το διάγραμμα πίτας παρουσιάζει τη λειτουργική κατανομή αυτών των πρωτεϊνών που έχουν ταυτοποιηθεί ως τώρα. Love D.C. and Hanover J.A.

### EIKONA 3



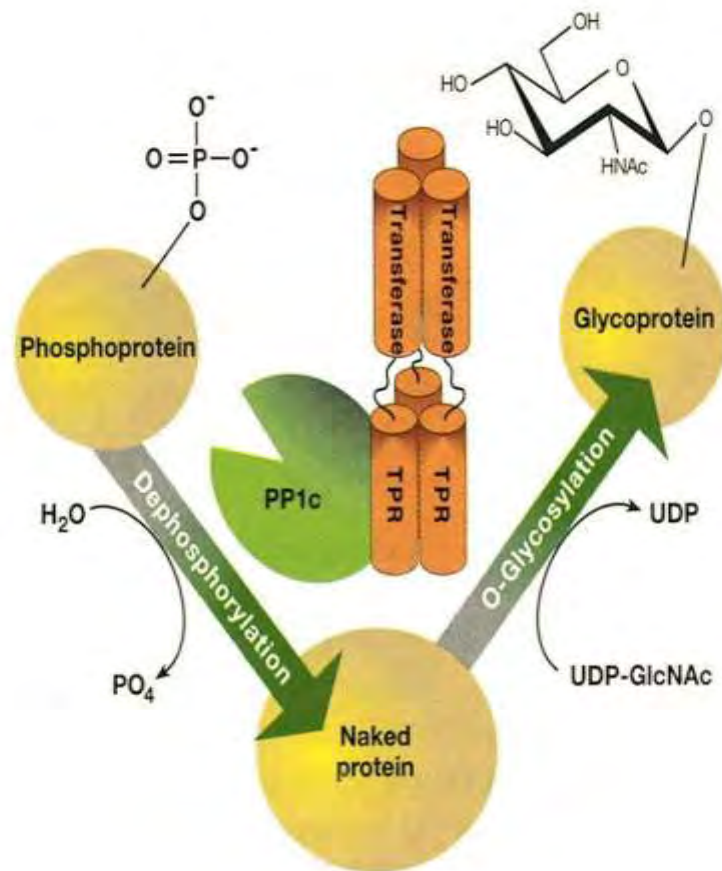
Ο O-GlcNAc κύκλος ρυθμίζεται από την συντονισμένη δράση της O-GlcNAc τρανσφεράσης (OGT) και της O-GlcNAcase. Η OGT έχει δύο διακριτές περιοχές : την περιοχή της τρανσφεράσης, η οποία περιέχει την καταλυτική θέση και σχετίζεται με την φωσφορυλάση του γλυκογόνου, και μια περιοχή επαναλαμβανόμενης αλληλουχίας 34 αμινοξέων (TRP), η οποία περιέχει θέσεις αλληλεπίδρασης πρωτεϊνών. Η O-GlcNAcase έχει επίσης δύο λειτουργικές περιοχές, οι οποίες διαχωρίζονται από μια κοιλότητα με θέση κασπάσης-3. Η O-GlcNAcase έχει στο καρβοξυτελικό άκρο της μια περιοχή ενεργής ακετυλοτρανσφεράσης των ιστονών (HAT) και στο αμινοτελικό άκρο της μια περιοχή N-ακετυλογλυκοζαμινιδάσης. Slawson C., Housley M.P., and Hart G.W.

#### EIKONA 4



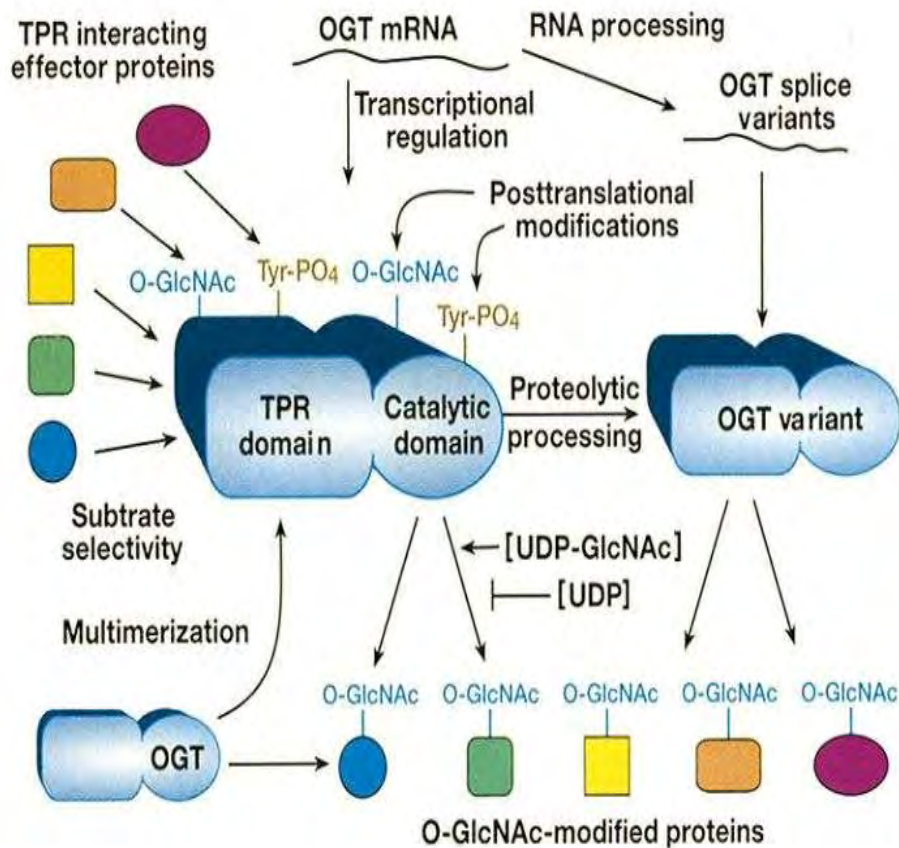
Η τροποποίηση με O-GlcNAc παρουσιάζει μια πολύπλοκη δυναμική αλληλεπίδραση με την φωσφορυλίωση. Το παράδειγμα αναπαριστά την πολυπλοκότητα που δημιουργείται από δύο πιθανές θέσεις πάνω σε μια πρωτεΐνη. Σε κάποιες πρωτεΐνες, η O-GlcNAc και το O- φωσφορικό συναγωνίζονται για την ίδια θέση. Σε άλλες, οι αντίστοιχες θέσεις τους είναι κοντά ή μια στην άλλη, ωστόσο είναι αμοιβαία αποκλειστικές. Σε άλλες πρωτεΐνες, η τροποποίηση με O-GlcNAc και η φωσφορυλίωση συμβαίνουν ανεξάρτητα ή μια από την άλλη. Comer F.I. and Hart G.H.

## ΕΙΚΟΝΑ 5



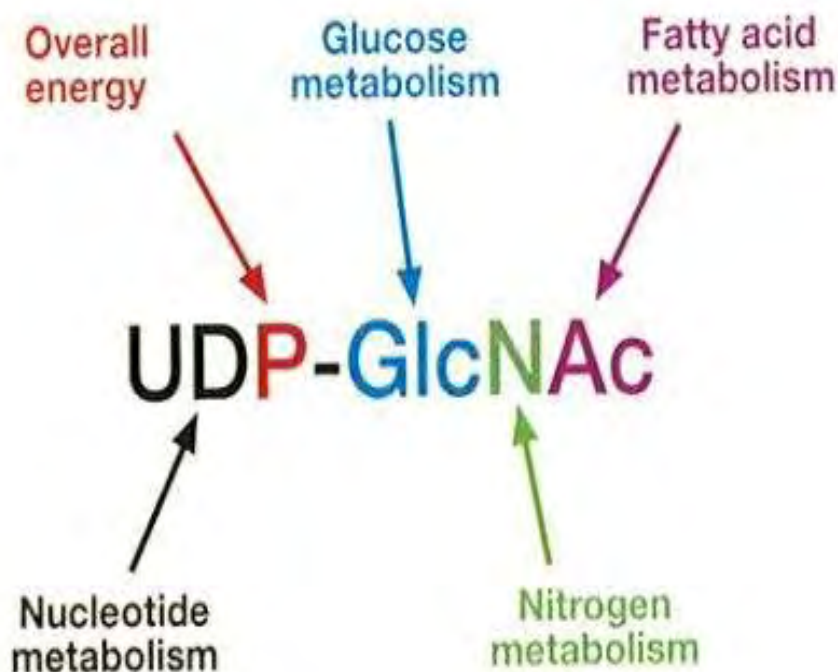
Η καταλυτική υπομονάδα της πρωτεϊνικής φωσφατάσης (PP1c), είναι ένα ένζυμο κλειδί που απομακρύνει τα κατάλοιπα Ο-φωσφορικού από πολλές σημαντικές ρυθμιστικές πρωτεΐνες, και υπάρχει ως σύμπλοκο με την O-GlcNAc τρανσφεράση, η οποία προσκολλά O-GlcNAc. Αυτό μας προτείνει ότι το ίδιο ενζυμικό σύμπλοκο μαζί απομακρύνει φωσφορικά και προσκολλά O-GlcNAc, ίσως χωρίς να αποσυνδέεται από το υπόστρωμα. Slawson C. and Housley M.P., and Hart G.W.,

## EIKONA 6



Η O-GlcNAc τρανσφεράση (OGT) ρυθμίζεται από πολλούς και πολύπλοκους μηχανισμούς, που περιλαμβάνουν, μεταγραφική ρύθμιση της έκφρασής της, εναλλακτικό μάτισμα του RNA, πρωτεολυτική επεξεργασία, μετά-μεταφραστική τροποποίηση, και πολυμερισμό με τον εαυτό της και άλλες πρωτεΐνες. Η στόχο-ειδικότητα της OGT ρυθμίζεται από έναν μεγάλο αριθμό πρωτεϊνών που προσδένονται στις περιοχές επαναλαμβανόμενης αλληλουχίας 34 αμινοξέων (TRPs). Ωστόσο, ο πιο σημαντικός ρυθμιστής της OGT είναι τα επίπεδα του δότη υποστρώματός της, δηλαδή του UDP-GlcNAc. Comer F.I., and Hart G.W.

## EIKONA 7



Το UDP-GlcNAc είναι το υπόστρωμα της O-GlcNAc τρανσφεράσης (OGT) και ένας ιδανικός αισθητήρας της μεταβολικής κατάστασης του κυττάρου. Στα κύτταρα, το 2-5% της γλυκόζης μεταβολίζεται προκειμένου να σχηματιστεί το UDP-GlcNAc. Σε αντίθεση με άλλα νουκλεοτίδια σακχάρων, τα επίπεδα του UDP-GlcNAc (τα οποία είναι δεύτερα μετά τα επίπεδα ATP ως κυτταρικά συστατικά υψηλής ενέργειας) είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στις ροές μέσω των μεταβολικών μονοπατιών που παρουσιάζονται. Με τη σειρά του, το επίπεδο στο οποίο έχουν τροποποιηθεί πολλές πρωτεΐνες ανταποκρίνεται υψηλά στα επίπεδα του UDP-GlcNAc. Cook S.F., and Bliss T.V.

# ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## ΥΛΙΚΟ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Το υλικό της διατριβής αποτελείται από 56 περιπτώσεις χειρουργικών παρασκευασμάτων κήλης μεσοσπονδύλιων δίσκων που πάρθηκαν από το αρχείο της παθολογοανατομικής μονάδας του εργαστηρίου της Ανατομίας του Ιατρικού τμήματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

## ΜΕΘΟΔΟΙ

Οι ιστοί της κήλης των δίσκων μονιμοποιήθηκαν για 24 ώρες σε 10% ουδέτερη φορμόλη και κατόπιν αφυδατώθηκαν σε διαλύματα 80%, 95%, και 100% αιθυλικής αλκοόλης και 100% ξυλόλης και κλείσθηκαν σε κύβους παραφίνης. Από τους κύβους παραφίνης κόπηκαν τομές πάχους 4 μm για χρώση με ηωσίνη-αιματοξυλίνη και για ανοσοϊστοχημεία.

## ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑΣ

Για τον εντοπισμό του σακχάρου N-ακετυλογλυκοζαμίνη, που είναι συνδεδεμένο με τις ρίζες υδροξυλίων των αμινοξέων σερίνης και θρεονίνης (O-GlcNAc) στα πολυπεπίδια χρησιμοποιήθηκε το μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού RL2, που αγοράστηκε από την Thermo Scientific, με αριθμό καταλόγου MA1-072 σε αραιώση 1:200. Για τον εντοπισμό του ενζύμου, που προσθέτει το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη στα πολυπεπίδια (OGT) σε συντομογραφία, χρησιμοποιήθηκε πολυκλωνικό αντίσωμα κουνελιού, που αγοράστηκε από την Thermo Scientific, με αριθμό καταλόγου PA5-13654 σε αραιώση 1:100. Για τον εντοπισμό του ενζύμου, που αφαιρεί το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη από τα πολυπεπίδια (OGA) σε συντομογραφία χρησιμοποιήθηκε το πολυκλωνικό αντίσωμα κουνελιού anti-MGEA5 που αγοράστηκε από την Sigma με αριθμό προϊόντος HPAO36141 και αριθμό LOT R33191. Έγινε αποκάλυψη των αντιγονικών θέσεων σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών και για το δεύτερο αντίσωμα και τη χρώση γενικώς χρησιμοποιήθηκε το Genemed Kit Polymer HRP που περιέχει ως δεύτερο αντίσωμα, αντίσωμα κατσίκας (goat).

## ΔΙΑΒΑΘΜΙΣΗ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΛΛΟΙΩΣΕΩΝ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑΣ

Η διαβάθμιση των ιστολογικών αλλοιώσεων έγινε σύμφωνα με τον πίνακα BOOS, βλέπε γενικό μέρος.

Η διαβάθμιση της ανοσοϊστοχημείας έγινε ως εξής: 0-Αρνητική χρώση, 1+ Ασθενή ένταση χρώσης, 2+ Μέτρια ένταση χρώσης, 3+ Έντονη ένταση χρώσης. Y- Αναλογία βαμμένων κυττάρων >75% του πληθυσμού των κυττάρων, M- 25-75% βαμμένα κύτταρα, X- λιγότερα από 25% βαμμένα κύτταρα.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑΣ

Τα αποτελέσματα της ανοσοϊστοχημείας έδειξαν ότι υπήρχε τόσο πυρηνική, όσο και κυτταροπλασματική χρώση και για το συνδεδεμένο σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη O-GlcNAc (χρώση με RL2) και για την OGT και για την OGA. Τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα της ανοσοϊστοχημείας παρατίθενται στον πίνακα αποτελεσμάτων και σε αντιπροσωπευτικές εικόνες στο τέλος αυτού του κεφαλαίου.

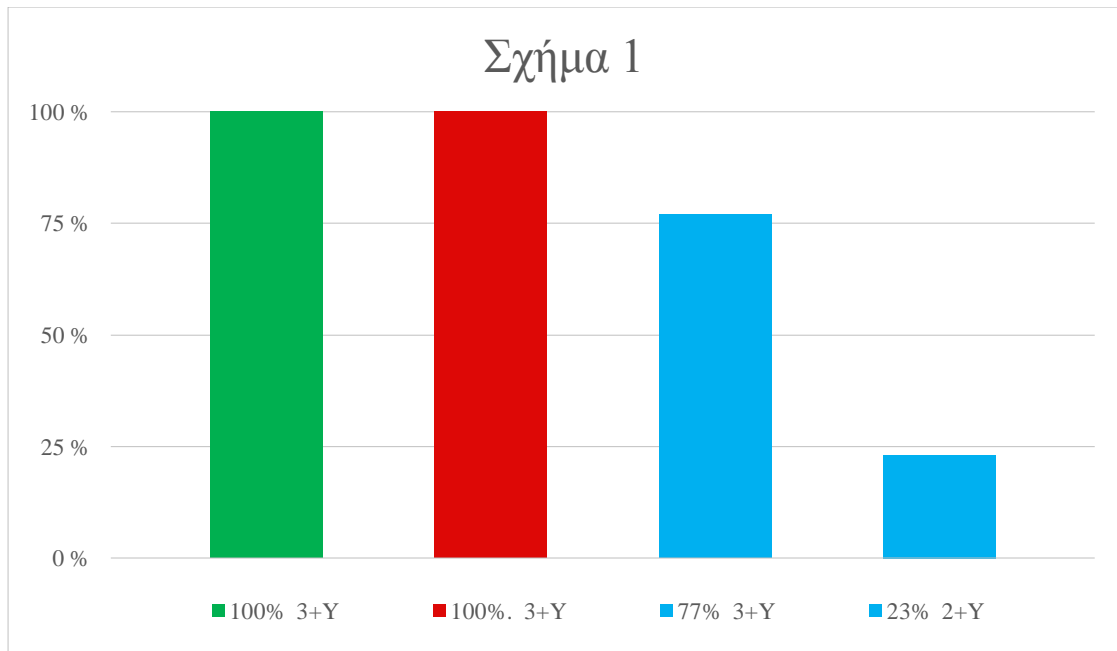
Αναλυτικότερα τα αποτελέσματα έχουν ως εξής:



Στις περιπτώσεις με σκορ κυτταρικού πολλαπλασιασμού 5 (ΣΚΠ5), η πυρηνική χρώση ήταν έντονη (3+) και σε υψηλή αναλογία >75% των κυττάρων στο σύνολο των 26 περιπτώσεων (100%), (Σχήμα 1) τόσο στα ομαδοποιημένα κύτταρα όσο και στα μονήρη για την O-GlcNAc με το αντίσωμα RL2. Η κυτταροπλασματική χρώση ήταν έντονη (3+) και σε υψηλή αναλογία στις 12 από τις 26 περιπτώσεις (46%) και μέτρια (2+) και σε υψηλή αναλογία στις 14 από τις 26 περιπτώσεις (54%), (Σχήμα 2) τόσο στα ομαδοποιημένα, όσο και στα μονήρη κύτταρα για το σάκχαρο O-GlcNAc.

Στις περιπτώσεις με σκορ κυτταρικού πολλαπλασιασμού 4 (ΣΚΠ4), η πυρηνική χρώση ήταν έντονη (3+) και σε υψηλή αναλογία στις 12 από τις 12 περιπτώσεις (100%), (Σχήμα 1), τόσο στα ομαδοποιημένα κύτταρα όσο και στα μονήρη για το σάκχαρο O-GlcNAc (χρώση με RL2). Η κυτταροπλασματική χρώση ήταν έντονη (3+) και σε υψηλή αναλογία στις 2 από τις 12 περιπτώσεις (16%) και μέτρια (2+) και σε υψηλή αναλογία στις 10 από τις 12 περιπτώσεις (84%), (Σχήμα 2), τόσο στα ομαδοποιημένα κύτταρα όσο και στα μονήρη κύτταρα για το σάκχαρο O-GlcNAc.

Στις περιπτώσεις με σκορ κυτταρικού πολλαπλασιασμού 3 (ΣΚΠ3), η πυρηνική χρώση ήταν έντονη (3+) και σε υψηλή αναλογία στις 14 από τις 18 περιπτώσεις (77%) και μέτρια (2+) και σε υψηλή αναλογία στις 4 από τις 18 περιπτώσεις (23%), (Σχήμα 1), σε αμφότερα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα. Η κυτταροπλασματική χρώση ήταν μέτρια (2+) και σε υψηλή αναλογία στις 14 από τις 18 περιπτώσεις (77%) και ασθενής (1+) και σε υψηλή αναλογία στις 4 από τις 18 περιπτώσεις (23%), (Σχήμα 2), σε αμφότερα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα για το σάκχαρο O-N-ακετυλογλυκοζαμίνη (O-GlcNAc).



**ΣΧΗΜΑ 1**

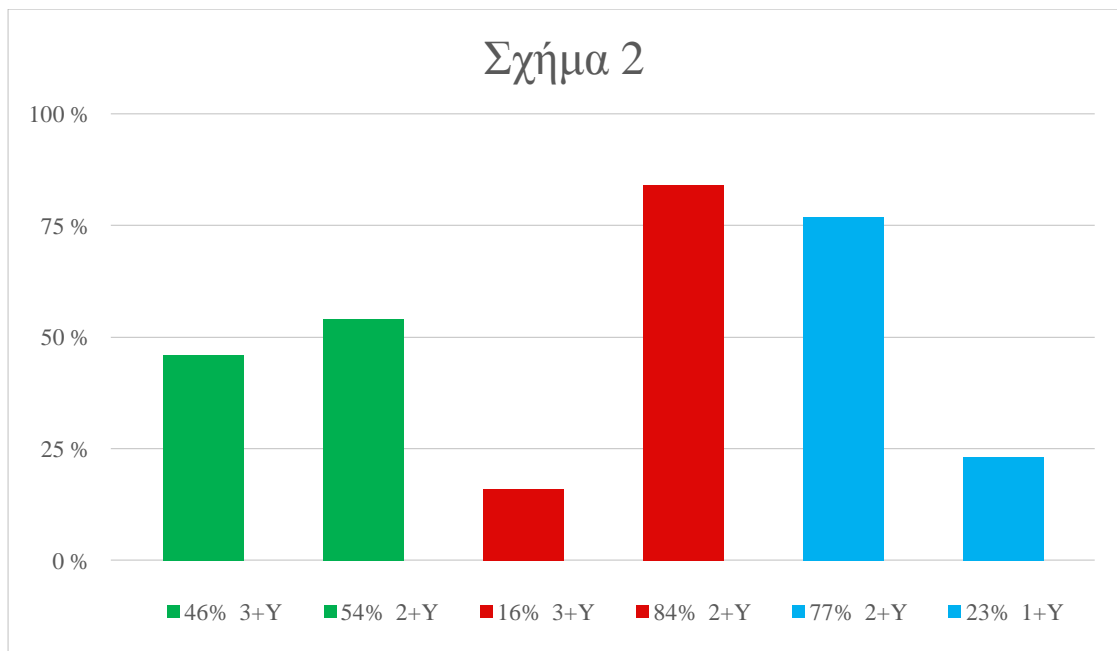
Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του σακχάρου O-N-Ακετυλογλυκοζαμίνη του συνδεδεμένου με πολυπεπίδια (O-GlcNAc) στους πυρήνες των κυττάρων του μεσοσπονδύλιου δίσκου με κήλη και ΣΚΠ5 (πράσινο), ΣΚΠ4 (κόκκινο), ΣΚΠ3 (γαλάζιο).

