

Mehmet Ali TEPEBAŞILI <sup>ORCID</sup>, Mehmet Yiğit AKGÜN <sup>ORCID</sup>, Özkan ATEŞ <sup>ORCID</sup>

Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Türkiye

✉ myigitakgun@gmail.com

Derleme / Review

Geliş tarihi: 14.05.2024

Kabul tarihi: 29.05.2024

# Hücre Yaşlanmasına Bağlı İntervertebral Disk Dejenerasyonunun Hedefe Yönelik Tedavileri

## Targeted Treatments for Intervertebral Disc Degeneration Due to Cell Senescence

### Öz

İntervertebral disk dejenerasyonu, bel ağrısının başlıca sebeplerinden biri olan intervertebral diskin ilerleyici yapısal bozukluğu olarak tanımlanır. Dejenerasyon; inflamasyon, oksidatif stres, mekanik stres ve genetik gibi birçok faktörün etkilediği hücresel yaşlanmanın sonucunda gelişebilir. Hücre yaşlanması, hücre döngüsünün geri dönüşsüz olarak durması ve yaşlanmayla ilişkili moleküllerin salgılanması olarak tanımlanır. Bu sürecin aydınlatılması hücre yaşlanmasını hedef alan tedavi stratejileri geliştirmek için büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda geliştirilen bazı tedavilerin sonuçları umut verici görünmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** AMPK/GSK3 $\beta$ , İntervertebral disk dejenerasyonu, Hücresel yaşlanma, mTOR

### ABSTRACT

Intervertebral disc degeneration is defined as the progressive structural disorder of the intervertebral disc, which is one of the main causes of low back pain. Degeneration may develop as a result of cell senescence, which is affected by many factors such as inflammation, oxidative stress, mechanical stress, and genetics. Cell senescence is defined as the irreversible cessation of the cell cycle and the secretion of aging-related molecules. Elucidating this process is of great importance for developing treatment strategies targeting cell aging. The results of some treatments developed in recent years seem promising.

**Keywords:** AMPK/GSK3 $\beta$ , Cellular senescence, Intervertebral disc degeneration, mTOR

### GİRİŞ

Bel ağrısı, en yaygın klinik sağlık sorunlarından biri olmakla birlikte, kişilerin yaşam kalitesini düşürmekte ve engellemektedir. Ayrıca tüm dünya ülkelerinde sağlık ekonomilerine de yük getirmektedir. Bel ağrısının en önemli nedenlerinden olan intervertebral disk (İVD) dejenerasyonu (İVDD), diskin ilerleyici yapısal bozukluğunun patofizyolojik sürecini ifade eder. Karmaşık bir süreç olan bu patogeneze, temel olarak hücresel yaşlanma (CS), enflamasyon, oksidatif stres, mekanik stres ve genetik faktörleri içerir. Bu faktörler İVD hücre dışı matris (ECM)'inin degradasyonuna neden olarak diskin işlevsel bozukluğuna ve yapısal hasarına yol açar.

#### İntervertebral Disk Yapısı

Nükleus pulposus (NP), anulus fibrozus (AF) ve iki kırıkda yapıda end plate (CEP) olmak üzere üç kısımdan oluşur. NP'yi çevreleyen AF, esas olarak, omurganın ağır yük altındayken NP'nin disk mesafesinden taşmasını önler. Yapıların beslenmesi, end plateler üzerinden difüzyon ile ger-

çekleşir, kan damarları ve sinirlerden yoksun bir dokudur (29). Dolayısıyla hasarlanmasından sonra onarılması çok yavaş ve zor bir süreçtir. NP hücreleri İVD hacminin yalnızca %1'ini oluştursa da İVD'nin fizyolojisi ve biyomekaniğinde en önemli rolü oynarlar. NP, esas olarak tip II kolajen (Col2A1) ve proteoglikanları içeren NP hücreleri ve ECM'den oluşur. NP'nin ECM'si, İVD'nin yapısal ve işlevsel bütünlüğünü korumak ve İVDD'nin önlenmesine yardımcı olmak için önemlidir (30). ECM yüklenme sırasında omurganın aksiyal basıncına karşı koymaya ve iletme yardımcıdır. ECM bileşiminin ve içeriğinin dinamik dengesi, NP'nin yapısal ve işlevsel bütünlüğünü belirler. Dejenere NP hücrelerinde yüksek oranda bulunan, matriks metaloproteinaz (MMP)'lar ve trombospondin motifli disintegrin ve metalloproteinaz (ADAMTS)-5 gibi ECM katabolik yolak enzimleri, ECM'nin bozularak degrade olmasına yol açarlar. Bu nedenle İVDD tedavisinin anahtarı olan ECM anabolizmi ve katabolizminin dinamik dengesi büyük bir önem arz eder (36,46).

## Hücresel Yaşlanma ve İVDD

Çalışmalar, İVDD prevalansının yaşla birlikte önemli ölçüde arttığını bulmuştur. Bazı histolojik çalışmalar İVD hücrelerinin yaşamın ikinci dekadında yaşlanmaya başladığını göstermiştir (8). CS, geri dönüşsüz bir şekilde hücre döngüsü durması ve yaşlanmayla ilişkili salgı fenotipi (SASP) ile karakterize edilir. SASP, farklı kemokinler, proenflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri ve ECM *re-modelling* enzimleri salgılayan yaşlanmış hücrelerin durumunu ifade eder. Yaşlanan hücreler, proenflamatuvar sitokinler ve kemokinler, büyüme düzenleyicileri, anjiyogenik faktörler ve MMP gibi çok sayıda molekül salgılar. Col2A1 ve proteoglikanın bozulmasıyla birlikte MMP-13, ADAMTS-4 ve ADAMTS-5 gibi ECM proteazlarının ifade seviyelerinin yaşlanan İVD'de önemli ölçüde eksprese edildiği gösterilmiştir (1,35). Bu nedenle İVD hücrelerinde yaşlanmanın nasıl gerçekleştiğine ilişkin spesifik yolakları tam anlamıyla keşfedebilmek İVDD'ye yönelik tedaviler için önemlidir.

