

Muharrem Furkan Yüzbaşı¹, Hacı Mehmet Saygı², İbrahim Yılmaz^{3,4}

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

²Medicana International Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği, İstanbul, Türkiye

³T.C. Sağlık Bakanlığı, Dr. İsmail Fehmi Cümaloğlu Şehir Hastanesi, Farmakovijilans Birimi, Tekirdağ, Türkiye

⁴İstanbul Rumeli Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, İstanbul, Türkiye

✉ dryilmazi@yahoo.com

Derleme / Review

Geliş tarihi: 14.12.2023

Kabul tarihi: 25.12.2023

Dejenere İntervertebral Disk Dokusunun Rejenerasyonuna Yönelik Gerçekleştirilen Araştırmalarda Hedef Alınan Sinyal Yolakları

Signal Pathways Targeted in Research on Regeneration of Degenerated Intervertebral Disc Tissue

ÖZ

Yüksek prevalansına rağmen, intervertebral diskin hücresel ve moleküler düzeyde anlaşılmasının sınırlı olması nedeniyle disk hastalığının günümüzde hâlen etkin bir tedavisi bulunmamaktadır. Disk dejenerasyonunun geriletilmesi, önlenmesi ya da diskin rejenerasyonuna yönelik gerçekleştirilmiş olan son araştırmalarda, hücre içi sinyal yolaklarına odaklanılmıştır. Bu derlemede; gelecekte umut verici bir tedavi modalitesi olarak görülen, dejenere olan intervertebral disklerdeki patolojilerin, sağlıklı disk yapısına ve fonksiyonuna kavuşabilmesi amacıyla hedeflenen sinyal yolaklarına ait gen ve protein ifadelerinin manipülasyonlarına odaklanılmıştır.

Anhtar Sözcükler: Apoptoz, Enflamasyon, Hücre yaşlanması, Otofaji, Sinyal yolakları

ABSTRACT

Despite its high prevalence, there is currently no effective treatment for disc disease due to limited understanding of the intervertebral disc at the cellular and molecular level. Recent research on the regression, prevention or regeneration of disc degeneration has focused on intracellular signaling pathways. In this review; the focus is on manipulation of gene and protein expressions of targeted signaling pathways in order to restore healthy disc structure and function to pathologies in degenerating intervertebral discs, which is seen as a promising treatment modality in the future.

Keywords: Apoptosis, Autophagy, Cell senescence, Inflammation, Signaling pathways

GİRİŞ

İntervertebral disk (IVD) dejenerasyonu (IVDD), dünyada kas-iskelet sistemi patolojilerinin ana nedeni olan bel ağrılı olgularda en sık görülen tanıdır. Mevcut tedavi yöntemleri arasında yatak istirahati, steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar ve/veya fizik tedavi rehabilitasyon ya da laminektomi, diskektomi ve füzyon gibi cerrahi müdahaleler yer almaktadır. Ancak bu tedavilerin tümü yalnızca disk hastalığının son aşamalarındaki semptomlarını hedef alır ve IVDD'yi geciktirmek veya tersine çevirmek için hiçbir şey yapmaz. Bu nedenle, IVDD patolojisinin daha iyi anlaşılması, terapötik stratejilerin optimize edilmesi ve yeni anti-IVDD ilaçlarının geliştirilmesi için gereklidir. Bundan dolayı bilim insanları moleküler düzeyde, dejenerasyon ve rejenerasyon ile ilgili gen ve protein ifade düzeylerini yoğun bir şekilde araştırmaya başlamışlardır. Bu derlemede, dejeneratif disk hastalığı için

yeni genetik bazlı terapötik müdahalelerin geliştirilmesine yardımcı olabilecek ve hedef alınabilecek sinyal yolaklarının rollerine ve terapötik potansiyeline odaklanıyoruz.

Hücresel yaşlanmadaki sinyal yolakları, sürecin düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynar. Hücre döngüsü ilerlemesinin, DNA hasarı tepkilerinin ve enflamasyonun kontrol edilmesine yardımcı olarak doku homeostazisinin korunmasına ve kontrolsüz hücre proliferasyonunun önlenmesine katkıda bulunurlar. Bu yolakları anlamak, hücresel yaşlanma ve yaşa bağlı hastalıklara ilişkin içgörüler açısından, hayati öneme sahiptir.