2+ μέτρια χρώση

3+ έντονη χρώση

Y -Βαμμένα κύτταρα >75%

ΣΚΠ -Σκορ Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού



**ΣΧΗΜΑ 2**

Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του σακχάρου O-N-Ακετυλογλυκοζαμίνη του συνδεδεμένου με πολυπεπίδια στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων των μεσοσπονδύλιων δίσκων με κήλη και με ΣΚΠ5 (πράσινο), ΣΚΠ4 (κόκκινο), ΣΚΠ3 (γαλάζιο).

1+ ασθενής χρώση

2+ μέτρια χρώση

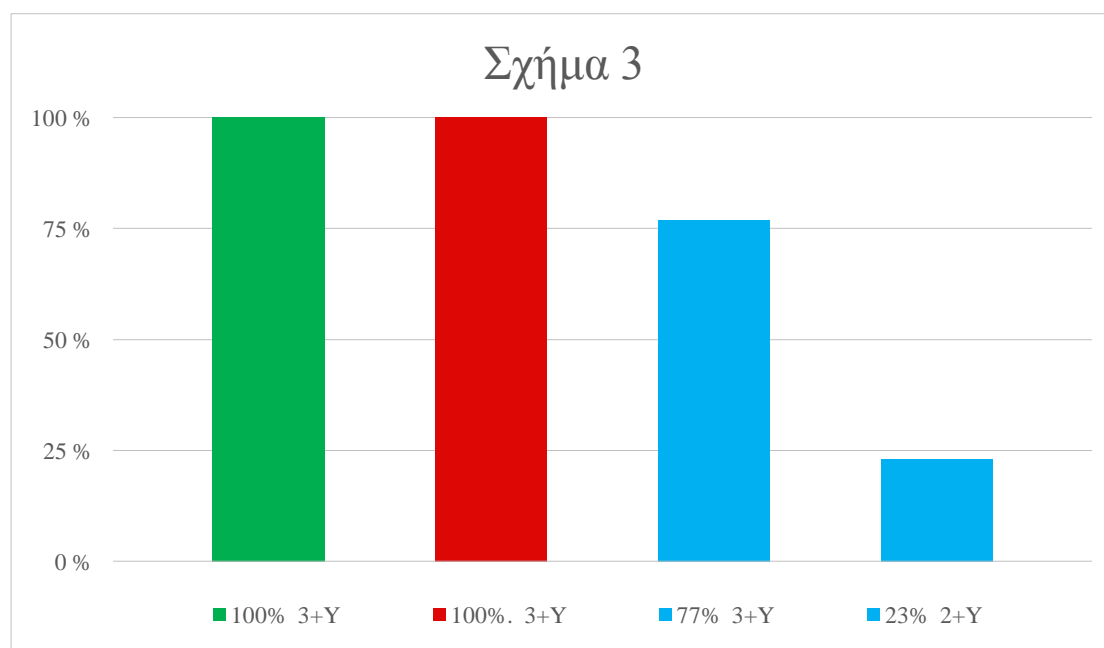
3+ έντονη χρώση

Y -Βαμμένα κύτταρα >75%

ΣΚΠ -Σκορ Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού

## ΕΝΖΥΜΟ ΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΟΥ Ο-N-ΑΚΕΤΥΛΟΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗ (OGT)

Στις περιπτώσεις με σκορ κυτταρικού πολλαπλασιασμού 5 (ΣΚΠ5), η πυρηνική χρώση ήταν έντονη (3+) και σε υψηλή αναλογία στις 26 από τις 26 περιπτώσεις (100%), (Σχήμα 3), σε αμφοτέρα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα. Η κυτταροπλασματική χρώση ήταν έντονη (3+) και σε υψηλή αναλογία στις 12 από τις 26 περιπτώσεις (46%) και μέτρια (2+) και σε υψηλή αναλογία στις 14 από τις 26 περιπτώσεις (54%), (Σχήμα 4), σε αμφοτέρα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα. Στις περιπτώσεις με σκορ κυτταρικού πολλαπλασιασμού 4 (ΣΚΠ4), η πυρηνική χρώση ήταν έντονη (3+) και σε υψηλή αναλογία στις 12 από τις 12 περιπτώσεις (100%), (Σχήμα 3), σε αμφοτέρα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα. Η κυτταροπλασματική χρώση ήταν έντονη (3+) και σε υψηλή αναλογία στις 2 από τις 12 περιπτώσεις (16%) και μέτρια (2+) και σε υψηλή αναλογία στις 10 από τις 12 περιπτώσεις (84%), (Σχήμα 4), σε αμφοτέρα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα. Στις περιπτώσεις με σκορ κυτταρικού πολλαπλασιασμού 3 (ΣΚΠ3), η πυρηνική χρώση ήταν έντονη (3+) και σε υψηλή αναλογία στις 14 από τις 18 περιπτώσεις (77%) και μέτρια (2+) και σε υψηλή αναλογία στις 4 από τις 18 περιπτώσεις (23%), (Σχήμα 3), σε αμφοτέρα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα. Η κυτταροπλασματική χρώση ήταν μέτρια (2+) και σε υψηλή αναλογία στις 14 από τις 18 περιπτώσεις (77%) και ασθενής (1+) και σε υψηλή αναλογία στις 4 από τις 18 περιπτώσεις (23%), (Σχήμα 4), σε αμφοτέρα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα.



### ΣΧΗΜΑ 3

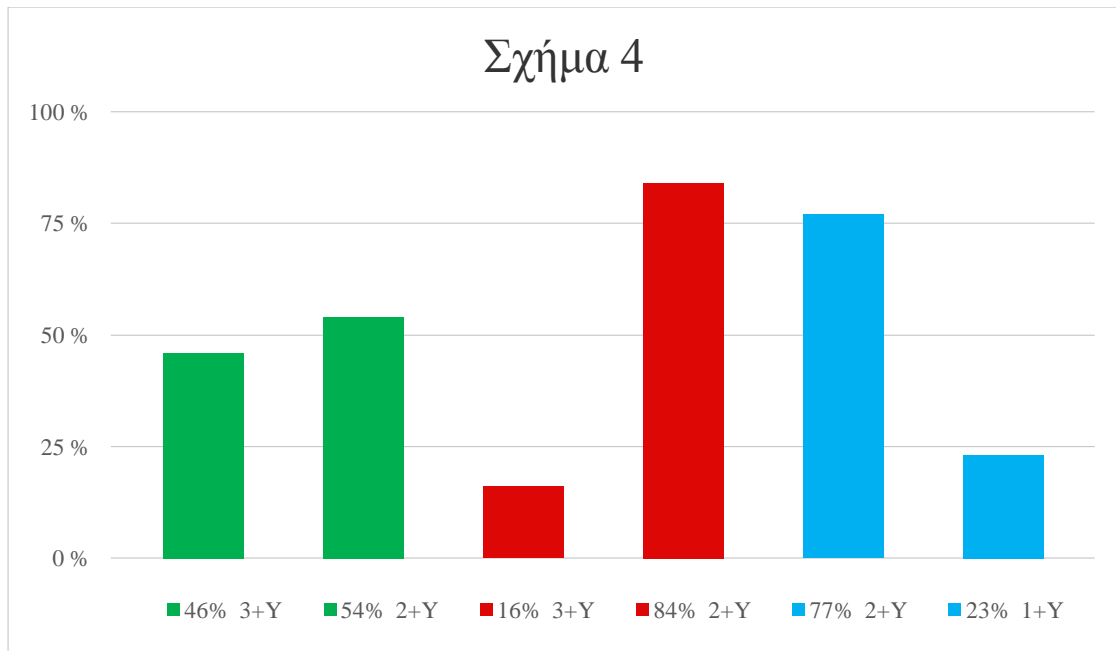
Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του ενζύμου τρανσφεράση της Ν-Ακετυλογλυκοζαμίνης στα πολυπεπτίδια (OGT), στους πυρήνες των κυττάρων των μεσοσπονδύλιων δίσκων με κήλη και με ΣΚΠ5 (πράσινο), ΣΚΠ4 (κόκκινο), ΣΚΠ3 (γαλάζιο).

2+ μέτρια χρώση

3+ έντονη χρώση

Y -Βαμμένα κύτταρα >75%

ΣΚΠ -Σκορ Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού



#### ΣΧΗΜΑ 4

Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του ενζύμου τρανσφεράση της Ν-Ακετυλογλυκοζαμίνης στα πολυπεπίδια (OGT), στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων των μεσοσπονδύλιων δίσκων με κήλη και με ΣΚΠ5 (πράσινο), ΣΚΠ4 (κόκκινο), ΣΚΠ3 (γαλάζιο).

1+ ασθενής χρώση

2+ μέτρια χρώση

3+ έντονη χρώση

Υ -Βαμμένα κύτταρα >75%

ΣΚΠ -Σκορ Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού

#### ΕΝΖΥΜΟ ΠΟΥ ΑΦΑΙΡΕΙ ΤΟ ΣΑΚΧΑΡΟ Ο-Ν-ΑΚΕΤΥΛΟΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗ (OGA)

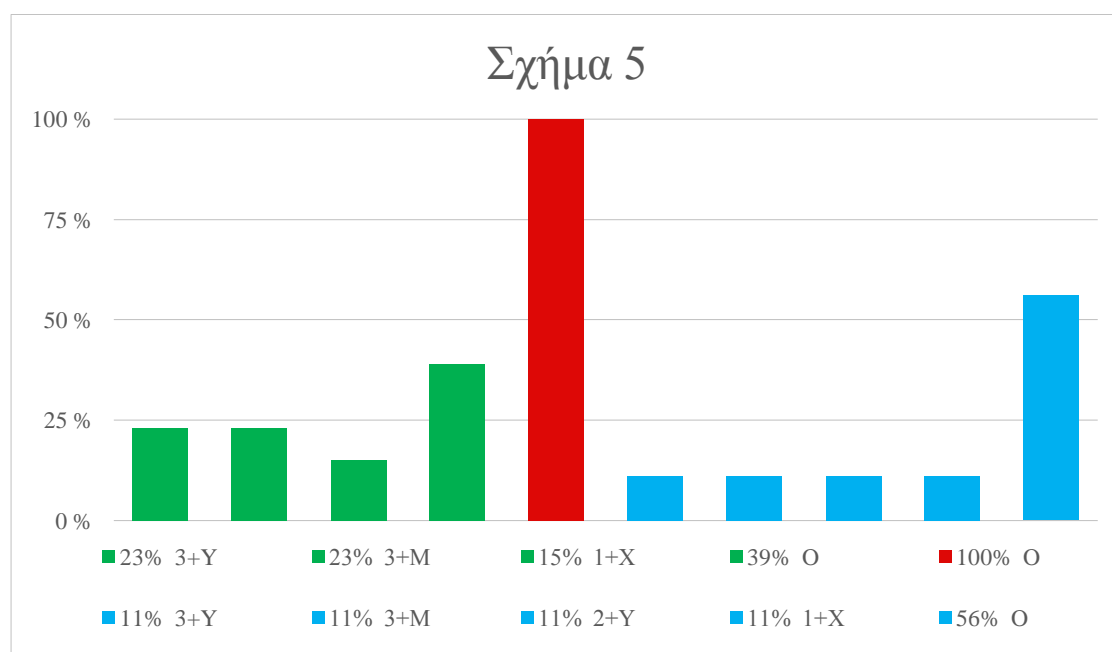
Στις περιπτώσεις με σκορ κυτταρικού πολλαπλασιασμού 5 (ΣΚΠ5), η πυρηνική χρώση ήταν έντονη (3+) και σε υψηλή αναλογία στις 6 από τις 26 περιπτώσεις (23%) σε αμφότερα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα, έντονη (3+) και σε μέτρια αναλογία στις 6 από τις 26 περιπτώσεις (23%) σε αμφότερα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα, ασθενής (1+) και σε χαμηλή αναλογία στις 4 από τις 26 περιπτώσεις (15%) σε αμφότερα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα και εντελώς αρνητική (0) στις 10 από τις 26 περιπτώσεις (39%), (Σχήμα 5).

Η κυτταροπλασματική χρώση ήταν ασθενής (1+) και σε υψηλή αναλογία στις 6 από τις 26 περιπτώσεις (23%) σε αμφότερα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα, ασθενής (1+) και σε μέτρια αναλογία στις 6 από τις 26 περιπτώσεις (23%) σε αμφότερα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα και εντελώς αρνητική (0) στις 14 από τις 26 περιπτώσεις (54%), (Σχήμα 6).

Στις περιπτώσεις με σκορ κυτταρικού πολλαπλασιασμού 4 (ΣΚΠ4), η πυρηνική καθώς και η κυτταροπλασματική χρώση ήταν εντελώς αρνητική (0) στις 12 από τις 12 περιπτώσεις (100%), (Σχήμα 5), (Σχήμα 6).

Στις περιπτώσεις με σκορ κυτταρικού πολλαπλασιασμού 3 (ΣΚΠ3), η πυρηνική χρώση ήταν έντονη (3+) και σε υψηλή αναλογία στις 2 από τις 18 περιπτώσεις (11%) σε αμφότερα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα, έντονη (3+) και σε μέτρια αναλογία στις 2 από τις 18 περιπτώσεις (11%) σε αμφότερα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα, μέτρια (2+) και σε υψηλή αναλογία στις 2 από τις 18 περιπτώσεις (11%) σε αμφότερα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα, ασθενής (1+) και σε χαμηλή αναλογία στις 2 από τις 18 περιπτώσεις (11%) σε αμφότερα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα και εντελώς αρνητική στις 10 από τις 18 περιπτώσεις (56%), (Σχήμα 5).

Η κυτταροπλασματική χρώση ήταν ασθενής (1+) και σε υψηλή αναλογία στις 4 από τις 18 περιπτώσεις (22%), ασθενής (1+) και σε μέτρια αναλογία στις 2 από τις 18 περιπτώσεις (11%) και εντελώς αρνητική (0), στις 12 από τις 18 περιπτώσεις (67%), (Σχήμα 6), σε αμφότερα τα ομαδοποιημένα και μονήρη κύτταρα.



#### ΣΧΗΜΑ 5

Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του ενζύμου που αφαιρεί την Ν-Ακετυλογλυκοζαμίνη από τα πολυπεπίδια (OGA), στους πυρήνες των κυττάρων των μεσοσπονδύλιων δίσκων με κήλη και με ΣΚΠ5 (πράσινο), ΣΚΠ4 (κόκκινο), ΣΚΠ3 (γαλάζιο).

0 -αρνητική χρώση

1+ ασθενής χρώση

2+ μέτρια χρώση

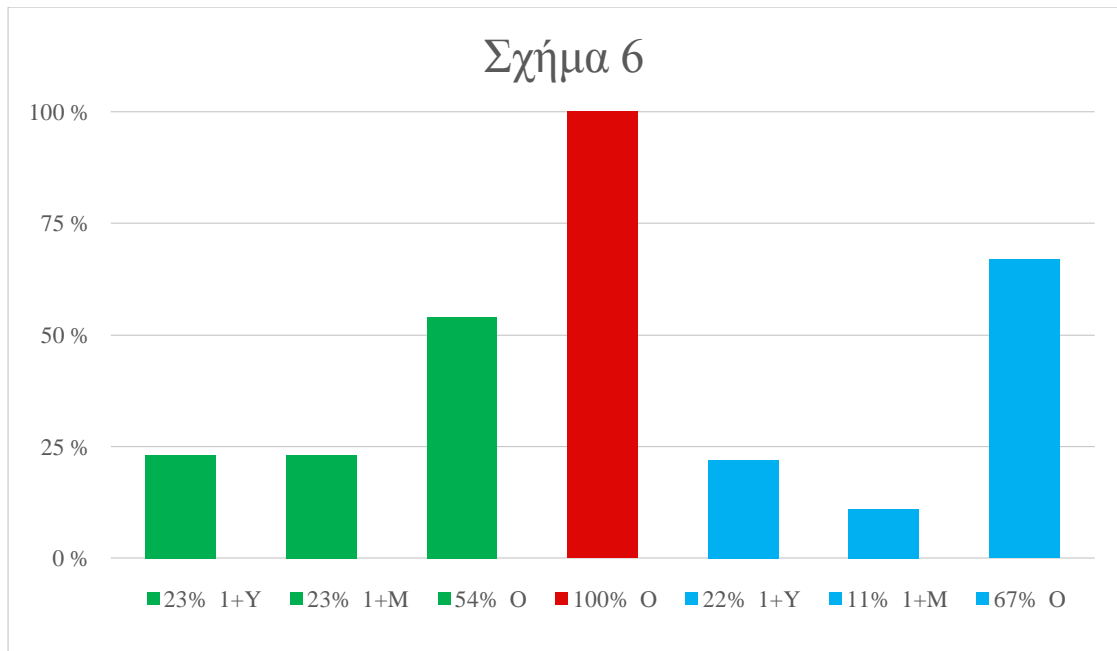
3+ έντονη χρώση

Y -Βαμμένα κύτταρα >75%

M -Βαμμένα κύτταρα 25-75%

X -Βαμμένα κύτταρα <25%

ΣΚΠ -Σκορ Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού



#### ΣΧΗΜΑ 6

Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του ενζύμου που αφαιρεί την Ν-Ακετυλογλυκοζαμίνη από τα πολυπεπίδια (OGA), στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων των μεσοσπονδύλιων δίσκων με κήλη και με ΣΚΠ5 (πράσινο), ΣΚΠ4 (κόκκινο), ΣΚΠ3 (γαλάζιο).

0 -αρνητική χρώση

1+ ασθενής χρώση

Υ -Βαμμένα κύτταρα >75%

Μ -Βαμμένα κύτταρα 25-75%

ΣΚΠ -Σκορ Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού

ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

| ΠΕΡΙ<br>ΠΤΩ<br>ΣΗ | O-GlcNAc     |              | OGT          |              | OGA          |              | ΣΚ<br>Π | ΣΔ<br>Α | ΣΚ<br>Α | ΣΒ<br>Ε | ΣΣ |
|-------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------|---------|---------|---------|----|
|                   | ΜΟΚ          | ΟΜΚ          | ΜΟΚ          | ΟΜΚ          | ΜΟΚ          | ΟΜΚ          |         |         |         |         |    |
| 1.                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 5       | 3       | 2       | 2       | 12 |
| 2.                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 5       | 3       | 2       | 2       | 12 |
| 3.                | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ1+Υ | Π3+Υ<br>Κ1+Υ | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 4.                | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ1+Υ | Π3+Υ<br>Κ1+Υ | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 5.                | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Μ<br>Κ1+Μ | Π3+Μ<br>Κ1+Μ | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 6.                | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Μ<br>Κ1+Μ | Π3+Μ<br>Κ1+Μ | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 7.                | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Μ<br>Κ1+Μ | Π3+Μ<br>Κ1+Μ | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 8.                | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Μ<br>Κ1+Μ | Π3+Μ<br>Κ1+Μ | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 9.                | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Μ<br>Κ1+Μ | Π3+Μ<br>Κ1+Μ | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 10                | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Μ<br>Κ1+Μ | Π3+Μ<br>Κ1+Μ | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 11                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ1+Υ | Π3+Υ<br>Κ1+Υ | 5       | 3       | 2       | 2       | 12 |
| 12                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 13                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ1+Υ | Π3+Υ<br>Κ1+Υ | 5       | 3       | 2       | 2       | 12 |
| 14                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 15                | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 16                | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | Π3+Υ<br>Κ3+Υ | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 17                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 18                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 19                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 20                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 21                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π1+Χ<br>ΚΟ   | Π1+Χ<br>ΚΟ   | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 22                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π1+Χ<br>ΚΟ   | Π1+Χ<br>ΚΟ   | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 23                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π1+Χ<br>ΚΟ   | Π1+Χ<br>ΚΟ   | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 24                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π1+Χ<br>ΚΟ   | Π1+Χ<br>ΚΟ   | 5       | 3       | 3       | 3       | 14 |
| 25                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 4       | 3       | 2       | 2       | 11 |
| 26                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 4       | 3       | 2       | 2       | 11 |
| 27                | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | Π3+Υ<br>Κ2+Υ | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 4       | 3       | 2       | 2       | 11 |

|    |              |              |              |              |              |              |   |   |   |   |    |
|----|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---|---|---|---|----|
| 28 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 4 | 3 | 2 | 2 | 11 |
| 29 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 4 | 3 | 3 | 3 | 13 |
| 30 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 4 | 3 | 3 | 3 | 13 |
| 31 | Π3+Y<br>Κ3+Y | Π3+Y<br>Κ3+Y | Π3+Y<br>Κ3+Y | Π3+Y<br>Κ3+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 4 | 3 | 3 | 3 | 13 |
| 32 | Π3+Y<br>Κ3+Y | Π3+Y<br>Κ3+Y | Π3+Y<br>Κ3+Y | Π3+Y<br>Κ3+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 4 | 3 | 3 | 3 | 13 |
| 33 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 4 | 3 | 3 | 3 | 13 |
| 34 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 4 | 3 | 3 | 3 | 13 |
| 35 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 4 | 3 | 3 | 3 | 13 |
| 36 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 4 | 3 | 3 | 3 | 13 |
| 37 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ1+Y | Π3+Y<br>Κ1+Y | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 38 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ1+Y | Π3+Y<br>Κ1+Y | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 39 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+M<br>Κ1+M | Π3+M<br>Κ1+M | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 40 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+M<br>Κ1+M | Π3+M<br>Κ1+M | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 41 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 42 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 43 | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π1+X<br>ΚΟ   | Π1+X<br>ΚΟ   | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 44 | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π1+X<br>ΚΟ   | Π1+X<br>ΚΟ   | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 45 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 46 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 47 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 48 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 49 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 50 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 51 | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 52 | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | Π2+Y<br>Κ1+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 53 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 54 | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | Π3+Y<br>Κ2+Y | ΠΟ<br>ΚΟ     | ΠΟ<br>ΚΟ     | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 55 | Π3+Y<br>Κ3+Y | Π3+Y<br>Κ3+Y | Π3+Y<br>Κ3+Y | Π3+Y<br>Κ3+Y | Π3+Y<br>Κ1+Y | Π3+Y<br>Κ1+Y | 5 | 3 | 3 | 3 | 14 |
| 56 | Π3+Y<br>Κ3+Y | Π3+Y<br>Κ3+Y | Π3+Y<br>Κ3+Y | Π3+Y<br>Κ3+Y | Π3+Y<br>Κ1+Y | Π3+Y<br>Κ1+Y | 5 | 3 | 3 | 3 | 14 |