CS, hücre proliferasyonunun geri dönüşsüz kaybı ve deoksiribonükleik asit (DNA)'de onarılmayan hasarların birikmesi sürecidir. Aslında bu süreç, hücre döngüsünün durdurulmasını başlatarak potansiyel olarak zararlı hücreleri ortadan kaldıran insan hücrelerinin bir stres tepkisidir. Ayrıca replikatif hücre döngülerini takiben telomer uzunluğunun kritik kısalması nedeniyle hücre proliferasyonunun durması olarak da tanımlanabilir. Bu süreç, yeni deneysel bulgularla sürekli gelişmekte olan karmaşık ve çok adımlı dinamik bir süreçtir. Erken CS adımı genellikle hücrelerin, yaşlanma ve yaşlanmayla bağlantılı bir tümör baskılayıcı ve hücre döngüsü düzenleyicisi olmakla birlikte çeşitli biyolojik süreçlerde önemli roller üstlenen p16<sup>INK4a</sup> ve/veya p53-p21 sinyal yolaklarının sürekli aktivasyonu nedeni ile stabil hücre döngüsü durdurma aşamasına girmek için hücre döngüsünden çıkmasıyla tanımlanır. Tam CS ise erken CS hücreleri zamanla morfolojik değişikliklere, kromatinin yeniden yapılması ve SASP faktörlerinin salgılanmasına maruz kaldığında ortaya çıkar (35).

Temel olarak iki tür CS vardır. Bunlardan ilki telomer kısalmasının neden olduğu replikatif yaşlanma (RS)'dir. İkincisi ise DNA hasarının ve diğer hücresel stres türlerinin birikmesinden kaynaklanan stres kaynaklı erken yaşlanma (SIPS)'dir. Yaşlanmayı aktive eden telomer erozyonu, DNA hasarı, lizozomal stres ve onkogen aktivasyonu gibi birçok uyaran stres tetikleyicileridir. Bu stresörler hücre döngüsü durmasını ve mitojenik-onkogenik dönüşüme karşı direnci aktive ederek CS'ye yol açar. Kronik yaşlanmanın indüklenmesi ve lokal mikro çevrede yaşlanan hücrelerin birikmesi doku hasarına ve dejenerasyona yol açar (27).

CS'in bilinen klasik moleküler sinyal yolları arasında rapamisin memeli hedefi (mTOR), 5' adenosin monofosfat ile aktive olan protein kinaz (AMPK), nükleer faktör kappa-B (NF-κB), sirtuin (SIRT)'ler ve p16<sup>INK4a</sup>, p53 gibi tümör baskılayıcı proteinler yer alır. Çalışmalar, interlökin (IL)-1 beta (1β) gibi enflamatuvar araçların, ECM'nin metabolik homeostazisini bozduğunu göstermiştir. Son yıllarda, mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun reaktif oksijen türleri (ROS)'nin üretimini arttırdığına ve artan bu aşırı ROS'un İVD'nin ECM metabolizmasını, proenflamatuvar fenotipini, otofajisini, CS'ini ve apoptozunu etkileyerek, İVDD'yi aktive ettiğine dair artan raporlar vardır (35).

Yaşlanan hücreleri ve yaşlanma sürecini tanımlamak için, p53, p21<sup>CIP1</sup>, p16<sup>INK4a</sup> ve retinoblastoma (RB) fosforilasyonu gibi hücre döngüsü kontrolü mitojenik kinazlarının artan ekspresyonu dahil olmak üzere birçok biyobelirteç kullanılır. CS'nin diğer biyolojik belirteçleri arasında telomer hasarı, artan SASP faktörleri seviyeleri, yaşlanmayla ilişkili beta-galaktosidaz (SA-β-gal) aktivitesi ve Bax-1 gibi anti-apoptotik belirteçlerin ifadesi yer alır (14). Yaşlanan hücrelerin heterojenliği ve CS'yi güvenilir bir şekilde belirleyen tek bir spesifik belirtecin bulunmaması nedeniyle yaşlanmayı tek bir biyobelirteçle tanımlamak zordur. Bu nedenle CS'nin varlığını doğrulamak için birden fazla biyobelirteç kullanmak önemlidir.

Gerek insan gönüllülerde gerekse canlı memeli deneklerin kullanıldığı deneysel İVDD modellerinde, yaşlanan hücrelerin sayısının arttığı bildirilmiştir (40). İnsan İVD dokusu üzerinde yapılan daha önceki çalışmalarda, herniye disklerdeki SA-β-gal pozitif hücrelerde, herniye olmayan disklerdekiyle kıyasla bir artış olduğu gösterilmiştir. Ek olarak p16<sup>INK4a</sup>'nın dejenere olan disk dokularında artmasının yanında, dejenere olmamış yaşlı bireylerin disk dokusunda da artmış olduğu bildirilmiştir. Ayrıca iyonize radyasyonun disk hücrelerinin yaşlanmasında SASP benzeri bir etkisinin olduğundan da bahsedilmektedir (38).

Hücre kültürü modelleri; CS mekanizmalarını ve bunun İVDD üzerindeki etkisini incelemek için yararlı araçlar olmuştur. Disk hücrelerinin dış uyaranlarla uyarılmasının, SIPS'in aktivasyonuna yol açtığı ve bunun, *in-vivo* İVD çalışmalarının yanı sıra CS ve İVDD'yi incelemek için kullanılabilirliği literatürde yerini almıştır. Tipik olarak kültüre edilerek hazırlanan hücrelerin, genotoksik veya oksidatif strese maruz bırakıldıktan sonraki yaklaşık iki hafta içerisinde SIPS'te görülen gerçek yaşlanma fenotipininin oluştuğu raporlanmıştır (35,39).