Hücresel apoptozdaki sinyal yolakları da gelişimde, doku homeostazisinde ve bağışıklık tepkilerinde temel bir süreç olan programlanmış hücre ölümü için gereklidir. Bu yolaklar, apoptozu gerçekleştiren kaspazların aktivasyonunu düzenler ve hasarlı veya gereksiz hücrelerin ortadan kaldırılmasına

yardımcı olarak, kanser, otoimmün hastalıklar veya dejeneratif patolojileri önler. Apoptoz yollarını anlamak, tedavi geliştirmede tıbbi alanlar için hayati öneme haizdir.

Makrotofaji/otofaji, ökaryotik hücrelerde metabolik enerji homeostazisini koruyan ve moleküler bozulmayı ve organel yenilenmesini kontrol ederek dokulardaki rejenerasyonda hayati bir rol oynayan, önemli bir metabolik süreçtir.

Otofaji evrimsel olarak yüksek oranda korunan hücresel bir süreçtir. Otofaji ile ilgili genler ve proteinler, otofagozom biyogenezi için temel mekanizma olarak kabul edilir. Bilim insanları, otofagozom oluşumunu teşvik etmek ve otofaji akışını artırmak veya kondrositik hücreleri korumak için mitofajiyi teşvik etmeye yönelik arayışlar içerisindeyler. Çünkü gelecekte IVDD'nin rejenerasyonuna yönelik otofajiyi ilişkili sinyal yollarının, klinik öneme sahip olacağı aşikârdır. Bu yüzden de otofajiyi modüle etmek için; MTOR (rapamisin kinazın mekanik hedefi) inhibitörleri, AMPK aktivatörleri, fitokimyasallar dahil olmak üzere özellikle nanomateryaller başta olmak üzere biyomateryaller gibi otofajiyi tetiklemek için, sinyal yollarının manipülasyonu amacı ile otofaji düzenleyicilerinin kullanılmasına yönelik araştırmalar popüler hâle gelmiştir.

Hatta spermidin, trehaloz, izopsoresalen, hidroksitirozol ve transkripsiyon faktörü EB gibi otofaji düzenleyicilerinin, dejenerasyona ait patogenezi regüle ettiği bildirilmiştir (21). Favipiravir'in otofaji ve apoptozu baskılayarak IVDD'nin tedavisinde potansiyel bir terapötik ajan olup olmadığı sorusuna yanıt aranır bir çalışmada; Hif-1 α , NF- κ B ve IL-1 β sinyal yolları araştırılmıştır (25). Tümör nekroz faktörü- α kaynaklı protein-3 (TNFAIP3)'ün, mTOR sinyal yolağında meydana getirdiği inhibisyonu sağlayarak ve otofajiyi teşvik ederek, enflamatuvar insan NP hücrelerinin dejenerasyonunu iyileştireceği bildirilmektedir (5).

Kalsinörin 1'in (RCAN1) düzenleyicisi olarak da bilinen kalsipressin-1, kalsinörini kalsinörin-A katalitik alanında veya yakınında spesifik olarak bağlayabileceği ve kalsinörin aktivitesini aşağı doğru düzenleyebileceğinin bildirildiği araştırmada, RCAN1'in kalsinörin/NFAT sinyal yolağı aracılığı ile IVD'nin hipoksik adaptasyonu için gerekli olduğu vurgulanmaktadır (7). Melatonin hormonunun, NP hücrelerinde ECM dejenerasyonunu önlemek için nükleer faktör kappa-B (NF- κ B) sinyal yolağı aracılığı ile otofajiyi aktive ettiği (4), küçük molekül fenolik bir bileşik olan kurkumin'in mTOR1c sinyal yolağının farmakolojik inhibisyonu nedeni ile IVD hücresi apoptozunu önlemek için AKT- ve otofajiyeye bağımlı, enflamasyon, hücre yaşlanma ve ECM katabolizmasına olumlu yönde faydalar sağladığı (8), ayrıca kurkumin'in AMPK-mTOR-ULK1 sinyal yolağına bağımlı bir şekilde otofaji akışını artırarak, aşırı ROS üretimini ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğunu engelleyebileceği ve enflamasyonu azaltmak için TFEB nükleer translokasyonunu teşvik edebileceği bilgileri literatürde rastlanmaktadır (9).