#### ΕΠΕΞΗΓΗΣΕΙΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ ΠΙΝΑΚΑ

O-GlcNAc : N-Ακετυλογλυκοζαμίνη συνδεδεμένη με το οξυγόνο του υδροξυλίου των αμινοξέων σερίνης και θρεονίνης των πολυπεπτιδίων

OGT : Το ένζυμο που προσθέτει την O-N-Ακετυλογλυκοζαμίνη στα πολυπεπτίδια

OGA : Το ένζυμο που αφαιρεί την O-N-Ακετυλογλυκοζαμίνη από τα πολυπεπτίδια

ΣΚΠ : Σκορ Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού

ΣΔΑ : Σκορ Δομικών Αλλοιώσεων

ΣΚΑ : Σκορ Κοκκιωδών Αλλοιώσεων

ΣΒΕ : Σκορ Βλεννώδους Εκφύλισης

ΣΣ : Συνολικό Σκορ

Π : Πυρηνική χρώση

Κ : Κυτταροπλασματική Χρώση

Ο : Αρνητική χρώση

1+ : Ασθενής χρώση

2+ : Μέτρια χρώση

3+ : Έντονη χρώση

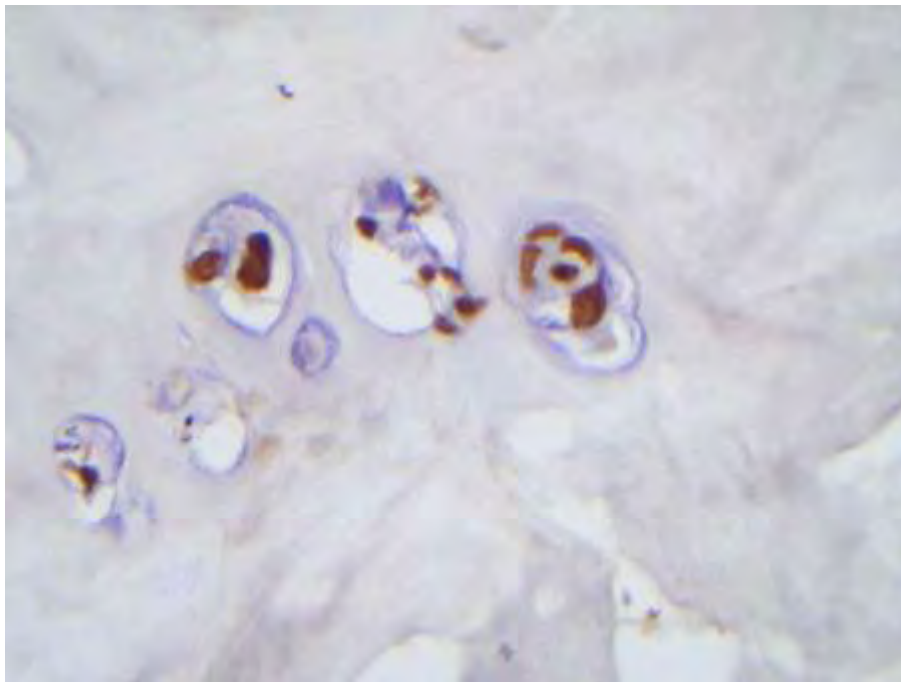
Υ : Αναλογία βαμμένων κυττάρων > 75%

Μ : Αναλογία βαμμένων κυττάρων 25-75%

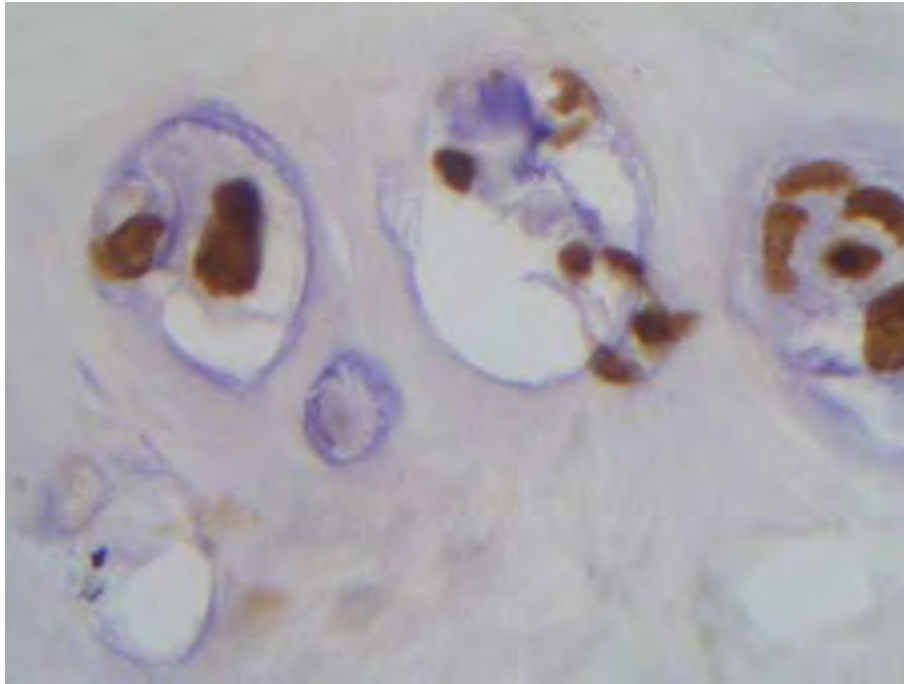
Χ : Αναλογία βαμμένων κυττάρων < 25%

ΜΟΚ : Μονήρη Κύτταρα

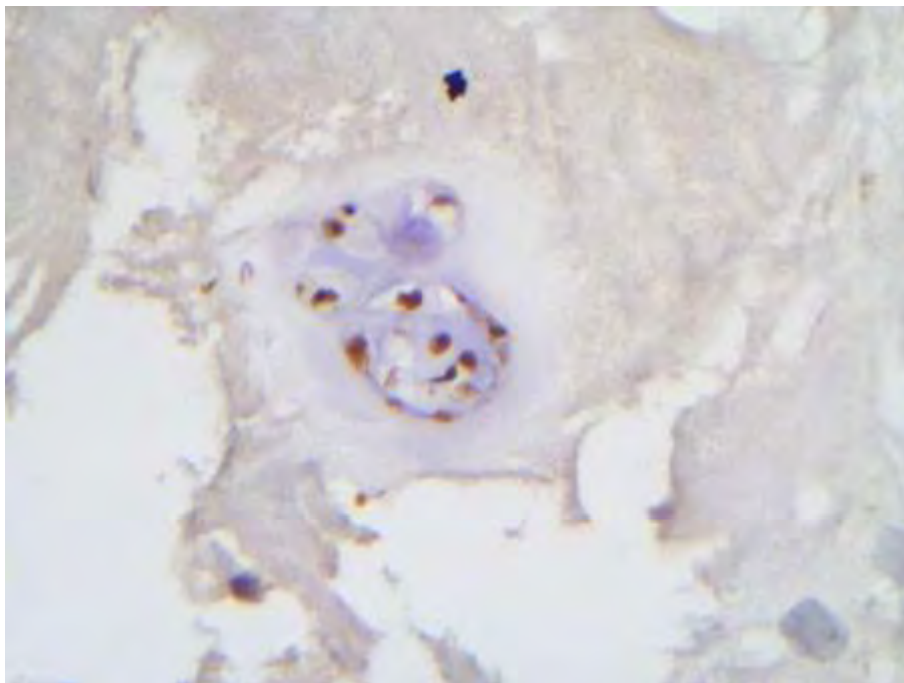
ΟΜΚ : Ομαδοποιημένα Κύτταρα.



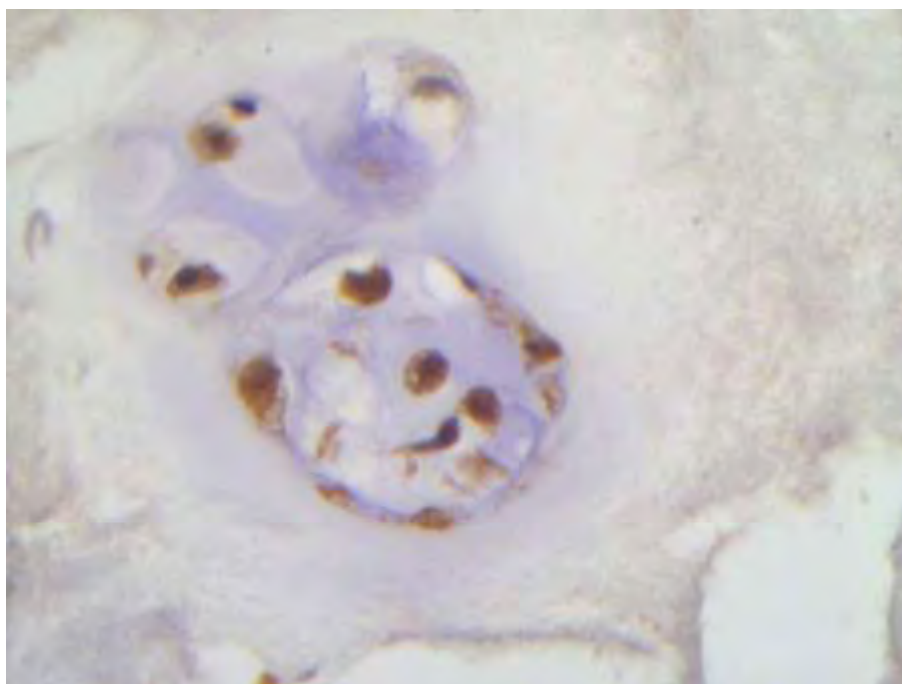
Εικόνα 1. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Ομάδες κυττάρων. Ανοσοϊστοχημική χρώση για την O-N-ακετυλογλυκοζαμίνη με το αντίσωμα RL2. Έντονη κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση. Μεγέθυνση: x200



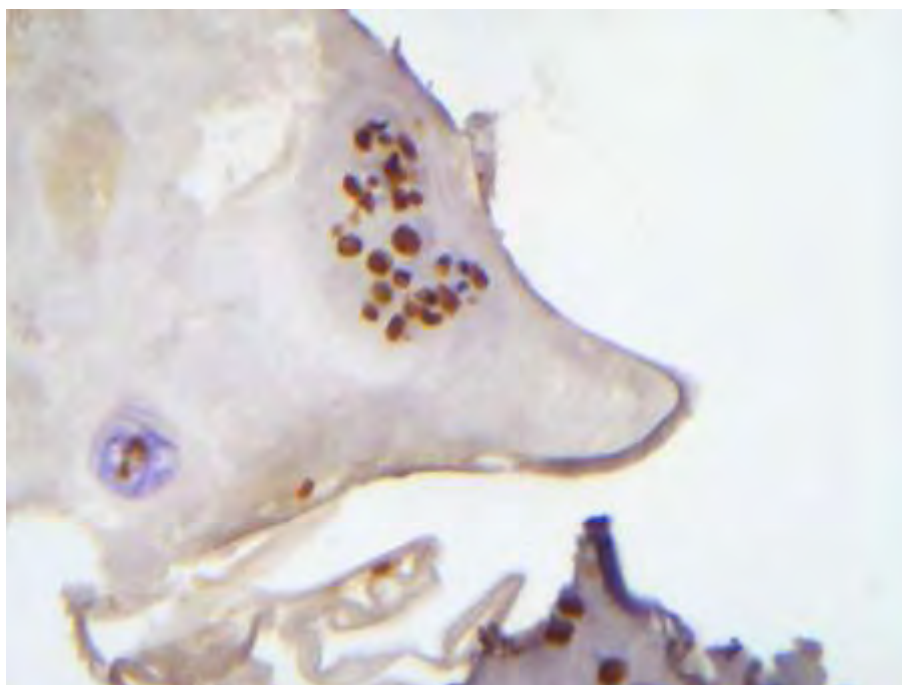
Εικόνα 2. Μεγαλύτερη μεγέθυνση της Εικόνας 1. Μεγέθυνση: x400



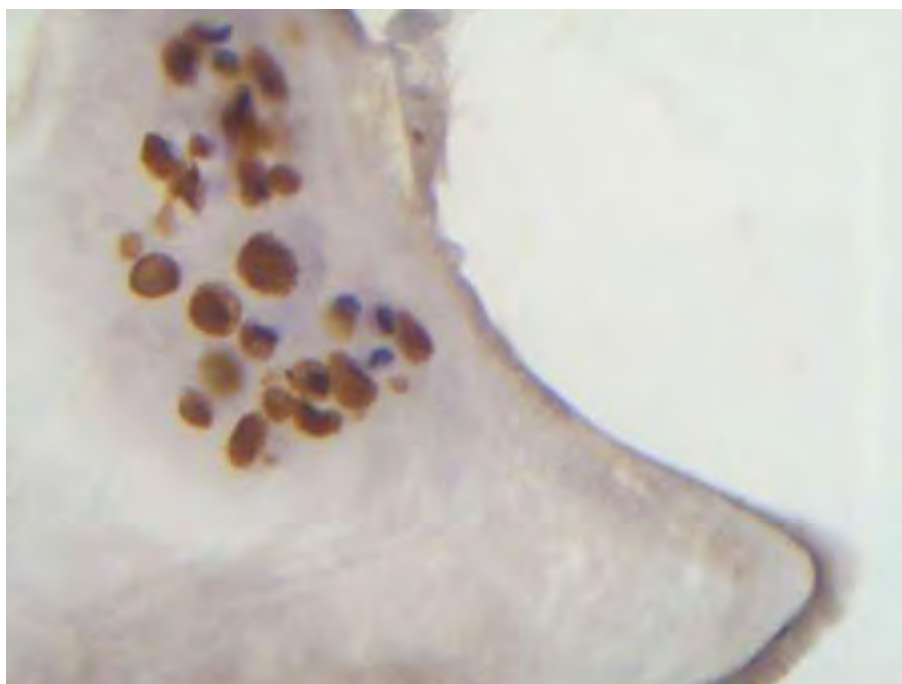
Εικόνα 3. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Ομάδες κυττάρων. Ανοσοϊστοχημική χρώση για την O-N-ακετυλογλυκοζαμίνη με το αντίσωμα RL2. Έντονη κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση. Μεγέθυνση: x200



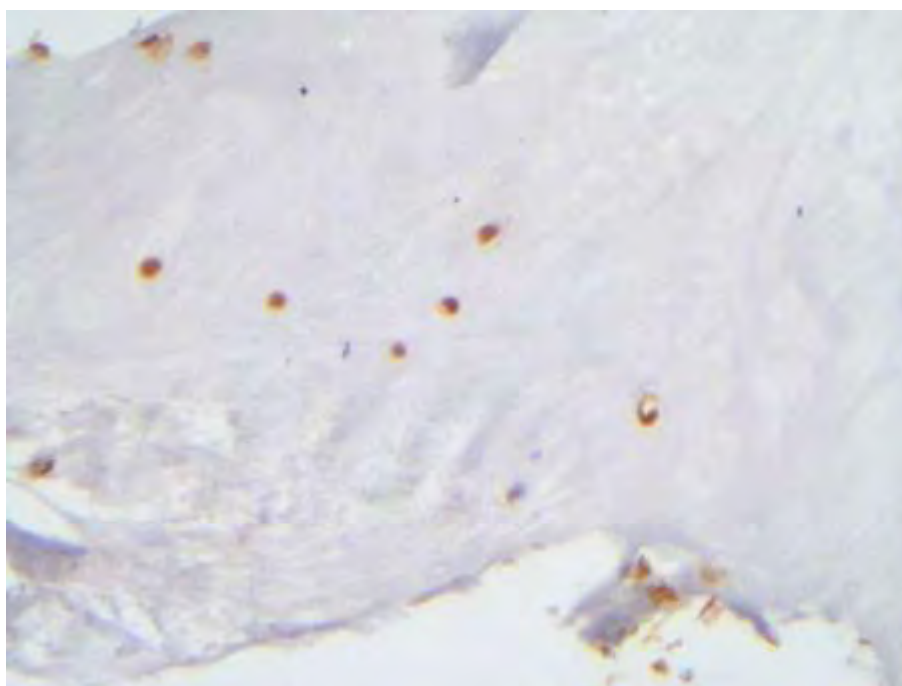
Εικόνα 4. Μεγαλύτερη μεγέθυνση της Εικόνας 3. Μεγέθυνση: x400



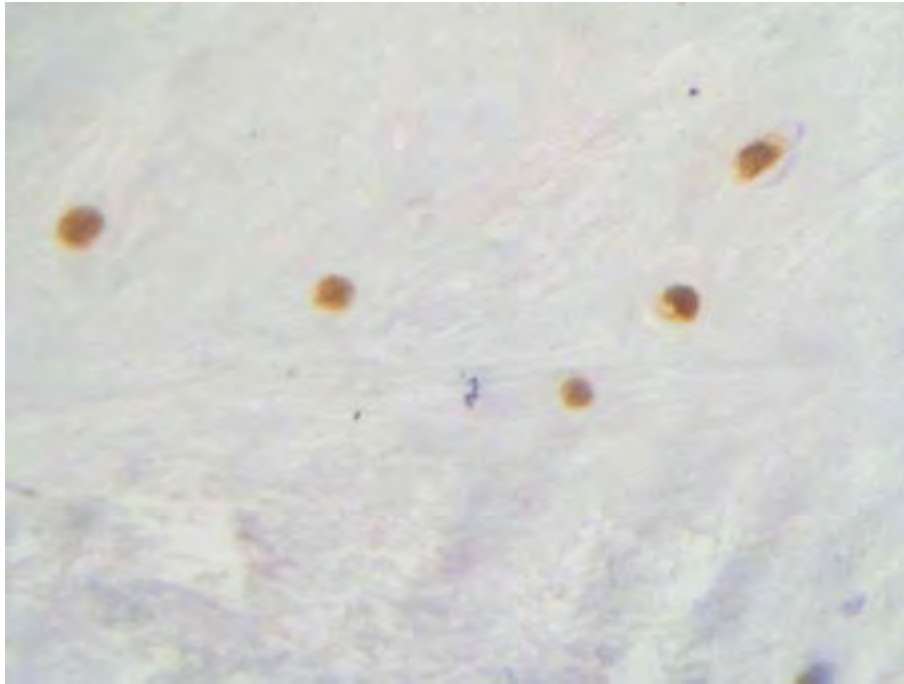
Εικόνα 5. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Ομάδες κυττάρων. Ανοσοϊστοχημική χρώση για την O-N-ακετυλογλυκοζαμίνη με το αντίσωμα RL2. Έντονη κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση. Μεγέθυνση: x200



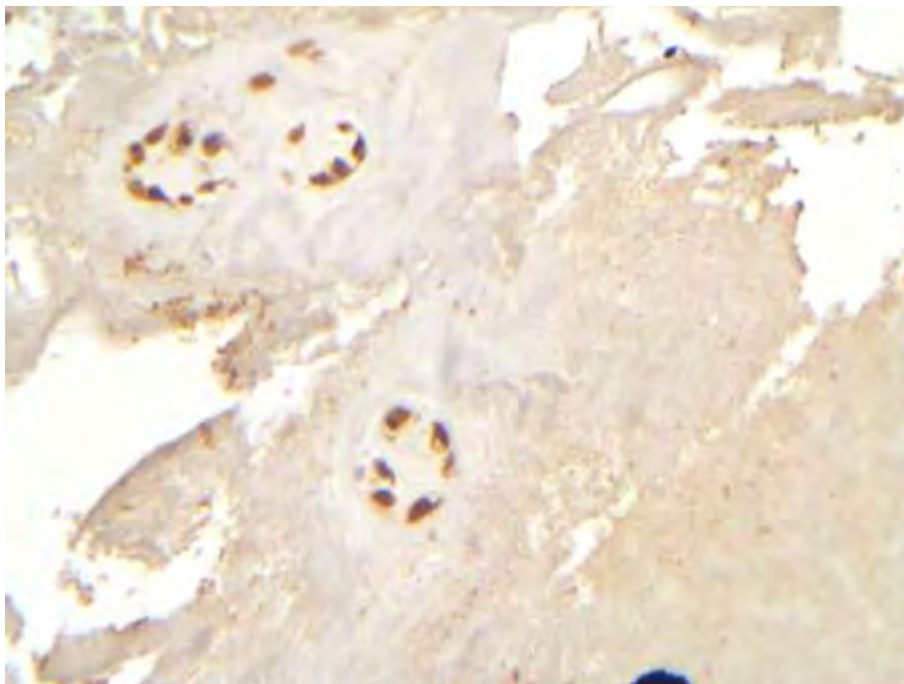
Εικόνα 6. Μεγαλύτερη μεγέθυνση της Εικόνας 5. Μεγέθυνση: x400