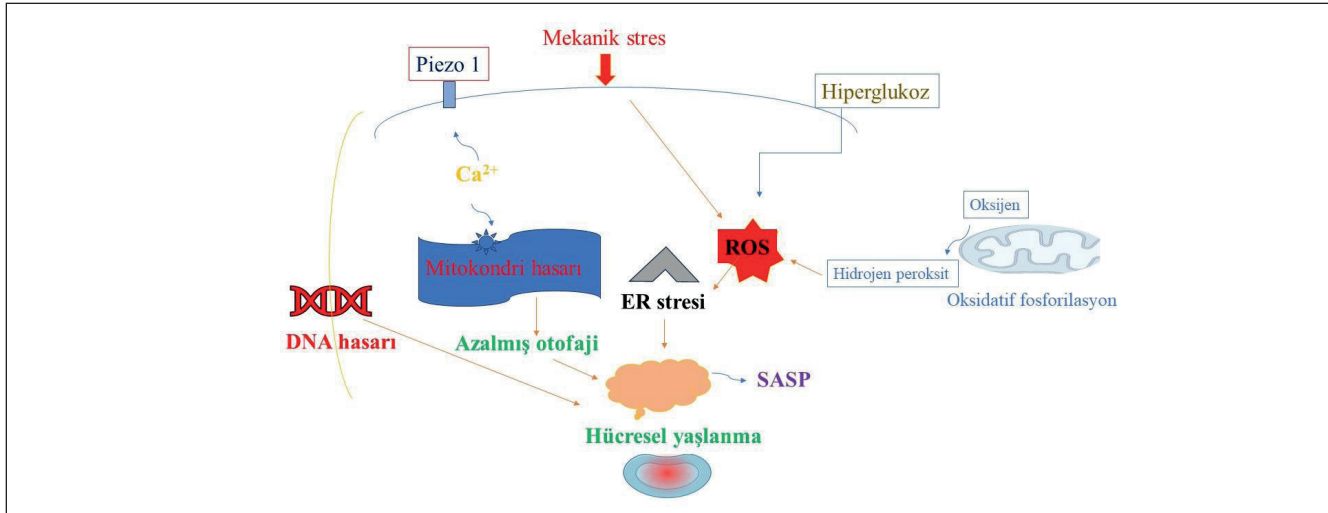
## CS Etiyolojisi

### Mekanik Stres

Anormal mekanik stres İVDD'nin patogeneğinde önemli bir etiyolojik faktördür. İVD'deki mekanik stresi diskteki CS mekanisi ile ilişkilendiren çeşitli çalışmalar yayınlanmıştır. Mekanosensitif bir iyon kanalı olan Piezo1, mekanik stresi İVDD'deki biyolojik sinyallere dönüştürmede önemli bir rol oynar. Piezo1 ekspresyonu İVDD hastalarının NP hücrelerinde sağlıklı insanlara kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aşırı mekanik stres, mitokondriyal hasara ve enflamatuvar yanıtlara yol açarak Piezo1 aşırı ifadesine neden olur. Bu durum apoptozu tetikler ve otofajiyi azaltır, sonuç olarak CS ve hücresel işlev bozukluğu ile sonuçlanır (33,34).

Piezo1'in spesifik bir aktivatörü, mekanik duyarlı iyon kanalı Piezo1 için geliştirilmiş ilk agonist olan Yoda1'in, insan NP hücrelerinde NF-κB ve CS'nin aktivasyonuna yol açan Ca<sup>2+</sup> akışını indüklediği ve *in-vivo* olarak sıçanlarda şiddetli İVDD ile sonuçlandığı bildirilmiştir (34). ECM basıncı da Piezo1'i aktive ederek hücre içi Ca<sup>2+</sup> seviyelerinin, ROS ve endoplazmik retikulum (ER) stresinin artmasına yol açarak CS'yi tetikler (34).

Hücre kültüründe yapılan bir çalışmada, NP hücrelerine mekanik stres uygulanması CS belirteçleri olan p53 ve p16<sup>INK4a</sup>'nın ekspresyonunu artırmıştır (43). Diğer bir çalışmada, mekanik stresin NF-κB yoluyla yaşlanmaya ve SASP'a neden olduğu gösterilmiştir. Döngüsel mekanik strese uzun süreli maruz kalma, DNA hasarı ve oksidatif stresten bağımsız



Şekil 1: Mekanik stres ve hiperglukoz aracılığı ile İVD'de ROS artışı ve DNA hasarına bağlı olarak CS sürecinin oluşumu.

olarak p53-p21-RB yolağının aktivasyonu yoluyla NP hücrelerinin erken yaşlanmasının indüklenmesine yol açtığı bildirilmiştir (10).

Sıçan NP hücrelerinde yapılan mekanik bir çalışma, artan mitokondriyal hasar ve oksidatif stresle ilişkili yaşlanmanın, mekanik aşırı yüklemekten sonra meydana geldiğini ve bu mitokondriyal hasar/oksidatif stresin, NP hücrelerinde makrofaj göçü inhibe edici faktör aracılı mitofaji tarafından düzenlendiğini ortaya çıkardı (41). Farklı şekillerde İVD'ye uygulanan mekanik streslerin hücresel düzeyde gelişen CS'ye yol açan birçok biyolojik sinyal olaylarını aktive edebildiği görülüyor (Şekil 1).