Benzer şekilde *Berberis* türlerinin kabuğunda ve kökünde bulunan bir benzil izokinolin alkaloid olan berberin'in antibakteriyel, antiinflamatuvar, antioksidan, antiapoptotik aktivitelerin yanı sıra, NP hücrelerinin apoptozunun ve ECM dejenerasyonunun inhibisyonu da dahil olmak üzere, Bax, Bcl-2, sitokrom-C ve bölünmüş kaspaz-3'ün protein ekspresyonuna ait sinyal yollarına etkisi nedeni ile IVDD'nin tedavisinde otofajiyi aktive edebileceği raporlanmıştır (6).

Resveratrol'ün, sığır IVD kırıkta homeostazisinin güçlü bir anabolik aracısı olduğu ve IVDD'nin ilerlemesini yavaşlatmada benzersiz bir farmakobiyolojik tedavi olma potansiyelini ortaya koyduğunun raporlandığı çalışmada matris metalloproteinaz (MMP)-13, bFGF veya IL-1 gibi bilinen katabolik sinyal yolları incelenmiştir (19). Biglikan türevli bir peptidin, sığır IVD hücreleri ve tavşan dejeneratör diskleri üzerinde, anabolik bir etkiye sahip olduğu ve IVDD'nin tedavisinde potansiyel olarak sahip olduğu, transforme edici büyüme faktörü (TGF)- β 1 sinyal yolağı üzerinden araştırılmıştır (17).

Erken IVDD'nin, NP hücrelerinin fizyolojisi ve korunması için gerekli görünen, kanonik Wnt sinyal yolağının ve caveolin-1 ifadesinin aşağı regülasyonunu içerdiğinden ve bu nedenle caveolin-1'in, IVDD'nin tedavisinde stratejiler geliştirmek açısından heyecan verici bir hedef olarak görülebileceği bahsine literatürde yer veren araştırmada, Wnt/ β -katenin/aksin-2 sinyal yolağı araştırılmıştır (20). Doğal bir bileşik olan andrografolid'in, NF- κ B sinyal yolağını inhibe ederek insan NP hücrelerinin dejenerasyona karşı korunma sağladığının bildirildiği bir çalışmada; ADAMTS4 ve ADAMTS5 gibi dejeneratif medyatörlere ait sinyal yolları, COX2, NF- κ B, PGE2, MMP-13 ve MMP-3 gibi enflamatuvar faktörler, SOX9, ACAN ve tip 2 kolajen (COL2A1) gibi anabolik belirteçler incelenmiştir (18).

Bilindiği üzere interlökin-1 (IL-1) beta (β), IL-1 ailesinin en önemli üyesi olup, çoklu proenflamatuvar aracılardan salgılanmasını uyararak, güçlü bir proenflamatuvar/enflamatuvar aktiviteye sahiptir. IL-1 β 'nin reaktif oksijen türleri (ROS)'u aşırı üretmeye teşvik etmesi sonucunda bozulmuş mitokondri ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu görülür.

IL-1 β ve etkilediği sinyal yollarının IVDD'ye önemli bir katkı sağladığı göz önüne alındığında, IL-1 β inhibitörlerinin kullanımını dejeneratif disk hastalığının tedavisi için geçerli bir yaklaşım olabileceği fikrini akıllara getirmiştir.