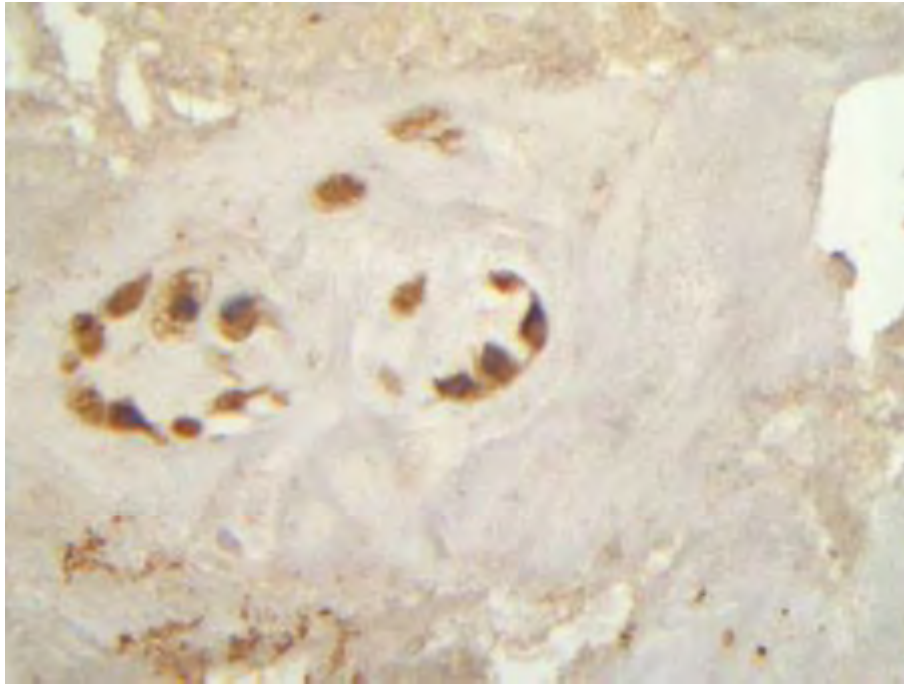
Εικόνα 7. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Μεμονωμένα κύτταρα από παρακείμενες περιοχές του ίδιου ιστολογικού παρασκευάσματος των προηγούμενων εικόνων. Ανοσοϊστοχημική χρώση για την O-N-ακετυλογλυκοζαμίνη με το αντίσωμα RL2. Έντονη κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση. Μεγέθυνση: x200



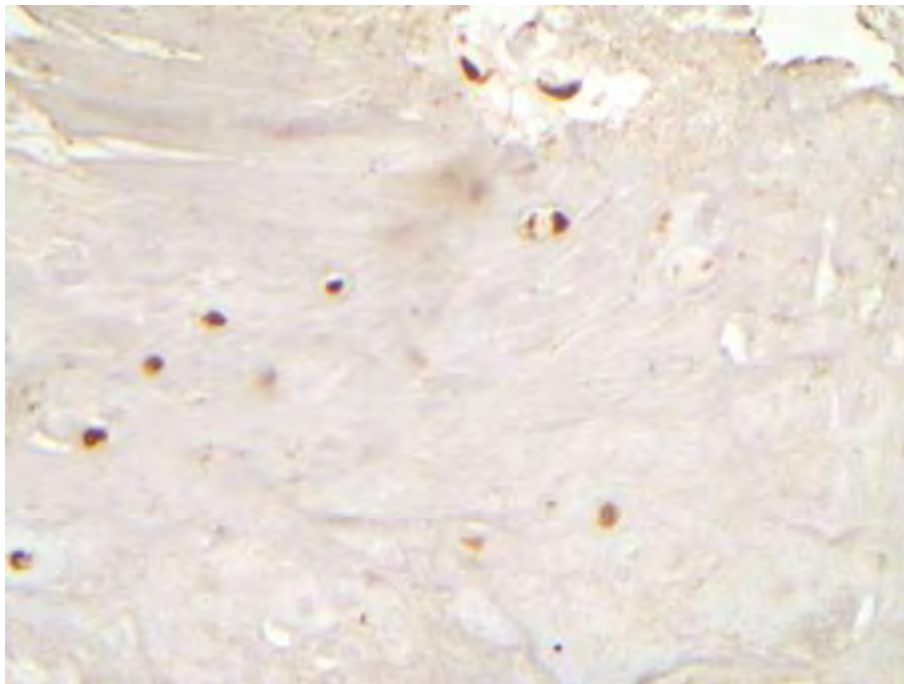
Εικόνα 8. Μεγαλύτερη μεγέθυνση της Εικόνας 7. Μεγέθυνση: x400



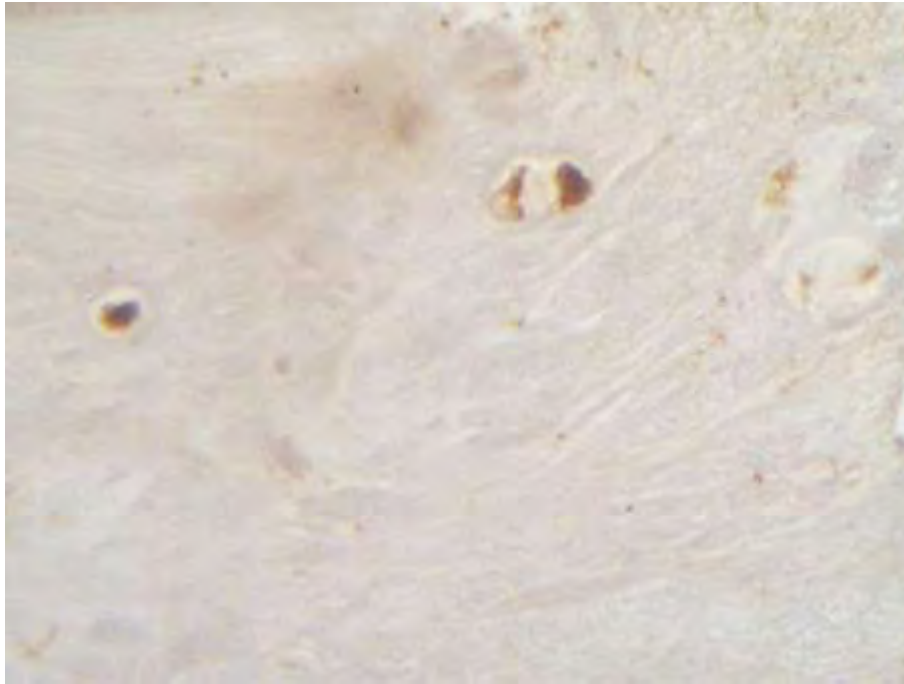
Εικόνα 9. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Ομάδες κυττάρων. Ανοσοϊστοχημική χρώση για το ένζυμο της μεταφοράς της Ο-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGT). Έντονη κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση. Μεγέθυνση: x200



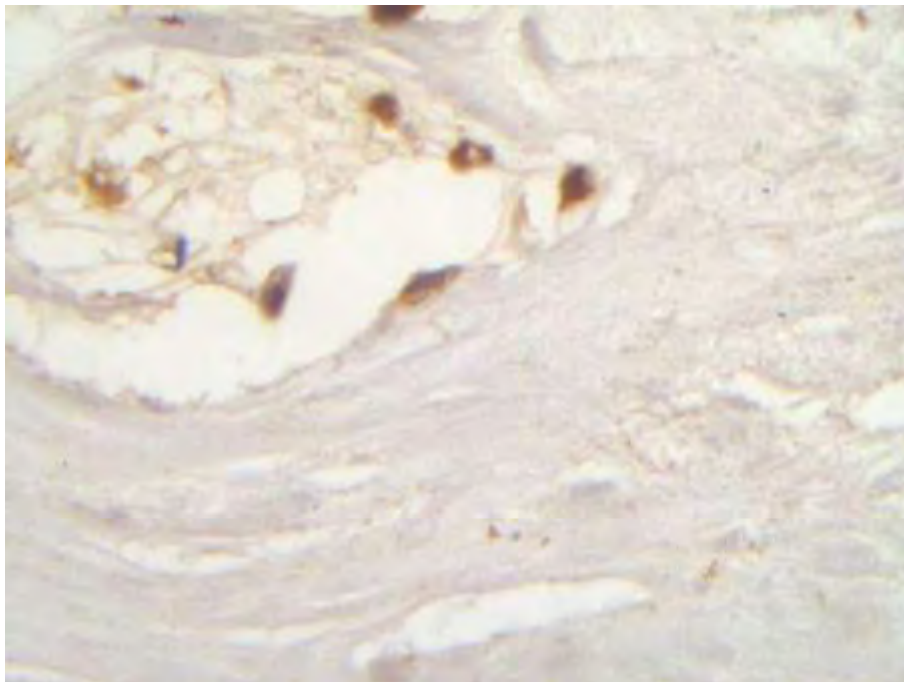
Εικόνα 10. Μεγαλύτερη μεγέθυνση της Εικόνας 9. Μεγέθυνση: x400



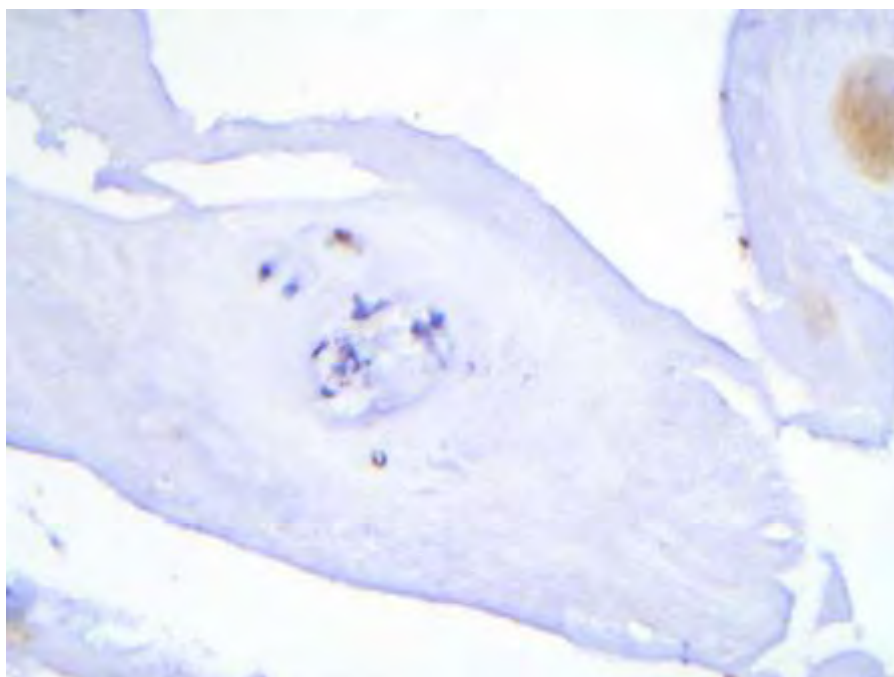
Εικόνα 11. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Μεμονωμένα κύτταρα από παρακείμενες περιοχές του ίδιου ιστολογικού παρασκευάσματος των εικόνων 9 και 10. Ανοσοϊστοχημική χρώση για το ένζυμο της μεταφοράς της O-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGT). Έντονη κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση. Μεγέθυνση: x200



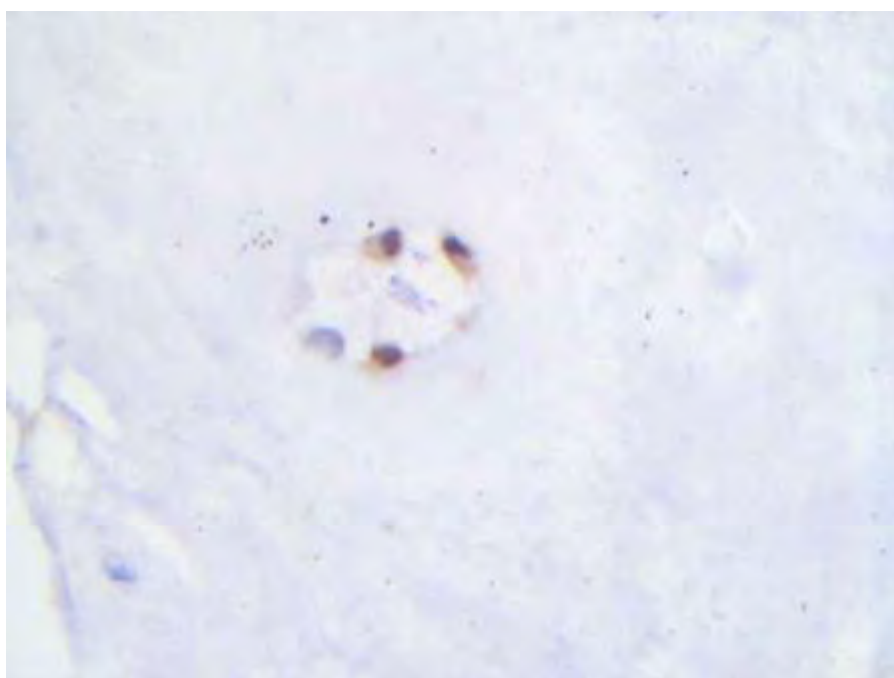
Εικόνα 12. Μεγαλύτερη μεγέθυνση της Εικόνας 11. Μεγέθυνση: x400



Εικόνα 13. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Ομάδα κυττάρων. Ανοσοϊστοχημική χρώση για το ένζυμο της μεταφοράς της O-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGT). Έντονη κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση. Μεγέθυνση: x400

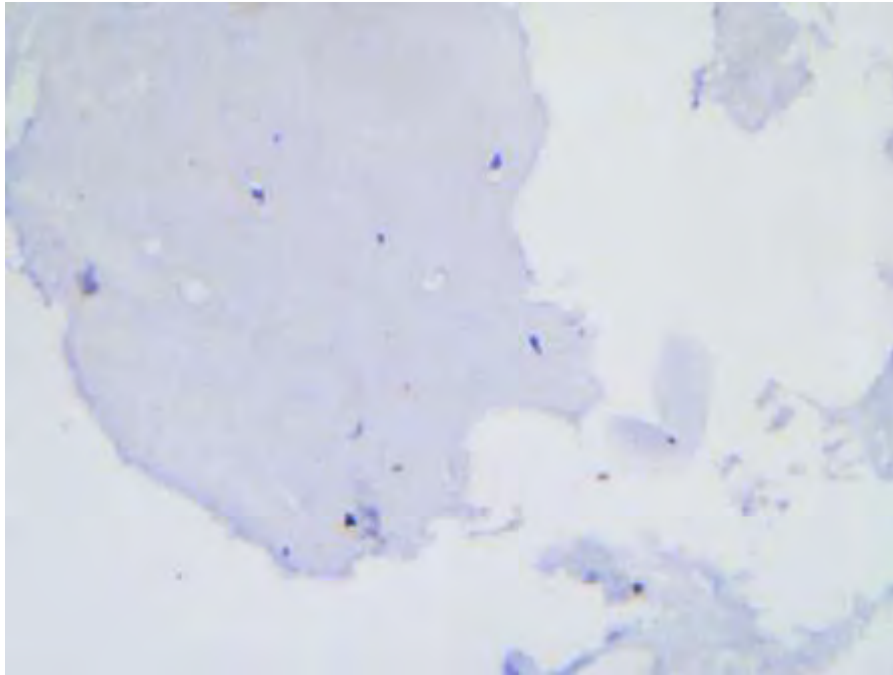


Εικόνα 14. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Ανοσοϊστοχημική χρώση για το ένζυμο της αφαίρεσης της O-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGA). Ομάδα κυττάρων με τα περισσότερα κύτταρα να είναι αρνητικά. Μεγέθυνση: x200

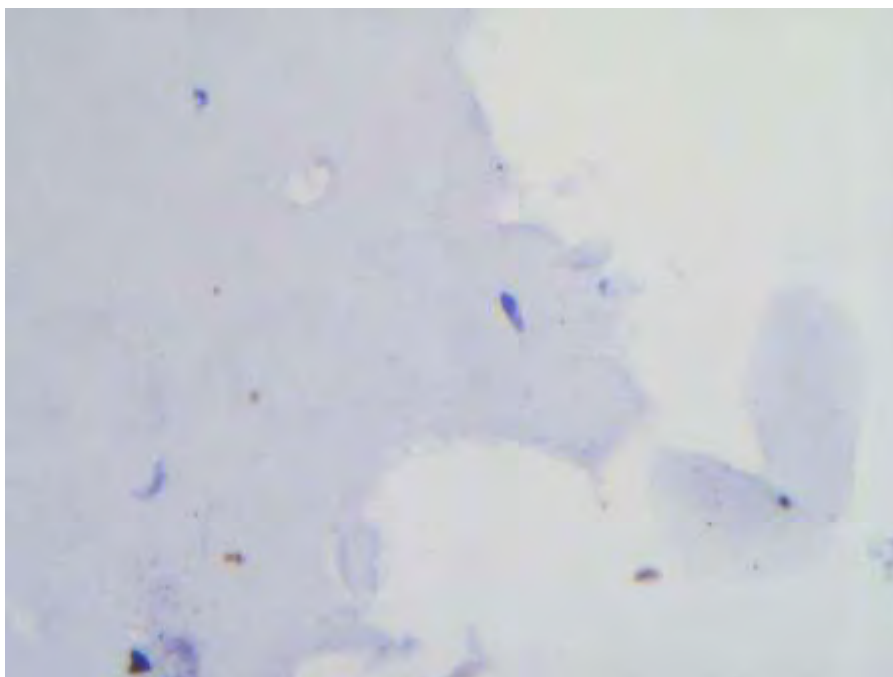


Εικόνα 15. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Ανοσοϊστοχημική χρώση για το ένζυμο της αφαίρεσης της O-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGA). Ομάδα κυττάρων με θετική πυρηνική και ασθενή κυτταροπλασματική χρώση. Μεγέθυνση: x400

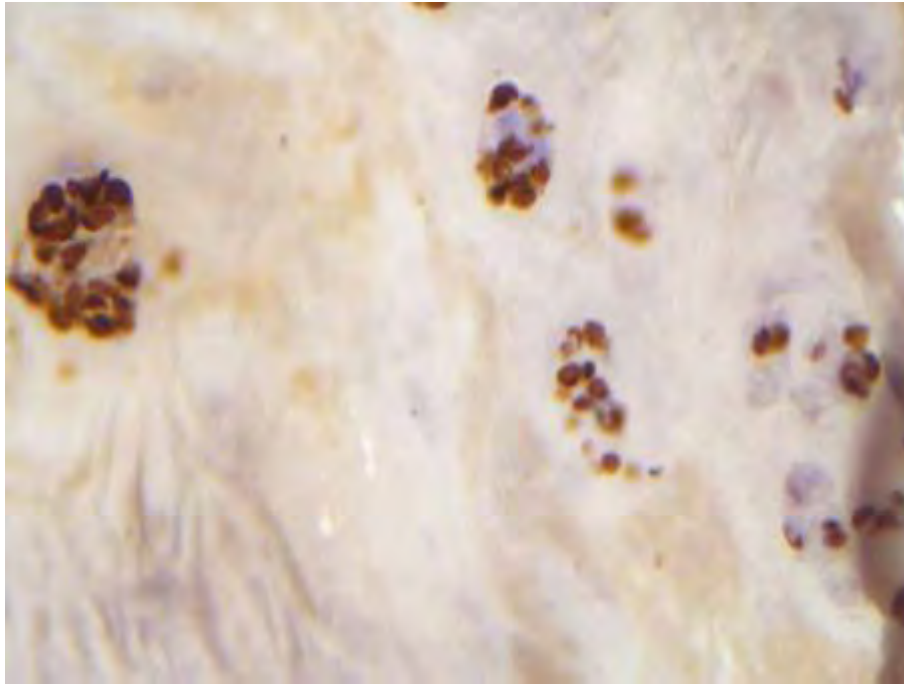




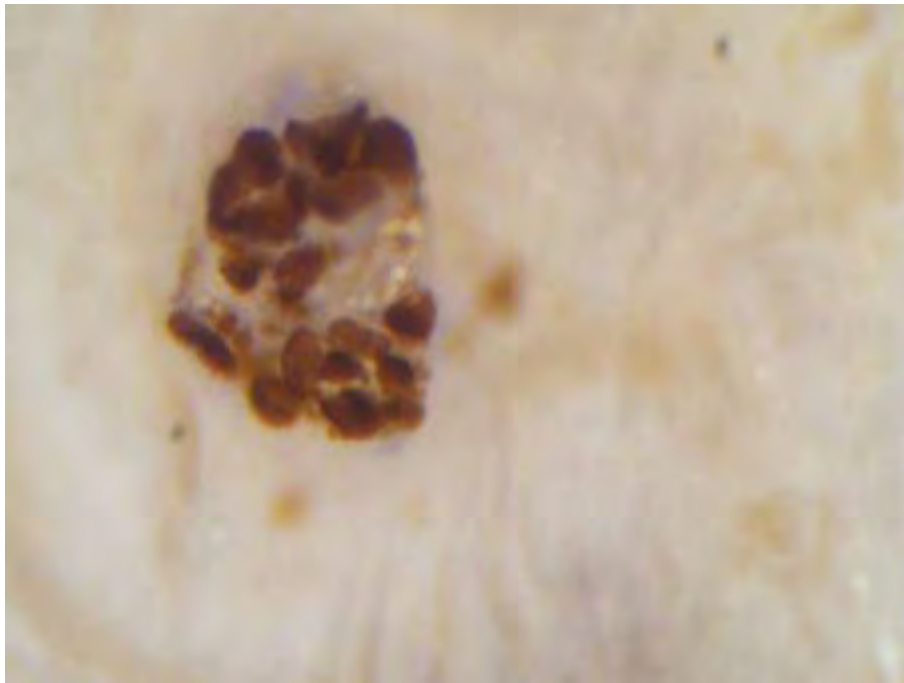
Εικόνα 16. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Ανοσοϊστοχημική χρώση για το ένζυμο της αφαίρεσης της O-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGA). Μεμονωμένα κύτταρα με αρνητική χρώση από παρακείμενες περιοχές του ίδιου ιστολογικού παρασκευάσματος των εικόνων 14 και 15. Μεγέθυνση: x200