### Enflamasyon

Dejeneratif İVD'lerde proenflamatuvar sitokinler olan tümör nekroze edici faktör alfa (TNF- $\alpha$ ), IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi belirteçlerde önemli bir artış gözlenir. Enflamasyon disk ECM katabolizmasını teşvik ederek diskte yapısal değişikliğe yol açar. Her ne kadar enflamatuvar stresin İVDD'ye katkıda bulunmadaki rolü iyi bilinse de enflamatuvar stresin, CS'deki rolü net değildir. NP hücrelerinin IL-1 $\beta$  veya TNF- $\alpha$  gibi proenflamatuvar sitokinlerle uyarılması, SA- $\beta$ -gal ve diğer yaşlanma belirteçleri p16<sup>INK4a</sup>, p21, p53'ün artan seviyesi ve proliferasyon kaybı ile erken veya akut CS'yi indükleyebildiği raporlanmıştır (3,32).

Replikatif olarak yaşlanan sıçan NP hücrelerinde N-asetillenmiş prolin-glisin-prolin (N-Ac-PGP), p53-p21 yolunu aktive ederek DNA hasarını artırıp sistein-amino asit-sistein (CXC) kemokin reseptörleri (CXCR)-1 eksenini üzerinden p16<sup>INK4a</sup> ekspresyonunu upregüle ederek ROS üretimini teşvik eder. *İn-vivo* olarak, N-Ac-PGP ile muamele edilen NP hücrelerinin sıçan diskine nakli sonrasında, İVD'de dejeneratif değişikliklerle sonuçlanmıştır (11).

Toll-benzeri reseptör (TLR)'ler tarafından aktive edilen enflamatuvar sinyaller de İVDD'ye katkıda bulunduğu bildirilmiştir. İzole edilmiş insan İVD hücrelerinde çeşitli TLR'ler tespit edilmesine rağmen, TLR-1/2/3/4 ve -6 ekspresyonunun İVDD derecesine bağlı olduğu raporlanmıştır (21,22).

Yapılan çoğu *in-vitro* çalışmayla, CS belirteçlerinde inflamatuvar uyarılarla akut bir artış görülmesine rağmen, spesifik

reseptör aracılı sinyal yollarının CS'yi yönlendirmedeki rolleri hâlâ tam olarak anlaşılamamıştır.

### Metabolik Stres

Yaşlanan hücrelerdeki metabolik değişiklik, metabolitlerin ve zararlı yan ürünlerin birikmesine yol açarak CS'yi tetikleyecek asidoz, hiperglisemi ve hipoksi gibi fizyolojik değişikliklere neden olur. İVD mikro çevresi avasküler bir bölge olduğundan yüksek asidite, düşük glikoz, hipoksi ve hiperosmolarite ile karakterizedir.

Sağlıklı bir diskte normal pH 7,1 olup laktik asit birikimi ve proton (H<sup>+</sup>) taşınmasındaki başarısızlık nedeniyle dejenere disklerde 6,5 veya altına düşer (44). Asit algılayan iyon kanal (ASIC)'leri, dejenere insan NP hücrelerinde artan ASIC1 ve ASIC3 seviyeleri ile pH'taki değişime yanıt olarak aktive edilir. Yapılan bir çalışmada iki gün boyunca asidik ortamda (pH 6,6) kültürlenmiş NP hücrelerinde, ASIC1 ve ASIC3'ün up-regülasyonu tetiklenerek hücre döngüsünün durması, artmış IL-6 ve IL-8 indüksiyonuna bağlı SASP ve artmış SA- $\beta$ -gal, Rb1, p53, p21 ve p16<sup>INK4a</sup> 'ya bağlı CS gözlenmiş; bu hücrelerin ASIC inhibitörleriyle tedavi edilerek kurtarıldığı bildirilmiştir (7).

DNA hasarı yanıtları, stres sensörlerinin telanjiektazi susturulmuş (ATM) veya ataksi telanjiektazi ve Rad3 ile ilişkili (ATR) kinazlarını aktive eder. ATM/ATR, hem p53'ü hem de onun ubiquitin ligazı Mdm2'yi fosforile ederek p53/p21cip1 eksenini aktive eder ve p53 seviyelerinin stabilizasyonuna yol açar. ATM'ye bağlı p53 birikimi ve p21<sup>waf1</sup> 'in indüksiyonu, DNA hasarını takiben G1 hücre döngüsü kontrol noktasının durdurulması için önemli olaylardır. Hiperosmolaritenin, RB'nin hipofosforilasyonuna yol açan ATM-p53-p21<sup>waf1</sup> ekseninin aktivasyonu yoluyla NP hücrelerinde DNA çift sarmal parçalanmasını ve hücre döngüsü durmasını indüklediği bildirilmiştir (25,35).

Tip 2 diabetes mellitusun birçok ko-morbiditeye sebep olduğu bildirilmekle birlikte hipergliseminin hem disk hücre kültürlerinde hem de diyabetik sıçanlarda CS'yi ve İVDD'yi hızlandırdığı gösterilmiştir. Hücre kültürü çalışmaları, hipergliseminin ROS seviyesindeki artış ve NF- $\kappa$ B sinyal yolağının aktivasyonu yoluyla NP hücrelerinin erken yaşlanmasına neden olduğunu göstermiştir (18,28). Bu veriler diyabetik has-

tarların CS ve yaşa bağlı İVDD riskinin daha yüksek olduğunu göstermektedir.