Aslında, IL-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra) yüklü polimerik mikrokürelerin nükleus pulpozus (NP) hücreleri ile muamelesi sonrasında katabolik yollarında yer alan gen ifadelerinin azaldığı ve IL-1 β 'nin indüklediği parçalayıcı etkilerin hafifletilerek, glikozaminoglikan içeriğinin artırılabilirliği literatürde raporlanan bilgiler arasındadır. IL-1 β , IVD doku ve hücrelerinde yüksek düzeyde ifade edilir. Buna ek olarak, IL-1 β , IVDD esnasında enflamatuvar yanıtlar, ekstra selüler matris (ECM) katabolizmi, anjiyogenez ve innervasyon, hücre apoptoz, oksidatif stres ve hücre yaşlanmada rol oynamaktadır. Bununla birlikte, IL-1 β 'nin inhibisyonunun ECM onarımını teşvik ettiği ve disk yenilenmesine karşı koruduğu raporlanmıştır (22).

Oral bir antikoagülan ajan olan rivaroksaban'ın insan primer IVD hücre kültürleri üzerine etkilerinin değerlendirildiği araştırmada; kondroaderin gen (CHAD), kırıkta oligo matris protein (COMP), MMP-13 ve MMP-19 genlerine ait ekspresyonlar değerlendirilmiştir (2). Benzer şekilde farklı farmakolojik ajanların ya da farmasötiklerin, insan primer IVD hücre kültürlerinde test edildiği çalışmalarda; NP spesifik protein ailesi üyesi CHAD, hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 alfa (hif-1 α) COL2A1 (10, 12), CHAD, COMP, MMP-7, MMP-13, MMP-19 ve IL-1 β 'a ait gen ifadelerinin (1,3,11,13-16) değerlendirilmeye alındığı görülmektedir.

Ayrıca donapezil ve memantin'in IVDD ve IVD enflamasyonu üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışmada; sinyal dönüşü-

rücü ve transkripsiyon 3 aktivatörü (STAT3) ve fosfo-STAT3, hif-1 α ve nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon alanı (NOD) lösün açısından zengin tekrar (LRR) içeren proteinler (NLR) ailesi pirin alanı, 3 (NLRP3) inflamazom sinyal yolakları değerlendirilmeye alınmıştır (26).

Oseltamivir'in, NLRP3 inflamazom ve NF- κ B'nin aracılık ettiği hücresel yaşlanmayı ve proenflamasyonu inhibe ederek, insan kondrosit ve NP hücrelerini dejenerasyondan korur mu sorusuna yanıt aranırken de HIF1 α , IL-1 β , NF- κ B ve NLRP3 inflamazom sinyal yolakları test edilmiştir (24).

Lopinavir/ritonavir'in IVD'de transkripsiyon faktörleri, sinyal yolakları aracılığı ile enflamasyonun düzenlenmesine aracılık ederek, NP dejenerasyonunu önleyebilir mi sorusuna yanıt aranırken ise IL-1 β , cinsiyet belirleyici bölge Y (SRY) proteini ile ilişkili yüksek hareketli grup kutusu genleri-9 (SOX9), HIF-1 α ve NF- κ B sinyal yolakları araştırılmıştır (23).

HMG-CoA redüktaz inhibitörlerinin, IVDD ile ilişkili anabolik ve katabolik sinyal yolaklarında görevli proteinleri üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmada IL-1 β /NF- κ B/SOX9 sinyal yolağı değerlendirilmiştir (27).

Sonuç olarak, IVDD sürecinde yer alan önemli sinyal yolaklarının manipülasyonu amacı ile farmakolojik olarak hedeflenmenin, gelecekte rejenerasyona yönelik tedaviler için ümit verici olabilir, ancak olumsuz yan etkiler ve ilaçların spesifik olmaması nedeniyle güncel kanıtların kısıtlı olduğu unutulmamalıdır. Bu noktada, laboratuvarında gerçekleştirilecek olan araştırmaların klinik uygulanabilirliği ve gerçek hastalık durumları üzerindeki etkileri daha ayrıntılı olarak incelenmelidir.