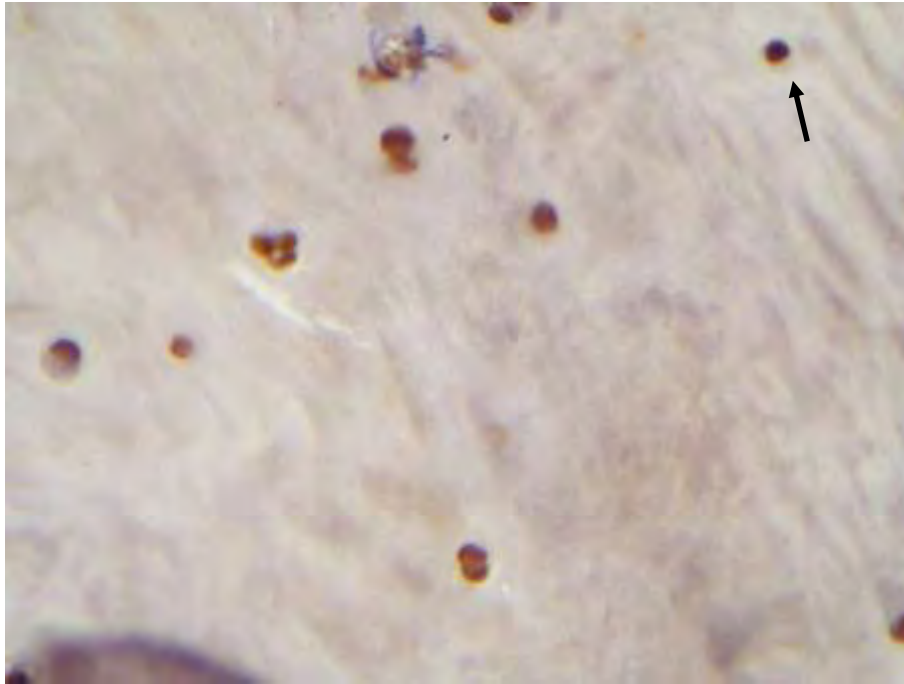
Εικόνα 17. Μεγαλύτερη μεγέθυνση της Εικόνας 16. Μεγέθυνση: x400.



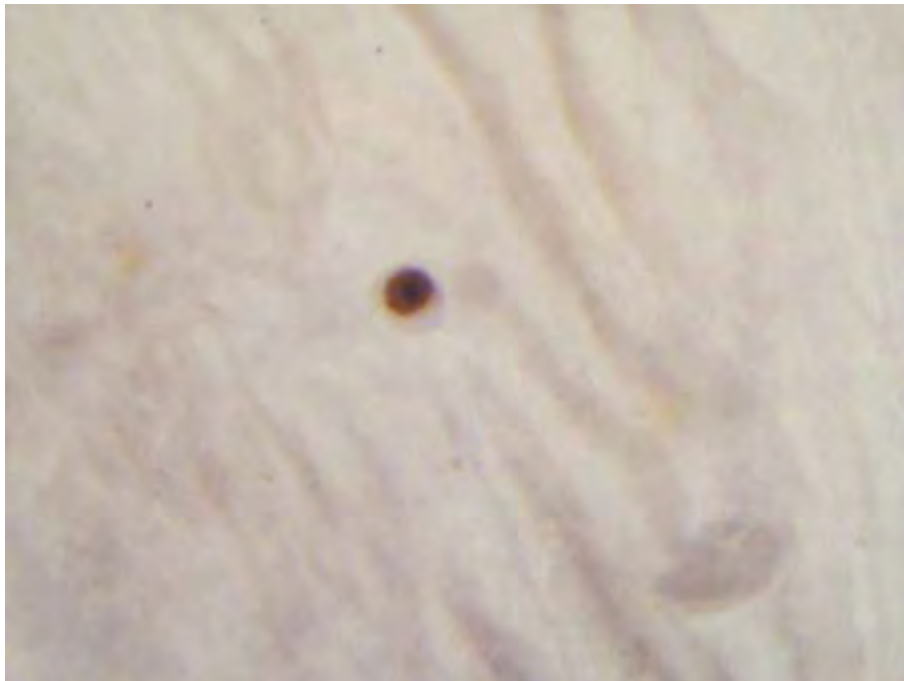
Εικόνα 18. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου από διαφορετική περίπτωση. Ομάδες κυττάρων. Ανοσοϊστοχημική χρώση για την O-N-ακετυλογλυκοζαμίνη με το αντίσωμα RL2. Έντονη κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση. Μεγέθυνση: x200



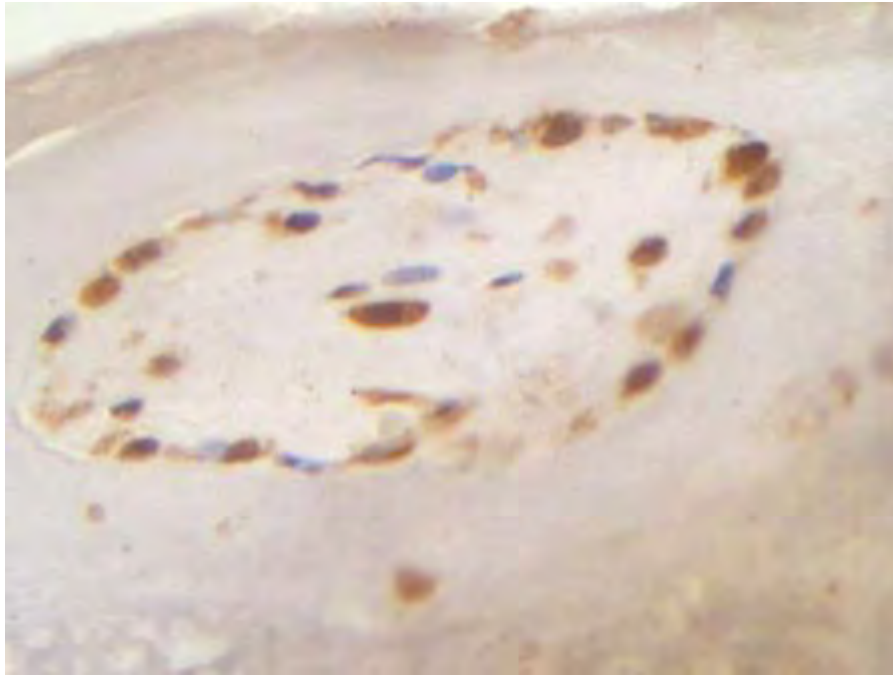
Εικόνα 19. Μεγαλύτερη μεγέθυνση της Εικόνας 18. Μεγέθυνση: x400



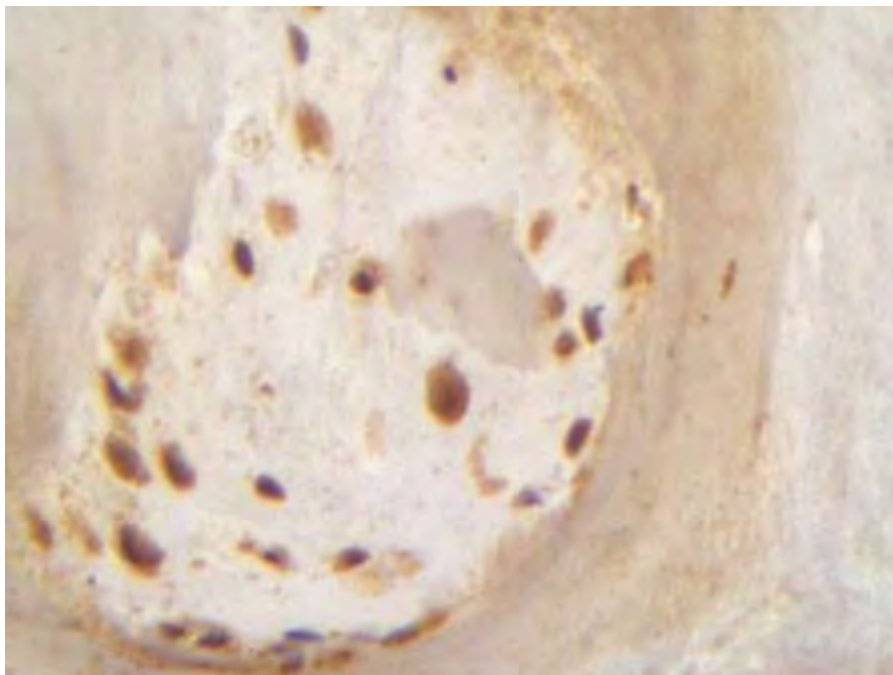
Εικόνα 20. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Μεμονωμένα κύτταρα κυρίως από παρακείμενη περιοχή του ίδιου ιστολογικού παρασκευάσματος της Εικόνας 18. Ανοσοϊστοχημική χρώση για την O-N-ακετυλογλυκοζαμίνη με το αντίσωμα RL2. Έντονη κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση. Μεγέθυνση: x200



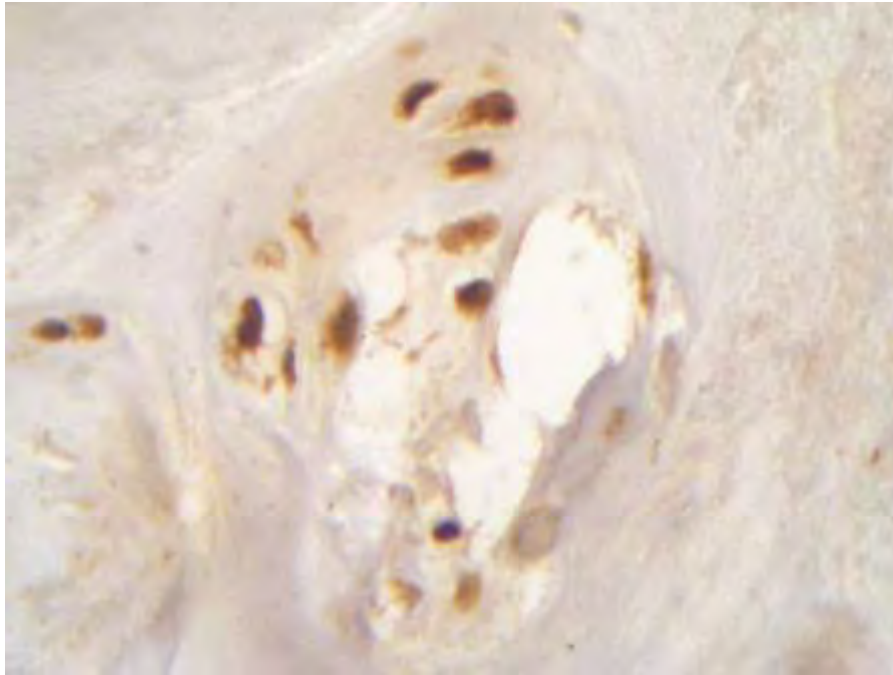
Εικόνα 21. Μεγαλύτερη μεγέθυνση της Εικόνας 20. Κύτταρο που δείχνεται με βέλος. Μεγέθυνση x400



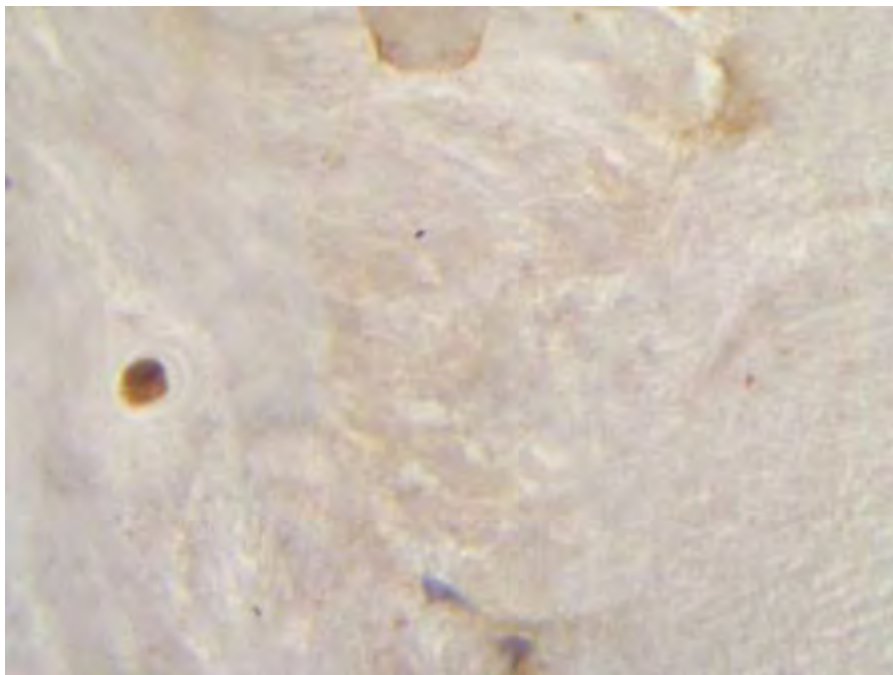
Εικόνα 22. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Ομάδα κυττάρων. Ανοσοϊστοχημική χρώση για το ένζυμο της μεταφοράς της Ο-Ν-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGT). Έντονη κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση στην πλειοψηφία των κυττάρων. Μεγέθυνση: x400



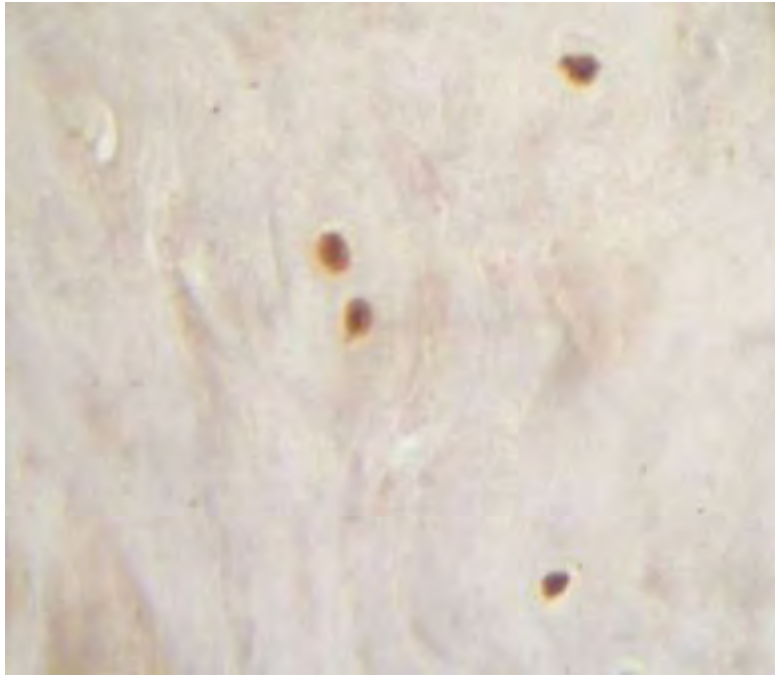
Εικόνα 23. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Ομάδα κυττάρων από παρακείμενη θέση του ίδιου ιστολογικού παρασκευάσματος της Εικόνας 22. Ανοσοϊστοχημική χρώση για το ένζυμο της μεταφοράς της Ο-Ν-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGT). Έντονη κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση. Μεγέθυνση: x400



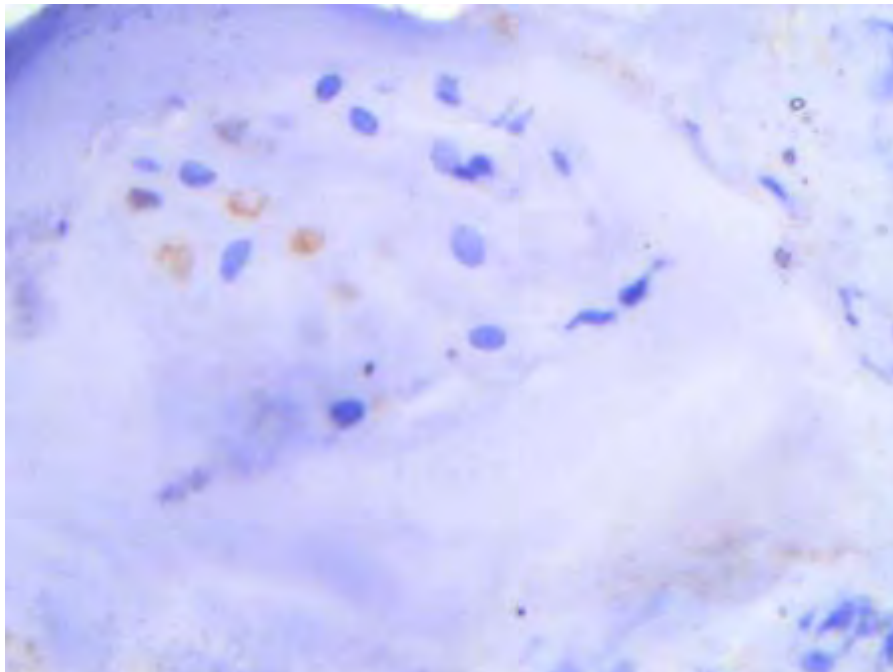
Εικόνα 24. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Ομάδα κυττάρων από παρακείμενη θέση του ίδιου ιστολογικού παρασκευάσματος της Εικόνας 22. Ανοσοϊστοχημική χρώση για το ένζυμο της μεταφοράς της O-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGT). Έντονη κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση. Μεγέθυνση: x400



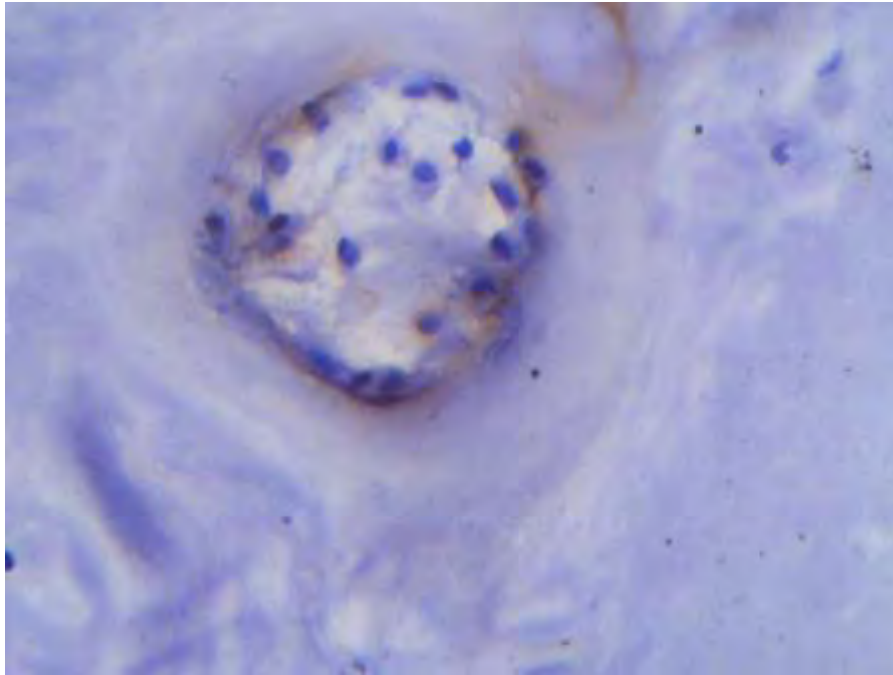
Εικόνα 25. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Μεμονωμένο κύτταρο από παρακείμενη περιοχή του ίδιου ιστολογικού παρασκευάσματος της Εικόνας 22. Ανοσοϊστοχημική χρώση για το ένζυμο της μεταφοράς της O-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGT). Έντονη κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση. Μεγέθυνση: x400