### Oksidatif Stres

Yaşlı ve dejenere İVD'lerde yeni gelişen hasarları onarma yeteneğinin azalması nedeniyle oksidatif stres ve buna bağlı hasar riski artmıştır. ROS, DNA hasarına sebep olarak CS'yi indükleyebilir, bu sebeple ROS ile ilgili moleküler sinyal modülasyonu, İVD yaşlanmasını ve dejenerasyonunu kontrol etmek için hedeflenebilir (4). Ayrıca mekanik stres de ROS seviyesinin artmasına ve dolaylı olarak CS'ye yol açabilir. Mekanik stres sonucu artan ROS ve hücre içi  $Ca^{2+}$  seviyeleri, yaşlanma ve apoptozun tetiklenmesinden sorumlu olan ER stresini aktive eder. ROS, mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna sekonder ATP sentezinin bir yan ürünü olarak büyük miktarlarda birikip NP hücrelerinde yaşlanmaya yol açabilir (12).

Gelişmiş oksidasyon protein ürünleri (AOPP), oksidasyon aracılı protein hasarının yeni keşfedilen biyobelirteçleridir ve osteoartrit gibi dejeneratif hastalıklar da dahil olmak üzere çeşitli patolojik değişikliklerde rol oynarlar. AOPP'deki artışın, AF hücreleri kullanılan bir deneysel İVDD sıçan modelinde yaşlanma belirteçlerini (p53, p21 ve p16<sup>INK4a</sup>) ve pro-enflamatuar sitokinlerin (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) artırdığı gösterilmiştir (24).

Hücreleri stres kaynaklı mitokondriyal disfonksiyondan koruduğu düşünülen, fosfataz ve tensin homoloğu (PTEN) ile indüklenen kinaz-1 (PINK1)'in, mitokondriyal otofajinin düzenlenmesine ilgili bir mekanizma ile hasarlı mitokondrinin temizlenmesinde ve oksidatif stres altında NP hücrelerinin yaşlanmasının hafifletilmesinde koruyucu bir rol oynadığı ileri sürülmektedir. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ile muamele edilmiş NP hücrelerinde PINK1'in downregülasyonunun, yaşlanan NP hücrelerinin oranında önemli bir artışla sonuçlandığı bulunmuştur (42).

### Hedefe Yönelik Tedavi Çalışmaları

Yaşlanan hücrelerin sayısı yaş ilerledikçe doğal olarak artar ve bu hücrelerin ortadan kaldırılması yaşlanmayla ilişkili değişiklikleri önleyebilir veya geciktirebilir. Senolitikler gibi 900 Dalton'dan küçük moleküller, özellikle yaşlanma sırasında upregüle olan pro-survival veya anti-apoptotik yolları inhibe ederek apoptozu indüklemek için yaşlanan hücreleri hedef alan bir terapötik sınıftır. Fibrotik akciğer hastalığı, osteoporoz gibi patolojik durumlarda çeşitli küçük moleküller ve ilaçlar senolitik olarak kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (9). Ancak disk dejenerasyonu bağlamındaki terapötik potansiyellerinin araştırılması henüz başlangıç aşamasındadır.

Bu konuda çeşitli moleküler yolları hedef alan moleküler tedavi yöntemleri çalışılmaktadır. Bir kinaz inhibitörü olan dasatinib (D), Src ailesi tirozin kinazlarını inhibe ederek Sn-C'lerde apoptozu indüklerken, bir polifenol olan kuersetin (Q) bunu anti-apoptotik protein olan B hücreli lenfoma-ekstra büyük (Bcl-xL)'yi inhibe ederek yapar. D+Q, hızlandırılmış yaşlanmanın *Erc1<sup>-Δ</sup>* fare modelinde İVDD'yi gösterilen ilk senolitikler olarak bildirilmiştir. Q'nun IL-1 $\beta$  ile indüklenen CS'yi önlediği ve iğne ile hasarlanarak deneysel İVDD oluşturulan bir sıçan modelinde NF- $\kappa$ B sinyal yolağının inhibisyonu ve antioksidan nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2)'nin aktivasyonu üzerinden İVDD'yi iyileştirdiği bildirildi. D+Q kombinasyonu ile aralıklı tedavinin, yaşlanan farelerde İVD sağlığını iyileştirebileceği iddia edilmiştir (26,48).

Doğal bir bileşik olan Morronisit,  $H_2O_2$  ile indüklenen bir NP CS hücre kültürü modelinde ve cerrahi olarak indüklenen bir İVDD sıçan modelinde, İVDD düzeyinin hafifletilmesinde etkili olduğu bildirilmiştir. Morronisit, CS sinyalini zayıflatmak için ROS-Hippo-p53 sinyal yolağını inhibe ettiği saptanmıştır. Ayrıca ECM bozulmasının önlenmesine de katkı sağlamaktadır (47).

Kurkumin, yaşlanmayla ilişkili patolojiler de dahil olmak üzere çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılan doğal bir terapötik bileşiktir (13). Kurkumin, insan NP hücrelerinde anti-apoptotik ve anti-yaşlanma etkileri gösterdiği ve bir sıçan modelinde İVDD ilerlemesini önlediği bildirilmiştir. İnsan NP hücrelerine kurkumin veya metaboliti olan o-vanilin uygulanması, hücre kültüründe p16<sup>INK4a</sup> pozitif hücrelerin sayısını azalttığı ve Ki-67 ve kaspaz-3 pozitif hücrelerin sayısını artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca o-vanilin kullanımının dejenere disklerden alınan hücre kültüründeki yaşlanan hücrelerin sayısını azalttığı ve İVDD olan hastalardan izole edilen disk hücrelerinin TLR-2 kaynaklı CS'yi inhibe ettiği görülmüştür (5,19).