KAYNAKLAR

1. Akgun FS, Sirin DY, Yilmaz I, Karaarslan N, Ozbek H, Simsek AT, Kaya YE, Kaplan N, Akyuva Y, Caliskan T, Ates O: Investigation of the effect of dipyron on cells isolated from intervertebral disc tissue. *Exp Ther Med* 18:216-224, 2019
2. Caliskan T, Akalan H, Yilmaz I, Karaarslan N, Sirin DY, Ozbek H: The effects of rivaroxaban, an oral anticoagulant, on human IVD primary cultures. *Arch Med Sci* 18:1062-1070, 2021
3. Caliskan T, Sirin DY, Karaarslan N, Yilmaz I, Ozbek H, Akyuva Y, Kaplan N, Kaya YE, Simsek AT, Guzelant AY, Ates O: Effects of etanercept, a tumor necrosis factor receptor fusion protein, on primary cell cultures prepared from intact human intervertebral disc tissue. *Exp Ther Med* 18:69-76, 2019
4. Chen F, Liu H, Wang X, Li Z, Zhang J, Pei Y, Zheng Z, Wang J: Melatonin activates autophagy via the NF- κ B signaling pathway to prevent extracellular matrix degeneration in intervertebral disc. *Osteoarthritis Cartilage* 28:1121-1132, 2020.
5. Chen J, Ma Y, Yang Z, Lan H, Liu G, Zhang Y, Xia H, Wang X, Han F, Tu X, Liu B: TNFAIP3 ameliorates the degeneration of inflammatory human nucleus pulposus cells by inhibiting mTOR signaling and promoting autophagy. *Aging (Albany NY)* 12: 24242-24254, 2020
6. Chen Y, Zheng Z, Wang J, Tang C, Khor S, Chen J, Chen X, Zhang Z, Tang Q, Wang C, Lou Y, Wang Z, Xiao J, Wang X: Berberine suppresses apoptosis and extracellular matrix (ECM) degradation in nucleus pulposus cells and ameliorates disc degeneration in a rodent model. *Int J Biol Sci* 14:682-692, 2018
7. Huang B, He Y, Li S, Wei X, Liu J, Shan Z, Huang Y, Chen J, Zhao F: The RCAN1.4-calcineurin/NFAT signaling pathway is essential for hypoxic adaption of intervertebral discs. *Exp Mol Med* 52:865-875, 2020
8. Kakiuchi Y, Yurube T, Kakutani K, Takada T, Ito M, Takeoka Y, Kanda Y, Miyazaki S, Kuroda R, Nishida K: Pharmacological inhibition of mTORC1 but not mTORC2 protects against human disc cellular apoptosis, senescence, and extracellular matrix catabolism through Akt and autophagy induction. *Osteoarthritis Cartilage* 27:965-976, 2019
9. Kang L, Xiang Q, Zhan S, Song Y, Wang K, Zhao K, Li S, Shao Z, Yang C, Zhang Y: Restoration of autophagic flux rescues oxidative damage and mitochondrial dysfunction to protect against intervertebral disc degeneration. *Oxid Med Cell Longev* 2019:7810320, 2019
10. Karaarslan N, Yilmaz I, Ozbek H, Sirin DY, Kaplan N, Akyuva Y, Gonultas A, Ates O: Are specific gene expressions of extracellular matrix and nucleus pulposus affected by primary cell cultures prepared from intact or degenerative intervertebral disc tissues? *Turk Neurosurg* 29:43-52, 2019
11. Karaarslan N, Yilmaz I, Sirin DY: Toxicity of the acetyl-para-aminophenol group of medicines to intact intervertebral disc tissue cells. *Exp Ther Med* 21:147, 2021
12. Karaarslan N, Yilmaz I, Sirin DY, Ozbek H, Kaplan N, Kaya YE, Akyuva Y, Gurbuz MS, Oznam K, Ates O: Pregabalin treatment for neuropathic pain may damage intervertebral disc tissue. *Exp Ther Med* 16:1259-1265, 2018
13. Kaplan N, Karaarslan N, Yilmaz I, Sirin DY, Akgun FS, Caliskan T, Simsek AT, Ozbek H: Are intervertebral disc tissue cells damaged when attempting to prevent thrombus formation using dabigatran, a new oral anticoagulant? *Turk Neurosurg* 29:470-477, 2019
14. Kaplan N, Yilmaz I, Karaarslan N, Sirin DY, Simsek AT, Caliskan T, Bircan R, Ozbek H: Evaluation of the effect of daptomycin, a glycopeptide agent, on intact intervertebral disc tissue. *Turk Neurosurg* 29:522-529, 2019
15. Kaya YE, Karaarslan N, Sirin DY, Ozbek H, Kaplan N, Yilmaz I: Investigation of the effects of methylphenidate, an amphetamine derivative, on intervertebral disc tissue cell cultures and matrix structures. *Turk Neurosurg* 29:734-742, 2019
16. Kaya YE, Karaarslan N, Yilmaz I, Sirin DY, Akalan H, Ozbek H: A study of the effects of metformin, a biguanide derivative, on annulus fibrosus and nucleus pulposus cells. *Turk Neurosurg* 30:434-441, 2020.
17. Kwon YJ, Lee JW, Moon EJ, Chung YG, Kim OS, Kim HJ: Anabolic effects of Peniel 2000, a peptide that regulates TGF- β 1 signaling on intervertebral disc degeneration. *Spine (Phila Pa 1976)* 38:49-58, 2013
19. Liu J, Jiang T, He M, Fang D, Shen C, Le Y, He M, Zhao J, Zheng L: Andrographolide prevents human nucleus pulposus cells against degeneration by inhibiting the NF- κ B pathway. *J Cell Physiol* 234:9631-9639, 2019
18. Li X, Phillips FM, An HS, Ellman M, Thonar EJ, Wu W, Park D, Im HJ: The action of resveratrol, a phytoestrogen found in grapes, on the intervertebral disc. *Spine (Phila Pa 1976)* 33: 2586-2595, 2008