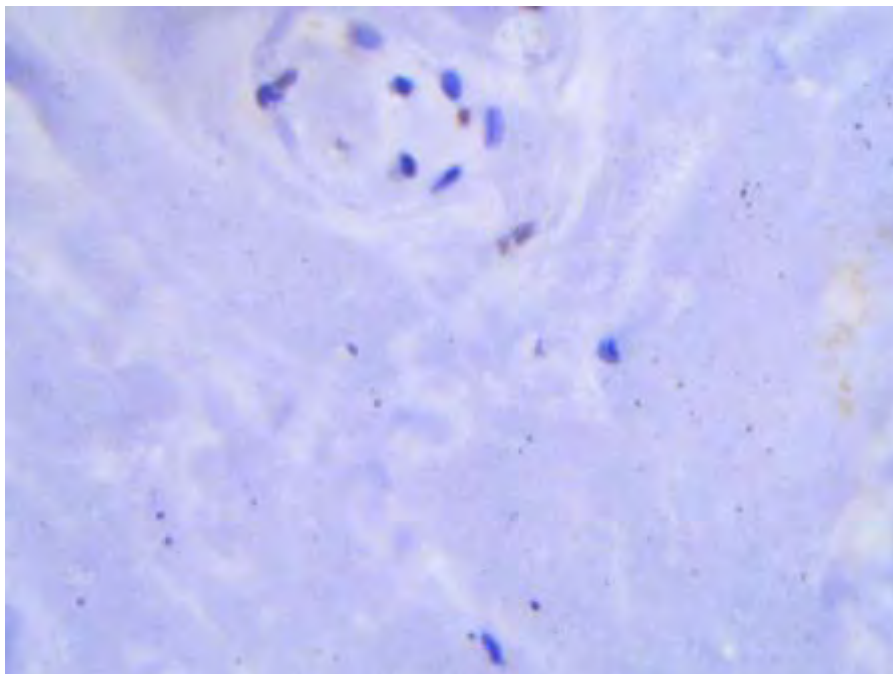
Εικόνα 26. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Μεμονωμένα κύτταρα από παρακείμενη περιοχή του ίδιου ιστολογικού παρασκευάσματος της Εικόνας 22. Ανοσοϊστοχημική χρώση για το ένζυμο της τρανσφεράσης της O-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGT). Έντονη κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση. Μεγέθυνση: x400



Εικόνα 27. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Ίδια περίπτωση εικόνας 18. Ανοσοϊστοχημική χρώση για το ένζυμο της αφαίρεσης της O-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGA). Ομάδα κυττάρων με τη συντριπτική πλειοψηφία να είναι αρνητικά. Μεγέθυνση: x400



Εικόνα 28. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Ανοσοϊστοχημική χρώση για το ένζυμο της αφαίρεσης της O-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGA). Ομάδα κυττάρων από παρακείμενη περιοχή της εικόνας 27 με αρνητική χρώση τα περισσότερα και λίγα με κυτταροπλασματική χρώση . Μεγέθυνση: x400



Εικόνα 29. Ιστός κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου. Ανοσοϊστοχημική χρώση για το ένζυμο της αφαίρεσης της O-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (OGA). Ομάδα κυττάρων και μεμονωμένα κύτταρα από παρακείμενη περιοχή της εικόνας 27 με αρνητική χρώση. Μεγέθυνση: x400

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι μεσοσπονδύλιοι δίσκοι αποτελούν τα μεγαλύτερα σε μέγεθος ανατομικά στοιχεία του ανθρώπινου σώματος που στερούνται αγγείων. Η τροφοδοσία τους σε θρεπτικά συστατικά και οξυγόνο και η απαλλαγή τους από τα άχρηστα προϊόντα του μεταβολισμού γίνεται μέσω διάχυσης από και προς τα τριχοειδή αιμοφόρα αγγεία των παρακείμενων προς τους μεσοσπονδύλιους δομών, όπως των σπονδυλικών σωμάτων και των συνδέσμων της σπονδυλικής στήλης(15). Επομένως τα κύτταρα των μεσοσπονδύλιων δίσκων βρίσκονται μέσα σε ένα ευπαθές περιβάλλον όσον αφορά την τροφοδοσία τους και την αναπνοή τους. Έτσι εύκολα μπορεί να βρεθούν σε καταστάσεις υποξίας, οι οποίες επιτείνονται με την σωματική άσκηση. Η ευκόλως δημιουργούμενη κατάσταση υποξίας των κυττάρων του μεσοσπονδύλιου δίσκου, οδηγεί στην αύξηση του ενδοκυττάριου pH, που αν υπερβεί ορισμένα όρια αντοχής οδηγεί στον θάνατο των κυττάρων του μεσοσπονδύλιου δίσκου είτε μέσω του μηχανισμού της νέκρωσης ή του μηχανισμού της απόπτωσης (20) (21).

Η υποξία και η αύξηση του pH αποτελούν καταστάσεις κυτταρικού στρες(195). Τα χονδροκύτταρα κάτω από καταστάσεις στρες in vivo, ερεθιζόμενα πολλαπλασιάζονται και υπερτρέφονται. Έτσι ενώ τα κύτταρα του φυσιολογικού μεσοσπονδύλιου δίσκου απαντούν μονήρη, τα κύτταρα των μεσοσπονδύλιων δίσκων με εκφύλιση, πολλαπλασιάζονται κάτω από συνθήκες στρες, δημιουργούν ομάδες κυττάρων(18)(19) και προφανώς η κάθε ομάδα προέρχεται από ένα κοινό πρόγονο που είχε στρεσαριστεί αρχικά.

Ο πολλαπλασιασμός των χονδροκυττάρων κάτω από καταστάσεις κυτταρικού στρες έχει αποδειχθεί και για τα χονδροκύτταρα του υαλοειδούς χόνδρου των διαρθρώσεων σε περιπτώσεις εκφυλιστικής οστεοαρθρίτιδας.

Η γλυκοζυλίωση των πολυπεπτιδίων και των πρωτεϊνών με το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη στις ρίζες του υδροξυλίου των αμινοξέων σερίνης και θρεονίνης, ανακαλύφθηκε το 1984 από τους Torres και Hart (186) και αποτελεί μια μεταμεταφραστική τροποποίηση που απαντάται σε πλήθος πρωτεϊνών που παίρνουν μέρος σε ποικίλες βιολογικές εξεργασίες όπως στον κυτταρικό κύκλο, στην αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών και στον εντοπισμό τους στα διάφορα κυτταρικά διαμερίσματα, στην αποδόμηση των πρωτεϊνών(187)(188)(189). Έτσι σπουδαίες κυτταρικές και γενικά βιολογικές εξεργασίες επηρεάζονται από την γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών με το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη που αναφέρεται διεθνώς σε συντομογραφία ως O-GlcNAc, όπως η καρκινογένεση, ο σακχαρώδης διαβήτης(191), τα καρδιαγγειακά νοσήματα και οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες (194). Η O-GlcNAc παίζει σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση του στρες από τα κύτταρα(195). Ως απάντηση σε πολλές μορφές κυτταρικού στρες τα κύτταρα αυξάνουν την πρόσληψη γλυκόζης(195). Αρκετές μελέτες έχουν συσχετίσει την αύξηση στη μεταφορά της γλυκόζης με αυξημένη αντοχή στο στρες. Η προστασία του κυττάρου έχει αποδοθεί στην διατήρηση των επιπέδων ATP, του δυναμικού των μιτοχονδριακών μεμβρανών καθώς και στην σταθεροποίηση της αναγωγικής κατάστασης. Η υπογλυκαιμία μπορεί να επάγει τον επαγόμενο από την υποξία παράγοντα, σταθεροποιώντας το p53, οδηγώντας στην ενεργοποίηση της μεσολαβούμενης από το p53 απόπτωσης. Σε ορισμένες περιπτώσεις, ο αποκλεισμός της γλυκόλυσης δεν είχε καμία επίδραση στη μεσολαβούμενη από τη γλυκόζη προστασία του κυττάρου, ενώ ο αποκλεισμός της HBP καταστρέφει τη μεσολαβούμενη από τη γλυκόζη κυτταρική προστασία(195).

Σε προ-διαβητικά μοντέλα υπεργλυκαιμίας, ο χειρισμός ασβεστίου από τα καρδιακά μυϊκά κύτταρα μεταβάλλεται κατά τρόπο εξαρτώμενο από το HBP, κάτι που προστατεύει από τις βλάβες απαναιμάτωσης. Ως απάντηση στους αγωνιστές IP3,



συμπεριλαμβανομένης της φαινυλεφρίνης, της θαψιγαργίνης και της αγγειοτασίνης, παρατηρείται μειωμένη είσοδος ασβεστίου όταν είναι αυξημένα τα εξωκυττάρια επίπεδα γλυκόζης και γλυκοζαμίνης. Αυτό μπορεί να ανασταλεί με αναστολείς της HBP. Σε πιο άμεσες μελέτες έχει φανεί ότι η PUGNAc μπορεί επίσης να μειώσει την είσοδο ασβεστίου στα κύτταρα, κάτι που υποδηλώνει πως η O-GlcNAc δεν είναι ρυθμιστής της γλυκόζης σε αυτό το σύστημα.

Πρόσφατα έχει δειχτεί ότι σε πολλές μορφές κυτταρικού στρες αυξάνουν ταχέως και δυναμικά τα επίπεδα O-GlcNAc σε πολλές κυτταρικές σειρές των θηλαστικών(195). Ιδιαίτερα, η αύξηση των επιπέδων O-GlcNAc είτε μέσω της αναστολής της OGA, είτε μέσω υπερέκφρασης της OGT στα κύτταρα τα έκανε πιο ανθεκτικά στη θερμότητα. Αντίθετα, η μείωση της O-GlcNAc μεταβάλλοντας τα επίπεδα OGT ή αποκλείοντας την HBP προκαλούσε ευαισθητοποίηση των κυττάρων στο στρες(195). Πρόσφατα, αποδείχθηκε ότι σε μοντέλα ολόκληρης καρδιάς, η θεραπεία με γλυκοζαμίνη προκαλούσε αύξηση των επιπέδων O-GlcNAc και πως η αύξηση αυτή εντατικοποιούσε τις επαγόμενες από το ασβέστιο βλάβες επαναιμάτωσης. Η θεραπεία με έναν ειδικό αναστολέα της OGT, την αλλοζάνη, εξαφάνιζε την επίδραση της γλυκοζαμίνης στην είσοδο του ασβεστίου.

Τα δεδομένα αυτά δεικνύουν ότι τα αυξημένα επίπεδα O-GlcNAc στους ιστούς είναι προστατευτικά, σε συμφωνία με άλλες παρατηρήσεις. Σε ολόκληρες καρδιές επίμυων που υποβλήθηκαν σε βλάβες από επαναιμάτωση τα επίπεδα O-GlcNAc ήταν αυξημένα, και πάλι σε συμφωνία με δεδομένα από άλλες κυτταρικές σειρές. Συνολικά, τα δεδομένα αυτά δεικνύουν ότι η O-GlcNAc είναι ένας σημαντικός μετα-μεταφραστικός ρυθμιστής, που χρησιμοποιείται από τα κύτταρα και από ολόκληρο τον οργανισμό ως μια ταχεία απάντηση στο στρες.

Οι μεταβολές στο O-GlcNAc μπορούν να είναι αποτέλεσμα της μεταβολής στην πρόσληψη γλυκόζης, ωστόσο πολλές παρατηρήσεις δεικνύουν ότι αυτή η σχέση ρυθμίζεται πιο δυναμικά. Αυτές περιλαμβάνουν :

1. τα επίπεδα της OGT είναι αυξημένα σε απάντηση σε ορισμένες μορφές στρες, όπως η ακτινοβολία UV, η αιθανόλη, το χλωριούχο νάτριο και το νατριούχο αρσενικό.
2. ως απάντηση στο θερμικό στρες, υπάρχει μια ταχεία αύξηση της OGT στο τριπλάσιο.
3. το αυξημένο φορτίο ελευθέρων ριζών αυξάνει την δραστηριότητα της GFAT και
4. η αυξημένη παραγωγή γλυκοζο-1-φωσφάτης και φρουκτοζο-6-φωσφάτης, δια της ενεργοποίησης της ανεξάρτητης από το AMP φωσφορυλάσης του γλυκογόνου(195).

Στον ασπέργιλλο και στον *Saccharomyces cerevisiae*, το στρες του κυτταρικού τοιχώματος προκαλεί σύνθεση και εναπόθεση χιτίνης. Στον ασπέργιλλο αυτό είναι αποτέλεσμα της αύξησης της GFAT, το οποίο υποδηλώνει ότι οι επαγόμενες από το στρες κυτταρικές αλλαγές στα επίπεδα UDP- GlcNAc είναι μια βασική απόκριση των οργανισμών που έχει εξελιχθεί από την ενίσχυση του κυτταρικού τοιχώματος στη ρύθμιση των επιπέδων O-GlcNAc των πρωτεϊνών.

Τα κύτταρα επάγουν την τροποποίηση της O-GlcNAc ως απάντηση σε πολλές μορφές κυτταρικού στρες, και αυτό φαίνεται πως έχει προστατευτική δράση στα κύτταρα.

Υπάρχουν αρκετοί πιθανοί μηχανισμοί μεσολαβούμενης από την O-GlcNAc ανοχής στο στρες:

1. Η τροποποίηση της O-GlcNAc προλαμβάνει το να γίνουν αδιάλυτες οι πρωτεΐνες ως απάντηση στο θερμικό στρες
2. η αύξηση και η μείωση των επιπέδων O-GlcNAc φάνηκε πως μεταβάλλει τα επίπεδα HsP40 & HsP70 και
3. η υπερέκφραση πρωτεϊνών θερμικού στρες καθιστά τα κύτταρα ανθεκτικά στο στρες (πρόσφατα η HsP70 αναγνωρίστηκε ως μια λεκτίνη του O-GlcNAc). Τα δεδομένα αυτά οδηγούν στην ενδιαφέρουσα ιδέα ότι η O-GlcNAc μπορεί να μεσολαβεί στις αλληλεπιδράσεις των μετουσιωμένων πρωτεϊνών με το HsP70 και
4. η O-GlcNAc έχει φανεί πως παίζει σημαντικό ρόλο στη διαχείριση του ασβεστίου, εδώ η O-GlcNAc μειώνει την είσοδο του ασβεστίου, και κατά συνέπεια ελαττώνει τη πιθανότητα δηλητηρίασης από ασβέστιο εντός του κυττάρου(195).

Έχουν περάσει 30 χρόνια από την ταυτοποίηση της O-GlcNAc και γνωρίζουμε τώρα ότι πρόκειται για μια ρυθμιστική τροποποίηση, πιο ανάλογη στην φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών (188) από την πρωτότυπη γλυκοζυλίωση, αυτή η απλή μετα-μεταφραστική τροποποίηση νευρώνει πολλαπλά σηματοδοτικά μονοπάτια και είναι βασική για τη ζωή(198). Η ευαισθησία των επιπέδων O-GlcNAc στις εξωκυττάρια συγκεντρώσεις γλυκόζης συντηρεί ένα μοντέλο, στο οποίο η O-GlcNAc παίζει ρόλο θρεπτικού ανιχνευτή(195), που ρυθμίζει την κυτταρική αύξηση σε σχέση με τα διαθέσιμα θρεπτικά στοιχεία, μεταβάλλοντας τη φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών(188), τα πρωτεώματα(196) και τη λειτουργία και τη θέση των πρωτεϊνών. Ενισχυτικές αυτής της θέσης είναι οι μελέτες που δείχνουν πως η μεταβολή των επιπέδων UDP-GlcNAc και η αύξηση των επιπέδων O-GlcNAc διαταράσσουν τον κυτταρικό κύκλο.

Πρόσφατα, δεδομένα από πολλές ομάδες έχουν δείξει ότι η O-GlcNAc εμπλέκεται στην κυτταρική απάντηση στο στρες(195). Τα δεδομένα αυτά προτείνουν ένα πιο πολύπλοκο μοντέλο λειτουργίας του O-GlcNAc στα κύτταρα, όπου η O-GlcNAc είναι ένας αισθητήρας της κατάστασης του κυττάρου. Εδώ, τα επίπεδα O-GlcNAc αναπαριστούν έναν αναγνώστη, όχι μόνο της διαθεσιμότητας θρεπτικών συστατικών, αλλά και του επιπέδου στρες. Έτσι, μεταβάλλοντας συνολικά τα επίπεδα O-GlcNAc, τα κύτταρα μπορούν να συντονίσουν την απάντηση τους ως προς τα διάφορα εξωκυττάρια σήματα, και να τροποποιήσουν την κυτταρική συμπεριφορά κατά καθολικό τρόπο(195).

Το γεγονός ότι τα κύτταρα των μεσοσπονδύλιων δίσκων σχετικά εύκολα μπορεί να βρεθούν σε συνθήκες υποξίας και επομένως κυτταρικού στρες, οδήγησε στην σκέψη να μελετηθεί η έκφραση της γλυκοζυλίωσης με N-ακετυλογλυκοζαμίνη στα πολυπεπτίδια των κυττάρων καθώς επίσης και η έκφραση του ενζύμου μεταφοράς (OGT) που προσθέτει την N-ακετυλογλυκοζαμίνη, καθώς και η έκφραση του ενζύμου γλυκοζαμινιδάση (OGA) που αφαιρεί την N-ακετυλογλυκοζαμίνη από τα πολυπεπτίδια.

Αναλύοντας τα αποτελέσματα της ανοσοϊστοχημείας μπορεί να παρατηρήσουμε τα ακόλουθα :

Η N-ακετυλογλυκοζαμίνη, η συνδεδεμένη με το υδροξύλιο των αμινοξέων σερίνης και θρεονίνης, που αντανάκλα το επίπεδο γλυκοζυλίωσης (O-GlcNAc) των πρωτεϊνών των κυττάρων ήταν θετική τόσο στους πυρήνες όσο και στο κυτταρόπλασμα των χονδροκυττάρων του δίσκου, αλλά σε διαφορετικές αναλογίες ανάλογα με τη βαρύτητα της εκφύλισης του δίσκου όπως αντανάκλαται με το σκορ κυτταρικού πολλαπλασιασμού στο κυτταρικό επίπεδο. Έτσι η πυρηνική χρώση των περιπτώσεων

με ΣΚΠ5 και ΣΚΠ4 ήταν έντονη και υψηλή >75% των κυττάρων στο 100% των περιπτώσεων. Στην εξέταση των αποτελεσμάτων της ανοσοϊστοχημείας μελετήθηκε αν υπήρχε διαφορά μεταξύ της πυρηνικής χρώσης των μονήρων κυττάρων και των ομαδοποιημένων κυττάρων μέσα σε κάθε περίπτωση που είναι απότοκα του κυτταρικού πολλαπλασιασμού κάτω από την επίδραση των παραγόντων του στρες και φάνηκε ότι δεν υπήρξε διαφορά χρώσης. Αυτό σημαίνει ότι είτε τα στρεσογόνα ερεθίσματα και η απάντηση της O-GlcNAc σε αυτά είναι ίδια και στα μονήρη και στα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα είτε ότι αν υπάρχει κάποια διαφορά αυτή είναι μικρή και δεν μπορεί να ελεγχθεί με την ανοσοϊστοχημεία, που είναι βασικά μια ημιποσοτική μέθοδος εκτίμησης και όχι μια απολύτως ακριβής ποσοτική μέθοδος όπως π.χ. είναι η μέθοδος των ανοσοαποτυπωμάτων. Αξίζει να σημειωθεί ότι η πυρηνική χρώση στις περιπτώσεις με ΣΚΠ3 ήταν μειωμένη σε σχέση με αυτή των περιπτώσεων με ΣΚΠ5 και ΣΚΠ4 δεδομένου ότι στις περιπτώσεις με ΣΚΠ3 στο 77% των περιπτώσεων η χρώση ήταν έντονη και σε υψηλά επίπεδα σε αντίθεση με το 100% των περιπτώσεων με ΣΚΠ5 και ΣΚΠ4, ενώ υπήρξαν και 23% των περιπτώσεων με ΣΚΠ3 όπου η πυρηνική χρώση ήταν μέτριας έντασης. Τα ευρήματα αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα ότι όσο βαρύτερη είναι η εκφύλιση του μεσοσπονδύλιου δίσκου τόσο εντονότερη είναι η O-GlcNAc στις πυρηνικές πρωτεΐνες. Αναλύοντας την γλυκοζυλίωση των κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών, τα συμπεράσματα που εξάγονται είναι ότι η O-GlcNAc των κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών είναι κατώτερη από αυτή των πυρηνικών πρωτεϊνών δεδομένου ότι στις περιπτώσεις με ΣΚΠ5 και ΣΚΠ4 μόνο το 46% και το 16% των περιπτώσεων αντίστοιχα έδειξε έντονη χρώση σε υψηλή αναλογία σε σύγκριση με το 100% των περιπτώσεων της πυρηνικής χρώσης σε αμφότερες τις κατηγορίες, ενώ το υπόλοιπο 54% στις ΣΚΠ5 περιπτώσεις και το 84% στις ΣΚΠ4 περιπτώσεις έδειξε μέτρια ένταση χρώσης. Στις δε περιπτώσεις με ΣΚΠ3 καμία περίπτωση δεν έδειξε έντονη ένταση κυτταροπλασματικής χρώσης, σε αντίθεση με το 77% των περιπτώσεων με ΣΚΠ3 όπου υπήρξε έντονη πυρηνική χρώση. Επιπλέον η κυτταροπλασματική χρώση στις ΣΚΠ3 περιπτώσεις ήταν κατώτερη σε σχέση με αυτή των περιπτώσεων με ΣΚΠ5 και ΣΚΠ4, δεδομένου ότι στις ΣΚΠ3 περιπτώσεις υπήρξε και ένα 23% όπου η χρώση ήταν ασθενής, ενώ σε καμία περίπτωση των ΣΚΠ5 και ΣΚΠ4 δεν υπήρξε ασθενής κυτταροπλασματική χρώση.