Birçok bitki, sebze ve meyvede bulunan doğal bir flavonoid olan apigenin'in CS yolağını modüle ederek İVDD üzerinde önleyici etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Apigenin, otofajiyi artırmak için AMPK/mTOR/transkripsiyon faktörü-EB (TFEB) sinyal yolağını uyardığı ve böylece oksidatif stresi azaltarak NP hücrelerinin yaşlanması azaltabileceği hem *in-vitro* hem de *in-vivo* modellerde gösterilmiştir (45). Manolya ağaçlarının kabuğundan ekstrakte edilen küçük molekül ağırlıklı doğal bir bileşik olan Honokiol'ün, oksidan madde ile muamele edilmiş NP hücrelerinde erken yaşlanmayı ve apoptozu baskılamak için AMPK/ peroksizom proliferatörüyle aktiveleştirilen reseptör ortak aktivatörü 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ )/SIRT3 eksenini üzerinden SIRT3'ü aktive ettiği rapor edilmiştir (6). Kırmızı şarapta bulunan bir polifenol bileşik olan Resveratrol'ün, yüksek glikozun neden olduğu NP hücre apoptozunu ve yaşlanmasını geriletmediği rapor edilmiştir. Oksidatif stresin neden olduğu erken yaşlanmada Resveratrol, *fork-head box* (FOX)O protein-1 (FOXO1)-aktin (Akt) yolunun inhibisyonu yoluyla SIRT1'i aktive ederek İVDD'yi inhibe eder (16). Yapılan bir çalışmada, Resveratrol'un İVDD'nin kronik enflamatuar mikro çevresini taklit eden TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'ya uzun süreli maruz kalmanın neden olduğu sıçan NP hücrelerinin yaşlanmasını inhibe ettiği bildirilmiştir (23).

Hipoglisemik bir farmasötik olan metformin'in, p16<sup>INK4a</sup>, p53 ve p21<sup>CIP1</sup> ve cGAS/STING/NF- $\kappa$ B sinyal yollarından oluşan eksenin ekspresyonunu inhibe ederek, oksidatif strese maruz kalan sıçan NP hücrelerini yaşlanmaya karşı koruduğu gösterilmiştir. Metformin'in hem *in-vitro* hem de *in-vivo* otofajiyi indükleyerek cGAS/STING yolağını inhibe ettiği bildirilmiştir. Lipopolisakkarit (LPS) ile uyarılan sıçan AF hücrelerinde metformin, prostoglandin-E2 (PGE2) ve yüksek hareketlilik grubu kutu-1 (HMGB1) proteininin yanı sıra CS belirteçlerinin üretimini de inhibe ederek İVDD tedavisinde senoterapötik potansiyelini ortaya koymuştur (31).

Spesifik bir mTORC1 inhibitörü olan rapamisin, güçlü immüno-supresif aktivitesi nedeniyle organ naklinde organ reddini önlemek için klinik olarak kullanılan bir makroliddir. İlginçtir ki, düşük dozlarda rapamisin tedavisi yaşa bağlı bazı patolojileri azalttığı ve farelerde yaşam süresini uzattığı bildirilmiştir (15, 35). AF hücrelerinde bleomisin kaynaklı yaşlanma, rapami-

sin tedavisiyle inhibe edilmiştir. Rapamisin, IL-1 $\beta$  uygulanan NP hücrelerinde p16<sup>INK4a</sup> ekspresyonunu inhibe edip, ROS seviyelerini inhibe ederek NP disk dejenerasyonunu önlediği bildirilmiştir. Ayrıca rapamisin, temsirolimus ve everolimus dahil olmak üzere spesifik mTORC1 inhibitörlerinin tümü, insan NP hücrelerini IL-1 $\beta$ 'nin indüklediği apoptoz, yaşlanma ve ECM katabolizmasından koruduğu raporlanmıştır (15,35).

Büyüme faktörleri ve hormonların da disk hücrelerinde senoterapötik etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Kemik morfojenik protein (BMP)'ler, transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- $\beta$ ) süper ailesine ait çok işlevli büyüme faktörleridir. BMP-7 olarak da bilinen osteojenik protein-1, NP hücrelerinde TNF- $\alpha$ 'nın neden olduğu yaşlanmayı engelleyebileceği raporlanmıştır. Buna karşılık, NP hücrelerinin yüksek dozda rekombinant insan BMP-2 ile uzun süreli tedavisinin, SA- $\beta$ -gal aktivitesini ve p53, p21 ve p16<sup>INK4a</sup> ekspresyonunu artırdığı bildirilmektedir (20).

Çeşitli antioksidatif ve antiinflamatuvar ajanların İVDD'de yaşlanma karşıtı terapötik potansiyele sahip olduğu rapor edilmiştir. Bir poliamin bileşiği olan spermidin yaşlanmayı azaltmış ve ECM stabilizasyonuna katkı sağlamıştır. Spermidin, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seviyesini azaltarak yaşa bağlı deneysel İVDD fare modelinde oksidatif stres kaynaklı DNA hasarını ve NP hücre yaşlanmasını inhibe ettiği gösterilmiştir. Oral N-Asetil Sistein takviyesi disk dejenerasyonunu ve CS'yi *in-vitro* ve *in-vivo* azaltmıştır. Dolayısıyla antioksidan takviyesinin İVDD'de yaşlanmanın etkilerini azaltabileceğini düşündürmektedir (2).

Ürolitin, ellagitanninler ve ellagik asit gibi polifenoller açısından zengin gıdalardan bağırsak mikrobiyal metabolizması tarafından üretilen bir dibenzopiran-6-on türevidir. Ürolitin-A'nın, deneysel İVDD sıçan modelinde SIRT1/PGC-1 $\alpha$  sinyal yolağı aracılığı ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı erken CS'yi inhibe ettiği rapor edilmiştir. ASIC protein kompleksi inhibitörlerinin, asidik koşullar altında muamele edilen NP hücrelerinde p53/p21 ve p16<sup>INK4a</sup>/RB1 sinyal yollarını aktive ederek yaşlanmayı bloke ettiği bildirilmektedir (7,37).