20. Smolders LA, Meij BP, Onis D, Riemers FM, Bergknut N, Wubboldts R, Grinwis GC, Houweling M, Groot Koerkamp MJ, van Leenen D, Holstege FC, Hazewinkel HA, Creemers LB, Penning LC, Tryfonidou MA: Gene expression profiling of early intervertebral disc degeneration reveals a down-regulation of canonical Wnt signaling and caveolin-1 expression: Implications for development of regenerative strategies. *Arthritis Res Ther* 15:23, 2013
21. Wang J, Zhang Y, Cao J, Wang Y, Anwar N, Zhang Z, Zhang D, Ma Y, Xiao Y, Xiao L, Wang X: The role of autophagy in bone metabolism and clinical significance. *Autophagy* 19: 2409-2427, 2023
22. Yang W, Yu XH, Wang C, He WS, Zhang SJ, Yan YG, Zhang J, Xiang YX, Wang WJ: Interleukin-1 β in intervertebral disk degeneration. *Clin Chim Acta* 450:262-272, 2015
23. Yılmaz I, Akalan H, Karaarslan N, Yasar Sirin D, Kaplan N, Dogan M, Ozbek H, Ates O: Can transcription factors in the intervertebral disc of lopinavir/ritonavir prevent degeneration in the nucleus pulposus by mediating the regulation of inflammation through signaling pathways? *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 26:6845-6855, 2022
24. Yılmaz I, Akalan H, Oznam K, Karaarslan N, Yasar Sirin D, Ozbek H: Does oseltamivir protect human chondrocyte and nucleus pulposus cells from degeneration by inhibiting senescence and proinflammation mediated by the NLRP3 inflammasome and NF- κ B? *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 26: 4816-4827, 2022
25. Yılmaz I, Akalan H, Sirin DY, Karaarslan N, Ozbek H, Ates O: Is favipiravir a potential therapeutic agent in the treatment of intervertebral disc degeneration by suppressing autophagy and apoptosis? *Turk Neurosurg* 32:680-687, 2022
26. Yılmaz I, Akalan H, Yasar Sirin D, Karaarslan N, Kaplan N, Ozbek H: Effects of an acetylcholinesterase inhibitor and an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist on inflammation and degeneration of the nucleus pulposus. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 26:4409-4419, 2022
27. Yılmaz I, Karaarslan N: Examining the effects of HMG-CoA reductase inhibitors on anabolic and catabolic signaling pathway proteins associated with degenerative disc disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 26:2990-3000, 2022