Όσον αφορά την σύγκριση κυτταροπλασματικής χρώσης των μονήρων και των πολλαπλασιαζόμενων ομαδοποιημένων κυττάρων μέσα σε κάθε περίπτωση, ισχύει και εδώ αυτό που ισχύει και για την πυρηνική χρώση, ότι δηλαδή δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά μέσα στην κάθε περίπτωση και συνολικά μεταξύ μονήρων και ομαδοποιημένων κυττάρων. Συμπερασματικά μπορούν να λεχθούν τα ακόλουθα όσον αφορά την κυτταροπλασματική γλυκοζυλίωση με την N-ακετυλογλυκοζαμίνη:

1. Η κυτταροπλασματική γλυκοζυλίωση (O-GlcNAc) είναι κατώτερη σε σύγκριση με την πυρηνική (O-GlcNAc) γλυκοζυλίωση και
2. Η κυτταροπλασματική όπως και η πυρηνική γλυκοζυλίωση αυξάνει όσο αυξάνει η βαρύτητα της εκφύλισης των μεσοσπονδύλιων δίσκων.

Όσον αφορά την έκφραση του ενζύμου μεταφοράς, που προσθέτει την N-ακετυλογλυκοζαμίνη στα πολυπεπίδια, από τα ευρήματα συνάγεται βασικά ότι η έκφραση της μεταφοράς (OGT) είναι παράλληλη με την έκφραση της γλυκοζυλίωσης με N-ακετυλογλυκοζαμίνη (O-GlcNAc). Έτσι στις περιπτώσεις με ΣΚΠ5 και ΣΚΠ4, η πυρηνική χρώση για την OGT ήταν έντονη και υψηλή στο 100% των περιπτώσεων, όπως και η πυρηνική χρώση για την O-GlcNAc, ενώ στις περιπτώσεις με ΣΚΠ3, η χρώση ήταν έντονη στο 77% των περιπτώσεων και μέτρια στο 23% των περιπτώσεων. Όπως για την O-GlcNAc έτσι παρατηρείται και για την

OGT μια αύξηση της πυρηνικής χρώσης με την αύξηση του βαθμού της εκφύλισης των μεσοσπονδύλιων δίσκων. Όσον αφορά την κυτταροπλασματική χρώση για την OGT, παρατηρείται και εδώ κατώτερη κυτταροπλασματική χρώση, σε σύγκριση με την πυρηνική χρώση, δεδομένου ότι μόνο το 46% των περιπτώσεων με ΣΚΠ5 και το 16% των περιπτώσεων με ΣΚΠ4 έδειξαν έντονη χρώση σε σύγκριση με την πυρηνική χρώση που υπήρξε έντονη στο 100% των περιπτώσεων με ΣΚΠ5 και ΣΚΠ4. Επίσης η κυτταροπλασματική χρώση ήταν κατώτερη στις περιπτώσεις με ΣΚΠ3, δεδομένου ότι υπήρξαν και 23% των περιπτώσεων με ασθενή χρώση, ενώ δεν υπήρξε καμία περίπτωση με ασθενή χρώση στις περιπτώσεις με ΣΚΠ5 και ΣΚΠ4. Συμπερασματικά ισχύει για την OGT ότι ισχύει και για την O-GlcNAc, δηλαδή :

1. Η κυτταροπλασματική έκφραση της OGT είναι κατώτερη της πυρηνικής έκφρασης της OGT και
2. Η πυρηνική και η κυτταροπλασματική έκφραση της OGT αυξάνουν όσο αυξάνει η βαρύτητα της εκφύλισης του μεσοσπονδύλιου δίσκου.

Όσον αφορά την έκφραση της γλυκοζαμινιδάσης (OGA) που αφαιρεί την O-N-ακετυλογλυκοζαμίνη από τις πρωτεΐνες τα ευρήματα αναδεικνύουν ότι η πυρηνική έκφραση της OGA είναι υψηλότερη στις περιπτώσεις με ΣΚΠ5, σε σύγκριση με την πυρηνική χρώση στις περιπτώσεις με ΣΚΠ4, δεδομένου ότι στην τελευταία κατηγορία η πυρηνική έκφραση της OGA είναι αρνητική στο 100% των περιπτώσεων. Επίσης η πυρηνική έκφραση της OGA είναι υψηλότερη στις περιπτώσεις με ΣΚΠ3, σε σύγκριση με τις περιπτώσεις με ΣΚΠ4, αλλά σε σύγκριση με τις περιπτώσεις με ΣΚΠ5, η OGA στις περιπτώσεις με ΣΚΠ3 είναι κατώτερη από αυτή των ΣΚΠ5, δεδομένου ότι το 56% των περιπτώσεων με ΣΚΠ3 ήταν αρνητικό, σε σύγκριση με το 39% των περιπτώσεων με ΣΚΠ5 όπου παρατηρήθηκε αρνητική χρώση για την OGA. Συμπερασματικά παρατηρείται μια αρνητική έκφραση της OGA στις μεσαίου βαθμού αλλοιώσεις, μια συγκριτικά αυξημένη έκφραση της OGA στις μεγάλου βαθμού αλλοιώσεις και μια λιγότερο αυξημένη έκφραση OGA στις χαμηλού βαθμού αλλοιώσεις. Η κυτταροπλασματική έκφραση της OGA ακολουθεί την διακύμανση της πυρηνικής έκφρασης, δηλαδή είναι αρνητική στο 100% των περιπτώσεων με ΣΚΠ4 και σχετικά υψηλότερη στις περιπτώσεις με ΣΚΠ5, σε σχέση με τις περιπτώσεις με ΣΚΠ3. Συνολικά όμως η κυτταροπλασματική έκφραση είναι κατώτερη της πυρηνικής έκφρασης δεδομένου ότι η κυτταροπλασματική έκφραση ήταν πάντα ασθενής στις θετικές περιπτώσεις, ενώ υπήρξε ακόμα και έντονη πυρηνική χρώση στις περιπτώσεις με ΣΚΠ5 και ΣΚΠ3. Γραφικά θα μπορούσε να ειπωθεί ότι υπάρχει μια κοιλάδα αρνητικότητας τόσο στην πυρηνική όσο και στην κυτταροπλασματική έκφραση της OGA στις μεσαίου βαθμού αλλοιώσεις, αφού στις περιπτώσεις με ΣΚΠ4 υπάρχει 100% αρνητικότητα. Κατά τα άλλα η OGA ακολουθεί το μοτίβο έκφρασης της O-GlcNAc και της OGT, δηλαδή η πυρηνική χρώση είναι υψηλότερη της κυτταροπλασματικής χρώσης.

Τελειώνοντας την συζήτηση μπορεί να τονισθεί ως ανακεφαλαίωση ότι στις περιπτώσεις εκφύλισης και κήλης των μεσοσπονδύλιων δίσκων υπάρχει τόσο πυρηνική όσο και κυτταροπλασματική έκφραση της γλυκοζυλίωσης με το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη στα χονδροκύτταρα των δίσκων που αυξάνονται αμφοτέρως παράλληλα με την αύξηση της βαρύτητας της εκφύλισης με την κυτταροπλασματική χρώση να είναι ένα τόνο χαμηλότερη σε σύγκριση με την πυρηνική χρώση, και ότι αυτό το πρότυπο χρώσης της O-GlcNAc είναι παράλληλο με το πρότυπο χρώσης της τρανσφεράσης που προσθέτει την N-ακετυλογλυκοζαμίνη στα πολυπεπτίδια (OGT), ενώ το πρότυπο της χρώσης του ενζύμου γλυκοζαμινιδάση που αφαιρεί την N-ακετυλογλυκοζαμίνη, δεν είναι ακριβώς αντιστρόφως παράλληλο με το πρότυπο της

χρώσης της O-GlcNAc και της OGT, δεδομένου ότι παρουσιάζει μια αρνητική κοιλάδα στις μεσαίου βαθμού (ΣΚΠ4) αλλοιώσεις.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Maniadas N, Gray A. The economic burden of back pain in the UK. *Pain*. 2000;84:95–103.
2. Luoma K, Riihimaki H, Luukkonen R, Raininko R, Viikari-Juntura E, Lamminen A. Low back pain in relation to lumbar disc degeneration. *Spine*. 2000;25:487–492.
3. 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.
4. 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* 2002. 2002;27:2631–2644.
5. Miller J, Schmatz C, Schultz A. Lumbar disc degeneration. Correlation with Age, Sex, and Spine Level in 600 Autopsy Specimens. *Spine*. 1988;13:173–178.
6. Twomey LT, Taylor JR. Age changes in lumbar vertebrae and intervertebral discs. *Clin Orthop*. 1987;224:97–104.
7. Roberts S, Menage J, Urban JPG. Biochemical and structural properties of the cartilage end-plate and its relation to the intervertebral disc. *Spine*. 1989;14:166–174.
8. Inoue H. Three-dimensional architecture of lumbar intervertebral discs. *Spine*. 1981;6:139–146.
9. Yu J, Winlove CP, Roberts S, Urban JP. Elastic fibre organization in the intervertebral discs of the bovine tail. *J Anat*. 2002;201:465–475.
10. Maroudas A, Nachemson A, Stockwell R, Urban J. Some factors involved in the nutrition of the intervertebral disc. *J Anat*. 1975;120:113–130.
11. Marchand F, Ahmed AM. Investigation of the laminate structure of lumbar disc annulus fibrosus. *Spine*. 1990; 15:402–410.
12. Errington RJ, Puustjarvi K, White IR, Roberts S, Urban JP. Characterisation of cytoplasm-filled processes in cells of the intervertebral disc. *J Anat*. 1998;192:369–378.
13. Bruehlmann SB, Rattner JB, Matyas JR, Duncan NA. Regional variations in the cellular matrix of the annulus fibrosus of the intervertebral disc. *J Anat*. 2002;201:159–171.
14. Roberts S, Eisenstein SM, Menage J, Evans EH, Ashton IK. Mechanoreceptors in intervertebral discs. Morphology, distribution, and neuropeptides. *Spine*. 1995;20: 2645–2651.
15. Crock HV, Goldwasser M, Yoshizawa H. Vascular anatomy related to the intervertebral disc. In: Ghosh P, ed. *Biology of the Intervertebral Disc*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1991:109–133.
16. Johnson WE, Evans H, Menage J, Eisenstein SM, El Haj A, Roberts S. Immunohistochemical detection of Schwann cells in innervated and vascularized human intervertebral discs. *Spine*. 2001;26:2550–2557.
17. Buckwalter JA. Aging and degeneration of the human intervertebral disc. *Spine*. 1995;20:1307–1314.

18. Johnson WEB, Eisenstein SM, Roberts S. Cell cluster formation in degenerate lumbar intervertebral discs is associated with increased disc cell proliferation. *Connect Tissue Res.* 2001;42:197–207.
19. Hastreiter D, Ozuna RM, Spector M. Regional variations in certain cellular characteristics in human lumbar intervertebral discs, including the presence of alpha-smooth muscle actin. *J Orthop Res.* 2001;19:597–604.
20. Trout JJ, Buckwalter JA, Moore KC. Ultrastructure of the human intervertebral disc: II. Cells of the nucleus pulposus. *Anat Rec.* 1982;204:307–314.
21. Gruber HE, Hanley EN. Analysis of aging and degeneration of the human intervertebral disc—comparison of surgical specimens with normal controls. *Spine.* 1998;23:751–757.
22. Eyre DR, Muir H. Quantitative analysis of types I and II collagens in the human intervertebral disc at various ages. *Biochimica Biophysica Acta.* 1977;492:29–42.
23. Johnstone B, Bayliss MT. The large proteoglycans of the human intervertebral disc. Changes in their biosynthesis and structure with age, topography, and pathology. *Spine.* 1995;20:674–684.
24. Urban JP, Maroudas A, Bayliss MT, Dillon J. Swelling pressures of proteoglycans at the concentrations found in cartilaginous tissues. *Biorheology.* 1979;16:447–464.
25. Sztrolovics R, Alini M, Roughley PJ, Mort JS. Aggrecan degradation in human intervertebral disc and articular cartilage. *Biochem J.* 1997;326:235–241.
26. Roberts S, Caterson B, Menage J, Evans EH, Jaffray DC, Eisenstein SM. Matrix metalloproteinases and aggrecanase: their role in disorders of the human intervertebral disc. *Spine.* 2000;25:3005–3013.
27. Weiler C, Nerlich AG, Zipperer J, Bachmeier BE, Boos N. 2002 SSE Award Competition in Basic Science: expression of major matrix metalloproteinases is associated with intervertebral disc degradation and resorption. *Eur Spine J.* 2002;11:308–320.
28. Donohue PJ, Jahnke MR, Blaha JD, Caterson B. Characterization of link protein(s) from human intervertebral disc tissues. *Biochem J.* 1988;251:739–747.
29. Lyons G, Eisenstein SM, Sweet MB. Biochemical changes in intervertebral disc degeneration. *Biochim Biophys Acta.* 1981;673:443–453.
30. Inkinen RI, Lammi MJ, Lehmonen S, Puustjarvi K, Kaapa E, Tammi MI. Relative increase of biglycan and decorin and altered chondroitin sulfate epitopes in the degenerating human intervertebral disc. *J Rheumatol.* 1998;25:506–514.
31. Antoniou J, Steffen T, Nelson F, 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.
32. Hollander AP, Heathfield TF, Liu JJ, et al. Enhanced denaturation of the alpha (II) chains of type-II collagen in normal adult human intervertebral discs compared with femoral articular cartilage. *J Orthop Res.* 1996;14:61–66.
33. Duance VC, Crean JK, Sims TJ, et al. Changes in collagen cross-linking in degenerative disc disease and scoliosis. *Spine.* 1998;23:2545–2551.
34. Johnson SL, Aguiar DJ, Ogilvie JW. Fibronectin and its fragments increase with degeneration in the human intervertebral disc. *Spine.* 2000;25:2742–2747.
35. Urban JPG, McMullin JF. Swelling pressure of the lumbar intervertebral discs: influence of age, spinal level, composition and degeneration. *Spine.* 1988;13:179–187.
36. Frobin W, Brinckmann P, Kramer M, Hartwig E. Height of lumbar discs measured from radiographs compared with degeneration and height classified from MR images. *Eur Radiol.* 2001;11:263–269.

37. Adams MA, McNally DS, Dolan P. "Stress" distributions inside intervertebral discs. The effects of age and degeneration. *J Bone Joint Surg Br.* 1996;78:965–972.
38. McNally DS, Shackelford IM, Goodship AE, Mulholland RC. In vivo stress measurement can predict pain on discography. *Spine.* 1996;21:2580–2587.
39. Adams MA, Dolan P, Hutton WC, Porter RW. Diurnal changes in spinal mechanics and their clinical significance. *J Bone Joint Surg Br.* 1990;72:266–270.
40. Postacchini F, Gumina S, Cinotti G, Perugia D, DeMartino C. Ligamenta flava in lumbar disc herniation and spinal stenosis. Light and electron microscopic morphology. *Spine.* 1994;19:917–922.
41. Maroudas A. Biophysical chemistry of cartilaginous tissues with special reference to solute and fluid transport. *Biorheology.* 1975;12:233–248.
42. Freemont AJ, Peacock TE, Goupille P, Hoyland JA, O'Brien J, Jayson M-IV. Nerve ingrowth into diseased intervertebral disc in chronic back pain. *Lancet.* 1997;350:178–181.
43. Johnson WE, Caterson B, Eisenstein SM, Hynds DL, Snow DM, Roberts S. Human intervertebral disc aggrecan inhibits nerve growth in vitro. *Arthritis Rheum.* 2002; 46:2658–2664.
44. Melrose J, Roberts S, Smith S, Menage J, Ghosh P. Increased nerve and blood vessel ingrowth associated with proteoglycan depletion in an ovine annular lesion model of experimental disc degeneration. *Spine.* 2002;27:1278–1285.
45. Boos N, Rieder R, Schade V, Spratt KF, Semmer N, Aebi M. Volvo Award in clinical sciences. The diagnostic accuracy of magnetic resonance imaging, work perception, and psychosocial factors in identifying symptomatic disc herniations. *Spine* 1995. 1995;20:2613–2625.
46. Cavanaugh JM. Neural mechanisms of lumbar pain. *Spine.* 1995;20:1804–1809.
47. Kang JD, Georgescu HI, McIntyre-Larkin L, Stefanovic-Racic M, Donaldson WF, Evans CH. Herniated lumbar intervertebral discs spontaneously produced matrix metalloproteinases, nitric oxide, interleukin-6, and prostaglandin E2. *Spine.* 1996;21:271–277.
48. Kawakami M, Tamaki T, Weinstein JN, Hashizume H, Nishi H, Meller ST. Pathomechanism of pain-related behavior produced by allografts of intervertebral disc in the rat. *Spine.* 1996;21:2101–2107.
49. Olmarker K, Rydevik B. Disc Herniation and sciatica; the basic science platform. In: Gunzburg R, Szpalski M, eds. *Lumbar Disc Herniation.* Philadelphia: Lippincott. Williams & Wilkins; 2002:31–37.
50. Nachemson A, Lewin T, Maroudas A, Freeman MAF. In vitro diffusion of dye through the end-plates and annulus fibrosus of human lumbar intervertebral discs. *Acta Orthop Scand.* 1970;41:589–607.
51. 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;17:829–835.
52. Ohshima H, Urban JPG. Effect of lactate concentrations and pH on matrix synthesis rates in the intervertebral disc. *Spine.* 1992;17:1079–1082.
53. Horner HA, Urban JP. 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. 2001;26:2543–2549.
54. Holm S, Maroudas A, Urban JP, Selstam G, Nachemson A. Nutrition of the intervertebral disc: solute transport and metabolism. *Connect Tissue Res.* 1981;8:101–119.

55. Urban JP, Holm S, Maroudas A. Diffusion of small solutes into the intervertebral disc: as in vivo study. *Biorheology*. 1978;15:203–221.
56. Kauppila LI, McAlindon T, Evans S, Wilson PW, Kiel D, Felson DT. Disc degeneration/back pain and calcification of the abdominal aorta. A 25-year follow-up study in Framingham. *Spine*. 1997;22:1642–1647.
57. Kauppila LI. Prevalence of stenotic changes in arteries supplying the lumbar spine. A postmortem angiographic study on 140 subjects. *Ann Rheum Dis*. 1997;56:591–595.
58. Jones JP. Subchondral osteonecrosis can conceivably cause disk degeneration and ‘primary’ osteoarthritis. In: Urbaniak JR, Jones JP, eds. *Osteonecrosis*. Park Ridge, IL: American Academy of Orthopedic Surgeons; 1997:135–142.
59. Holm S, Nachemson A. Variation in the nutrition of the canine intervertebral disc induced by motion. *Spine*. 1983;8:866–874.
60. Holm S, Nachemson A. Nutritional changes in the canine intervertebral disc after spinal fusion. *Clin Orthop*. 1982;169:243–258.
61. Roberts S, Urban JPG, Evans H, Eisenstein SM. Transport properties of the human cartilage end-plate in relation to its composition and calcification. *Spine*. 1996;21:415–420.
62. Allan DB, Waddell G. An historical perspective on low back pain and disability. *Acta Orthop Scand Suppl*. 1989;234:1–23.
63. Puustjarvi K, Takala T, Wang W, Tammi M, Helminen H, Inkinen R. Proteoglycans in the intervertebral disc of young dogs following strenuous running exercise. *Conn Tiss Res*. 1993;30:1–16.
64. Iatridis JC, Mente PL, Stokes IA, Aronsson DD, Alini M. Compression-induced changes in intervertebral disc properties in a rat tail model. *Spine*. 1999;24:996–1002.
65. Lotz JC, Colliou OK, Chin JR, Duncan NA, Liebenberg E. 1998 Volvo Award winner in biomechanical studies—compression-induced degeneration of the intervertebral disc: an in vivo mouse model and finite-element study. *Spine*. 1998;23:2493–2506.
66. Osti OL, Vernon-Roberts B, Fraser RD. 1990 Volvo Award in experimental studies. Anulus tears and intervertebral disc degeneration. An experimental study using an animal model. *Spine*. 1990;15:762–767.
67. Lipson SJ, Muir H. Experimental intervertebral disc degeneration: morphologic and proteoglycan changes over time. *Arthritis Rheum*. 1981;24:12–21.
68. Heikkila JK, Koskenvuo M, Heliövaara M, et al. Genetic and environmental factors in sciatica. Evidence from a nationwide panel of 9365 adult twin pairs. *Ann Med*. 1989;21:393–398.
69. 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;23:1029–1034.
70. 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 Am*. 1991;73:124–128.
71. Battie MC, Videman T, Gibbons LE, Fisher LD, Manninen H, Gill K. 1995 Volvo Award in clinical sciences. Determinants of lumbar disc degeneration. A study relating lifetime exposures and magnetic resonance imaging findings in identical twins. *Spine*. 1995;20:2601–2612.
72. Sambrook PN, MacGregor AJ, Spector TD. Genetic influences on cervical and lumbar disc degeneration: a magnetic resonance imaging study in twins. *Arthritis Rheum*. 1999;42:366–372.