Beaz adipoz dokusundan türetilen adipokinlerden biri olan omentin-1, SIRT1'in aktivasyonu yoluyla IL-1 $\beta$ 'nin indüklediği CS'yi zayıflatmıştır. Östrojen reseptörleri ER $\alpha$  ve ER $\beta$ , NP hücrelerinde eksprese edilir ve TNF- $\alpha$  ile uyarılan NP hücrelerinde östrojen hormonu 17beta-estradiol'ün, SA- $\beta$ -gal aktivitesini azalttığı ve p53 ve p16<sup>INK4a</sup> ekspresyonunu azalttığı, ROS'u inhibe ettiği rapor edilmiştir. Bir paratiroid hormonunun mTOR inhibisyonu yoluyla otofajiyi aktive erken yaşlanmayı bloke ettiği de rapor edilmiştir. Ancak bu çalışmaların çoğu hücre kültüründe gerçekleştirildiğinden, terapötik potansiyellerinin doğrulanması için *in-vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır (17).

**Sonuç olarak**, bel ağrısının en sık görülen sebeplerinden biri olan İVDD'nin patofizyolojinin anlaşılması ve non invaziv tedavilerine yönelik ilgi son yıllarda giderek artmaktadır. Doğal yaşlanma sırasında İVD dokusundaki yaşlanmış hücrelerin artması mekanik, inflamatuvar, oksidatif ve metabolik stres dahil olmak üzere dış ve iç etkenler tarafından hızlandırılır. Yapılan araştırmalar genetik ve senolitik tedaviler kullanılarak yaşlanmış hücrelerin ortadan kaldırılmasının kemirgen modellerinde disk dokusu yapısını ve fiziksel işlevini iyileştirdiğini ileri sürüyor. Her ne kadar disk dokusunda yaşlanan hücrelerin modüle edilmesinde birçok yolak yer alsada bulguların çoğu hâlâ araştırma aşamasındadır. CS uzun süreli

ve birçok dış etkene bağlı olan bir süreçtir. Yapılan CS çalışmalarının çoğunluğu araştırılan etkene kısa süreli maruz kalmış hücre kültürü modelleridir. Dolayısıyla multiple stres etkenlerinin simüle edildiği daha fazla *in-vivo* çalışma modellerine ihtiyaç vardır. CS ve İVDD ilişkisinin aydınlatılması ve tedaviye yönelik klinik araştırmaların sayısının artmasıyla İVDD tedavisinde yeni gelişmeler beklenmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Bedore J, Leask A, Séguin CA: Targeting the extracellular matrix: matricellular proteins regulate cell-extracellular matrix communication within distinct niches of the intervertebral disc. *Matrix Biol* 37:124-130, 2014
2. Che H, Ma C, Li H, Yu F, Wei Y, Chen H, Wu J, Ren Y: Rebalance of the polyamine metabolism suppresses oxidative stress and delays senescence in nucleus pulposus cells. *Oxid Med Cell Longev* 2022:2022:8033353, 2022
3. Chen CC, Chen J, Wang WL, Xie L, Shao CQ, Zhang YX: Inhibition of the P53/P21 pathway attenuates the effects of senescent nucleus pulposus cell-derived exosomes on the senescence of nucleus pulposus cells. *Orthop Surg* 13(2):583-591, 2021
4. Cheng F, Yang H, Cheng Y, Liu Y, Hai Y, Zhang Y: The role of oxidative stress in intervertebral disc cellular senescence. *Front Endocrinol (Lausanne)* 13:1038171, 2022
5. Cherif H, Bisson DG, Jarzem P, Weber M, Ouellet JA, Haglund L: Curcumin and o-vanillin exhibit evidence of senolytic activity in human IVD cells in vitro. *J Clin Med* 8(4):433, 2019
6. Dai X, Chen Y, Yu Z, Liao C, Liu Z, Chen J, Wu Q: Advanced oxidation protein products induce annulus fibrosus cell senescence through a NOX4-dependent, MAPK-mediated pathway and accelerate intervertebral disc degeneration. *PeerJ* 10:e13826, 2022
7. Ding J, Zhang R, Li H, Ji Q, Cheng X, Thorne RF, Hondermarck H, Liu X, Shen C: ASIC1 and ASIC3 mediate cellular senescence of human nucleus pulposus mesenchymal stem cells during intervertebral disc degeneration. *Aging (Albany NY)* 13(7):10703-10723, 2021
8. Dowdell J, Erwin M, Choma T, Vaccaro A, Iatridis J, Cho SK: Intervertebral disk degeneration and repair. *Neurosurgery* 80 (3S):S46-S54, 2021
9. Farr JN, Xu M, Weivoda MM, Monroe DG, Fraser DG, Onken JL, Negley BA, Sfeir JG, Ogradnik MB, Hachfeld CM, LeBrasseur NK, Drake MT, Pignolo RJ, Pirtskhalava T, Tchonia T, Oursler MJ, Kirkland JL, Khosla S: Targeting cellular senescence prevents age-related bone loss in mice. *Nat Med* 23(9):1072-1079, 2017
10. Feng C, Yang M, Zhang Y, Lan M, Huang B, Liu H, Zhou Y: Cyclic mechanical tension reinforces DNA damage and activates the p53-p21-Rb pathway to induce premature senescence of nucleus pulposus cells. *Int J Mol Med* 41(6):3316-3326, 2018
11. Feng C, Zhang Y, Yang M, Lan M, Liu H, Wang J, Zhou Y, Huang B: The matricine N-acetylated proline-glycine-proline induces premature senescence of nucleus pulposus cells via CXCR1-dependent ROS accumulation and DNA damage and reinforces the destructive effect of these cells on homeostasis of intervertebral discs. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 1863(1):220-230, 2017