73. Battie MC, Haynor DR, Fisher LD, Gill K, Gibbons LE, Videman T. Similarities in degenerative findings on magnetic resonance images of the lumbar spines of identical twins. *J Bone Joint Surg Am.* 1995;77:1662–1670.
74. 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;94:6943–6947.
75. Li SW, Prockop DJ, Helminen H, et al. Transgenic mice with targeted inactivation of the *Col2 alpha 1* gene for collagen II develop a skeleton with membranous and periosteal bone but no endochondral bone. *Genes Dev.* 1995;9:2821–2830.
76. Kimura T, Nakata K, Tsumaki N, et al. Progressive degeneration of articular cartilage and intervertebral discs. An experimental study in transgenic mice bearing a type IX collagen mutation. *Int Orthop.* 1996;20:177–181.
77. 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 Am.* 2002; 84-A: 2022–2028.
78. Videman T, Gibbons LE, Battie MC, et al. The relative roles of intragenic polymorphisms of the vitamin D receptor gene in lumbar spine degeneration and bone density. *Spine.* 2001;26:E7–E12.
79. 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;57:94–99.
80. Sachs BL, Vanharanta H, Spivey MA, et al. Dallas discogram description: a new classification of CT/discography in low back disorders. *Spine.* 1987;12:287–294.
81. Aprill C, Bogduk N. High intensity zone. *Br J Radiol.* 1992;65:361–369.
82. Schellhas KP, Pollei SR, Gundry CR, et al. Lumbar disc high-intensity zone. Correlation of magnetic resonance imaging and discography. *Spine.* 1996;21:79–86.
83. Brodsky AE, Binder WF. Lumbar discography. *Spine.* 1979;4:110–120.
84. Wiley JJ, Macnab I, Wortzman G. Lumbar discography and its clinical applications. *Can J Surg.* 1986;11:280–289.
85. Heggeness MH, Doherty BJ. Discography causes end plate deflection. *Spine.* 1993;18:1050–1053.
86. Ohnmeiss DD, et al. Degree of disc disruption and lower extremity pain. *Spine.* 1997;22:1600–1665.
87. Oh WS, Shim JC. A randomized controlled trial of radiofrequency denervation of the ramus communicans nerve for chronic discogenic low back pain. *Clin J Pain.* 2004;20:55–60.
88. Morinaga T, Takahashi K, Yamagata M, et al. Sensory innervation to the anterior portion of lumbar intervertebral disc. *Spine.* 1996;21:1848–1851.
89. Ohtori S, Takahashi Y, Takahashi K, et al. Sensory innervation of the dorsal portion of the lumbar intervertebral disc in rats. *Spine.* 1999;24:2295–2299.
90. Merskey H, Bogduk N. Classification of Chronic Pain: Descriptions of Chronic Pain Syndromes and Definitions of Pain Terms. Seattle: IASP Press; 1994:180–181.
91. Crock HV. Internal disc disruption. A challenge to disc prolapse fifty years on. *Spine.* 1986;11:650–653.
92. Schwarzer AC, Aprill CN, Derby R, et al. The prevalence and clinical features of internal disc disruption in patients with chronic low back pain. *Spine.* 1995;20:1878–1888.
93. Bernard TN. Lumbar discography followed by computed tomography. Refining the diagnosis of low-back pain. *Spine.* 1990;15:690–707.

94. Bogduk N. The lumbar disc and low back pain. *Neurosurg Clinics North Am.* 1991;2:791–806.
95. Vanharanta H, Sachs BL, Spivey M, et al. A comparison of CT/discography, pain response and radiographic disc height. *Spine.* 1988;13:321–324.
96. Osti OL, Vernon-Roberts B, Fraser RD. Volvo Award—annulus tears and intervertebral disc degeneration: an animal model. *Spine.* 1990;15:762–766.
97. Moore RJ, Osti OL, Vernon-Roberts B. Osteoarthritis of the facet joints resulting from annular rim lesions. *Spine.* 1999;24:519–524.
98. Moore RJ, Vernon-Roberts B, Osti OL, Fraser RD. Remodeling of vertebral bone after outer annular injury in sheep. *Spine.* 1996;21:936–940.
99. Key JA, Ford LT. Experimental intervertebral disc lesions. *J Bone Joint Surg.* 1948;30A:621.
100. Moore RJ, Osti OL, Vernon-Roberts B, et al. Changes in endplate vascularity after an outer annulus tear in the Sheep. *Spine.* 1992;17:874–877.
101. Kim KS, Yoon ST, Li J, et al. Disc degeneration in the rabbit: a biochemical and radiological comparison between four disc injury models. *Spine.* 2005;30:33–37.
102. Jaikumar S, Kim DH, Kam AC. History of minimally invasive spine surgery. *Neurosurgery.* 2002;51(suppl 5):1–14.
103. Maroon JC. Current concepts in minimally invasive discectomy. *Neurosurgery.* 2002;51(suppl 5):137–145.
104. Thomas L. Reversible collapse of rabbit ears after intravenous papain. *J Exp Med.* 1956;104:245–252.
105. Kamblin P, Savitz MH. Arthroscopic microdiscectomy: an alternative to open disc surgery. *Mount Sinai J Med.* 2000;67:283–287.
106. Kim YS, Chin DK, Yoon DH, et al. Predictors of successful outcome for lumbar chemonucleolysis: analysis of 3000 cases during the past 14 years. *Neurosurgery.* 2002; 51(suppl 5):123–128.
107. Buric j Molino Lova R. Ozone Chemonucleolysis in non-contained disc herniations: a pilot study with 12 months follow-up. *Acta Neurochir Suppl.* 2005;92:93–97.
108. Saal JA, Saal JS. Intradiscal electrothermal treatment for chronic discogenic low back pain: prospective outcome study with a minimum 2-year follow-up. *Spine.* 2002;27:966–973.
109. Deen HG, Fenton DS, Lamer TJ. Minimally invasive procedures for disorders of the lumbar spine. *Mayo Clin Proc.* 2003;78:1249–1256.
110. Saal JS, Saal JA. Management of chronic discogenic low back pain with a thermal intradiscal catheter: a preliminary report. *Spine.* 2000;25:382–388.
111. Yeurn AT. The evolution of percutaneous spinal endoscopy and discectomy: state of the art. *Mt Sinai J Med.* 2000;67:327–332.
112. Biyani A, Andersson GB, Chaudhary H, An HS. Intradiscal electrothermal therapy: a treatment option in patients with internal disc disruption. *Spine.* 2003;28(155):S8–S14.
113. Appleby D, Andersson G, Totta M. Metaanalysis of the efficacy and safety of intradiscal electrothermal therapy (IDET). *Pain Med.* 2006;4:308–316.
114. Ackerman WE. Cauda equina syndrome after intradiscal electrothermal therapy. *Reg Anaesth Pain Med.* 2002;27:622.
115. Cohen SP, Larkin T, Polly DW Jr. A giant herniated disc following intradiscal electrothermal therapy. *J Spinal Disord Techn.,* 2002;15:537–541.
116. Kapural L, Mekhail N. Novel Intradiscal Biacuplasty (IDB) for the treatment of Lumbar Discogenic Pain. *Pain Practice J.* 2007;7:130–135.

117. Choy DS. Percutaneous laser disc decompression (PLDD): twelve years' experience with 752 procedures in 518 patients. *J Clin Laser Med Surg.* 1998;16:325–331.
118. Smith L, Garvin PJ, Jennings RB, et al. Enzyme dissolution of the nucleus pulposus. *Nature.* 1963;198:1211–1212.
119. Chawla J. Laser discectomy. *eMedicine J.* 2006;7. Available at: <http://author.emedicine.com/neuro/topic683.htm> (accessed June 4, 2007).
120. Tsou PM, Yeung AT. Transforaminal endoscopic decompression for radiculopathy secondary to intracanal noncontained lumbar disc herniations: outcome and technique. *Spine J.* 2002;2:41–48.
121. Nucleoplasty overview. Available at: <http://www.nucleoplasty.com/video.aspx?video=1&rate=high> (accessed June 4, 2007).
122. Dekompressorfor Clinicians. Interventional Pain Sitemap. [revisionhip.com/instruments/products/dekompressor/clinic.htm-22k](http://revisionhip.com/instruments/products/dekompressor/clinic.htm-22k): Stryker Corp.; 2004.
123. Ascher PW, Heppner F. CO-2 laser in neurosurgery. *Neurosurg Rev.* 1984;7:123–133.
124. Hijikata SA. A method of percutaneous nuclear extraction. *J Toden Hosp.* 1975;5:39.
125. Onik G, Helms CA, Ginsburg L, et al. Percutaneous lumbar discectomy using a new aspiration probe. *Am J Roentgenol.* 1985;144:1137–1140.
126. Macroon JC, Onik G, Sternau L. Percutaneous automate discectomy: a new approach to lumbar surgery. *Clin Ortho Rel Res.* 1989;238:64–70.
127. Jacobaeus HC. Possibility of the use of cytoscope for investigation of serious cavities. *Munch Med Wochenschr.* 1910;57:2090–2092.
128. Macroon JC, Onik G, Vidovich DV. Percutaneous discectomy for lumbar herniation. *Neurosurg Clin North Am.* 1993;4:125–134.
129. Mixter WJ, Barr JS. Rupture of intervertebral disc with involvement of spinal canal. *N Engl J Med.* 1934;11: 210–215.
130. Pool JL. Myelotomy: intraspinal endoscopy. *Surgery.* 1942;11:169–182.
131. Ooi Y, Sato Y, Morisaki N. Myelotomy: the possibility of observing the lumbar intrathecal space by use of an endoscope. *Endoscopy.* 1973;5:901–906.
132. Hijikata S, Yamagishi M, Nakayama T, et al. Percutaneous discectomy: a new treatment method for lumbar disc herniation. *J Toden Hosp.* 1975;39:5–13.
133. Onik G, Helms CA, Ginsburg L, et al. Percutaneous lumbar discectomy using a new aspiration probe. *Am J Roentgenol.* 1985;144:1137–1140.
134. Mathews HH. Transforaminal endoscopic microdiscectomy. *Neurosurg Clin North Am.* 1996;7:59–63.
135. Atlas SJ, Keller RB, Wu YA, Deyo RA, Singer DE. Long-term outcomes of surgical and nonsurgical management of sciatica secondary to a lumbar disc herniation: 10 year results from the Maine lumbar spine study. *Spine.* 2005;30:927–935.
136. Appleby D, Andersson G, Totta M. Metaanalysis of the efficacy and safety of intradiscal electrothermal therapy (IDET). *Pain Med.* 2006;4:308–316.
137. Freeman BJC. IDET. A critical appraisal of the evidence. *Eur Spine J.* 2006;15:S448–S457.
138. Kapural L, Hayek S, Malak O, et al. Intradiscal thermal annuloplasty versus intradiscal radiofrequency ablation for the treatment of discogenic pain: a prospective matched control trial. *Pain Med.* 2005;6:425–431.

139. Karasek M, Bogduk N. Twelve-month follow-up of a controlled trial of intradiscal thermal annuloplasty for back pain due to internal disc disruption. *Spine*. 2000;25:2601–2607.
140. Derby R, Eek B, Chen Y, et al. Intradiscal electrothermal annuloplasty (IDET): a novel approach for treating chronic discogenic back pain. *Neuromodulation*. 2000;3:82–88.
141. Gerszten PC, Welch WC, McGrath PM, et al. A prospective outcome study of patients undergoing intradiscal electrotherapy (IDET) for chronic low back pain. *Pain Physician*. 2002;5:360–364.
142. Saal JA, Saal JS. Intradiscal electrothermal treatment for chronic discogenic low back pain: prospective outcome study with a minimum 2-year follow-up. *Spine*. 2002;27:966–973.
143. Lutz C, Lutz GE, Cooke PM. Treatment of chronic lumbar diskogenic pain with intradiscal electrothermal therapy: a prospective outcome study. *Arch Phys Med Rehabil*. 2003;84:23–28.
144. Mekhail N, Kapural L. Intradiscal thermal annuloplasty for discogenic pain: an outcome study. *Pain Pract*. 2004;4:84–90.
145. Spruit M, Jacobs WC. Pain and function after intradiscal electrothermal treatment (IDET) for symptomatic lumbar disc degeneration. *Eur Spine J*. 2002;11:589–593.
146. Freedman BA, Cohen SP, Kuklo TR, et al. Intradiscal electrothermal therapy (IDET) for chronic low back pain in active duty soldiers: 2-year follow-up. *Spine J*. 2003;3:502–509.
147. Finch PM, Price LM, Drummond PD. Radiofrequency heating of painful annular disruptions: one-year outcomes. *J Spinal Disord Techn*. 2005;18:6–13.
148. Waddell G, Gibson A, Grant I. Surgical treatment of lumbar disc prolapse and degenerative lumbar disc disease. In: Nachemson AL, Jonsson E, eds. *Neck and Back Pain: The Scientific Evidence of Causes, Diagnosis and Treatment*. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2000:305–326.
149. van Tulder MW, Assendelft WJ, Koes BW. The Editorial Board of the Cochrane Collaboration Back Review Group + Method Guidelines for Systematic Reviews in the Cochrane Collaboration Back Review Group for Spinal Disorders. *Spine*. 1997;22:2323–2330.
150. Chatterjee S, Foy PM, Findlay GF. Report of a controlled clinical trial comparing automated percutaneous lumbar discectomy and microdiscectomy in the treatment of contained lumbar disc herniation. *Spine*. 1995;20:734–738.
151. Haines SJ, Jordan N, Boen JR, et al. Discectomy strategies for lumbar disc herniation: study design and implications for clinical research. *J Clin Neurosci*. 2002;9:440–446.
152. Bernd L, Schiltenswolf M, Mau H, et al. No indications for percutaneous lumbar discectomy? *Int Orthop*. 1997;21:164–168.
153. Fiume D, Parziale G, Rinaldi A, et al. Automated percutaneous discectomy in herniated lumbar discs treatment: experience after the first 200 cases. *J Neurosurg Sci*. 1994;38:235–237.
154. Delamarter RB, Howard MW, Goldstein T, et al. Percutaneous lumbar discectomy. Preoperative and postoperative magnetic resonance imaging. *J Bone Joint Surg Am*. 1995;77:578–584.
155. Bosacco SJ, Bosacco DN, Berman AT, et al. Functional results of percutaneous laser discectomy. *Am J Orthop*. 1996;25:825–828.

156. Choy DS. Percutaneous laser disc decompression (PLDD): twelve years' experience with 752 procedures in 518 patients. *J Clin Laser Med Surg.* 1998;16:325–331.
157. Siebert WE, Berendsen BT, Tollgaard J. Percutaneous laser disk decompression. Experience since. *Orthopade* 1996. 1989;25:42–48.
158. Ohnmeiss DD, Guyer RD, Hochschuler SH. Laser disc decompression. The importance of proper patient selection. *Spine.* 1994;19:2054–2058.
159. Liebler WA. Percutaneous laser disc nucleotomy. *Clin Orthop Relat Res.* 1995;310:58–66.
160. Singh V, Piryani C, Liao K, et al. Percutaneous disc decompression using coblation (nucleoplasty) in the treatment of chronic discogenic pain. *Pain Physician.* 2002;5:250–259.
161. Sharps LS, Isaac Z. Percutaneous disc decompression using nucleoplasty. *Pain Physician.* 2002;5:121–126.
162. Amoretti N, David P, Grimaud A, et al. Clinical follow-up of 50 patients treated by percutaneous lumbar discectomy. *Clin Imaging.* 2006;30:242–244.
163. Singh V, Piryani C, Liao K. Evaluation of percutaneous disc decompression using coblation in chronic back pain with or without leg pain. *Pain Physician.* 2003;6:273–280.
164. Marin FZ. CAM versus nucleoplasty. *Acta Neurochir Suppl.* 2005;92:111–114.
165. Gerszten PC, Welch WC, King JT. Quality of life assessment in patients undergoing nucleoplasty-based percutaneous discectomy. *J Neurosurg Spine.* 2006;4:36–42.
166. Waddell G. *The Back Pain Revolution.* Edinburgh: Churchill Livingstone; 1998.
167. Fritzell P, Hagg O, Wessberg P, Nordwall A. Volvo Award Winner in Clinical Studies: lumbar fusion versus nonsurgical treatment for chronic low back pain: a multicenter randomized controlled trial from the Swedish Lumbar Spine Study Group. *Spine* 2001. 2001;26:2521–2532.
168. Weber H. A controlled, prospective study with ten years of observation. *Spine.* 1983;8:131–140.
169. Gibson JN, Grant IC, Waddell G. Surgery for lumbar disc prolapse. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000; Spine. 24 (17): CD001350.
170. McAlindon TE, LaValley MP, Gulin JP, et al. Glucosamine and Chondroitin for treatment of Osteoarthritis: a systematic quality assessment and met-analysis. *JAMA.* 2000;283:1469–1475.
171. Derby R, Eek B, Lee S-H, Seo KS, Kim B-J. Comparison of Intradiscal Restorative Injections and Intradiscal Electrothermal Treatment (IDET) in the treatment of Low Back Pain. *Pain Physician.* 2004;7:63–66.
172. Thompson JP, Oegema TR, Bradford DS. Stimulation of mature canine intervertebral disc by growth factors. *Spine.* 1991;16:253–260.
173. Osada R, Ohshima H, Ishihara H, et al. Autocrine/paracrine mechanism of insulin-like growth factor-1 secretion, and the effect of insulin-like growth factor-1 on proteoglycansynthesis in bovine intervertebral discs. *J Orthop Res.* 1996; 14:690–699.
174. Takegami K, Thonar EJ, An HS, Kamada H, Masuda K. Osteogenic protein-1 enhances matrix replenishment by intervertebral disc cells previously exposed to interleukin-1. *Spine.* 2002;27:1318–1325.
175. Nishida K, Kang JD, Gilbertson LG, et al. Modulation of the biologic activity of the rabbit intervertebral disc by gene therapy: an in vivo study of adenovirus-mediated transfer of the human transforming growth factor beta 1 encoding gene. *Spine.* 1999;24:2419–2425.

176. Roberts S, Hollander AP, Caterson B, Menage J, Richardson JB. Matrix turnover in human cartilage repair tissue in autologous chondrocyte implantation. *Arthritis Rheum.* 2001;44:2586–2598.
177. Brittberg M. Autologous chondrocyte transplantation. *Clin Orthop Rel Res.* 999;367(suppl):S147–S155. *Intervertebral Disc* • 43
178. Gruber HE, Johnson TL, Leslie K, et al. Autologous intervertebral disc cell implantation: a model using *Psammomys obesus*, the sand rat. *Spine.* 2002;27:1626–1633.
179. Alini M, Roughley PJ, Antoniou J, Stoll T, Aebi M. A biological approach to treating disc degeneration: not for today, but maybe for tomorrow. *Eur Spine J.* 2002;11(suppl2):S215–S220.
180. Ganey TM, Meisel HJ. A potential role for cell-based therapeutics in the treatment of intervertebral disc herniation. *Eur Spine J.* 2002;11(suppl 2):S206–S214.
181. Richardson SM, Walker RV, Parker S, Rhodes NP. Intervertebral disc cell-mediated mesenchymal stem cell differentiation. *Stem Cells.* 2006;24 (3):707–716.
182. Boyd LM, Carter AJ. Injectable biomaterials and vertebral endplate treatment for repair and regeneration of the intervertebral disc. *European Spine J.* 2006;15(suppl 3):414–421.
183. Lotz JC, Kim AJ. Disc regeneration. Why, When How *Neurosurg Clin N Am.* 2005;16:657–663.
184. Huang RC, Sandhu HS. The current status of lumbar total disc replacement. *Orthop Clin North Am.* 2004;35:33–42.
185. *Essentials of Glycobiology.* Edited by Varki Ajit et al. Cold spring harbor laboratory press. Second edition. 2008.
186. Torres C.-R. and Hart G.W. 1984. Topography and polypeptide distribution of terminal N-acetylglucosamine residues on the surfaces of intact lymphocytes. Evidence for O-linked GlcNAc. *J. Biol. Chem.* 259:3308–3317.
187. Hart G.W. 1997. Dynamic O-linked glycosylation of nuclear and cytoskeletal proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 66:315–335.
188. Comer F.I. and Hart G.W. 2000. O-Glycosylation of nuclear and cytosolic proteins. Dynamic interplay between O-GlcNAc and O-phosphate. *J. Biol. Chem.* 275:29179–29182.
189. Wells L., Vosseller K., and Hart G.W. 2001. Glycosylation of nucleocytoplasmic proteins: Signal transduction and O-GlcNAc. *Science* 291:2376–2378
190. Vocadlo D.J., Hang H.C., Kim E.-J., Hanover J.A., and Bertozzi C.R. 2003. A chemical approach for identifying O-GlcNAc-modified proteins in cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100:9116–9121
191. Wells L., Vosseller K., and Hart G.W. 2003. A role for N-acetylglucosamine as a nutrient sensor and mediator of insulin resistance. *Cell Mol. Life Sci.* 60:222–228.
192. Whelan S.A. and Hart G.W. 2003. Proteomic approaches to analyze the dynamic relationships between nucleocytoplasmic protein glycosylation and phosphorylation. *Circ. Res.* 93:1047–1058
193. Khidekel N., Ficarro S.B., Peters E.C. and Hsieh-Wilson L.C. 2004. Exploring the O-GlcNAc proteome: Direct identification of O-GlcNAc-modified proteins from the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101:13132–13137.
194. Liu F., Iqbal K., Grundke-Iqbal I., Hart G.W. and Gong C.X. 2004. O-GlcNAcylation regulates phosphorylation of tau: A mechanism involved in Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101:10804–10809

195. Zachara N.E. and Hart G.W. 2004. O-GlcNAc a sensor of cellular state: The role of nucleocytoplasmic glycosylation in modulating cellular function in response to nutrition and stress. *Biochim. Biophys. Acta* 1673:13-28
196. Love D.C. and Hanover J.A. 2005. The hexosamine signaling pathway: Deciphering the "O-GlcNAc code." *Science STKE* 321:re13.
197. Slawson C., Housley M.P., and Hart G.W. 2006. O-GlcNAc cycling: How a single sugar post-translational modification is changing the way we think about signaling networks. *J. Cell. Biochem.* 97:71-83.
198. Hart G.W., Housley M.P., and Slawson C. 2007. Cycling of O-linked  $\beta$ -N-acetylglucosamine on nucleocytoplasmic proteins. *Nature* 446:1017-1022