12. Franco-Obregón A, Cambria E, Greutert H, Wernas T, Hitzl W, Egli M, Sekiguchi M, Boos N, Hausmann O, Ferguson SJ, Kobayashi H, Wuertz-Kozak K: TRPC6 in simulated microgravity of intervertebral disc cells. *Eur Spine J* 27(10):2621-2630, 2018
13. Ghasemi F, Shafiee M, Banikazemi Z, Pourhanifeh MH, Khanbabaee H, Shamshirian A, Moghadam SA, ArefNezhad R, Sahebkar A, Avan A, Mirzaei H: Curcumin inhibits NF- $\kappa$ B and Wnt/ $\beta$ -catenin pathways in cervical cancer cells. *Pathol Res Pract* 215(10):152556, 2019
14. Gruber HE, Ingram JA, Norton HJ, Hanley EN Jr: Senescence in cells of the aging and degenerating intervertebral disc: Immunolocalization of senescence-associated beta-galactosidase in human and sand rat discs. *Spine (Phila Pa 1976)* 32(3):321-327, 2007
15. Harrison DE, Strong R, Sharp ZD, Nelson JF, Astle CM, Flurkey K, Nadon NL, Wilkinson JE, Frenkel K, Carter CS, Pahor M, Javors MA, Fernandez E, Miller RA: Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature* 460(7253):392-395, 2009
16. He J, Zhang A, Song Z, Guo S, Chen Y, Liu Z, Zhang J, Xu X, Liu J, Chu L: The resistant effect of SIRT1 in oxidative stress-induced senescence of rat nucleus pulposus cell is regulated by Akt-FoxO1 pathway. *Biosci Rep* 39(5):BSR20190112, 2019
17. Huang X, Chen C, Chen Y, Xu J, Liu L: Omentin-1 alleviate interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )-induced nucleus pulposus cells senescence. *Bioengineered* 13(5):13849-13859, 2002
18. Jiang Z, Jiang C, Jin L, Chen Z, Feng Z, Jiang X, Cao Y: In vitro and in vivo effects of hyperglycemia and diabetes mellitus on nucleus pulposus cell senescence. *J Orthop Res* 40(10):2350-2361, 2022
19. 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
20. Kim KW, Jeong SW, Park HY, Heu JY, Jung HY, Lee JS: The effect of prolonged rhBMP-2 treatment on telomerase activity, replicative capacity and senescence of human nucleus pulposus cells. *Biotech Histochem* 95(7):490-498, 2020
21. Klawitter M, Hakozaki M, Kobayashi H, Krupkova O, Quero L, Ospelt C, Gay S, Hausmann O, Liebscher T, Meier U, Sekiguchi M, Konno S, Boos N, Ferguson SJ, Wuertz K: Expression and regulation of toll-like receptors (TLRs) in human intervertebral disc cells. *Eur Spine J* 23(9):1878-1891, 2014
22. Krock E, Rosenzweig DH, Currie JB, Bisson DG, Ouellet JA, Haglund L: Toll-like receptor activation induces degeneration of human intervertebral discs. *Sci Rep* 7(1):17184, 2017
23. Li X, Lin F, Wu Y, Liu N, Wang J, Chen R, Lu Z: Resveratrol attenuates inflammation environment-induced nucleus pulposus cell senescence in vitro. *Biosci Rep* 39(5):BSR20190126, 2019
24. Liao CR, Wang SN, Zhu SY, Wang YQ, Li ZZ, Liu ZY, Jiang WS, Chen JT, Wu Q: Advanced oxidation protein products increase TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  expression in chondrocytes via NADPH oxidase 4 and accelerate cartilage degeneration in osteoarthritis progression. *Redox Biol* 28:101306, 2020
25. Mavrogenatou E, Kletsas D: High osmolality activates the G1 and G2 cell cycle checkpoints and affects the DNA integrity of nucleus pulposus intervertebral disc cells triggering an enhanced DNA repair response. *DNA Repair (Amst)* 8(8):930-943, 2009
26. Novais EJ, Tran VA, Johnston SN, Darris KR, Roupas AJ, Sessions GA, Shapiro IM, Diekman BO, Risbud MV: Long-term treatment with senolytic drugs Dasatinib and Quercetin ameliorates age-dependent intervertebral disc degeneration in mice. *Nat Commun* 12(1):5213, 2021
27. Ott C, Jung T, Grune T, Höhn A: SIPS as a model to study age-related changes in proteolysis and aggregate formation. *Mech Ageing Dev* 170:72-81, 2018
28. Park JS, Park JB, Park IJ, Park EY: Accelerated premature stress-induced senescence of young annulus fibrosus cells of rats by high glucose-induced oxidative stress. *Int Orthop* 38(6):1311-1320, 2014
29. Patil P, Niedernhofer LJ, Robbins PD, Lee J, Sowa G, Vo N: Cellular senescence in intervertebral disc aging and degeneration. *Curr Mol Biol Rep* 4:180-190, 2018
30. Pattappa G, Li Z, Peroglio M, Wismer N, Alini M, Grad S: Diversity of intervertebral disc cells: Phenotype and function. *J Anat* 221(6):480-496, 2012
31. Ren C, Jin J, Li C, Xiang J, Wu Y, Zhou Y, Sun L, Zhang X, Tian N: Metformin inactivates the cGAS-STING pathway through autophagy and suppresses senescence in nucleus pulposus cells. *J Cell Sci* 135(15):jcs259738, 2022
32. Shao Z, Wang B, Shi Y, Xie C, Huang C, Chen B, Zhang H, Zeng G, Liang H, Wu Y, Zhou Y, Tian N, Wu A, Gao W, Wang X, Zhang X: Senolytic agent Quercetin ameliorates intervertebral disc degeneration via the Nrf2/NF- $\kappa$ B axis. *Osteoarthritis Cartilage* 29(3):413-422, 2021
33. Shi J, Pang L, Jiao S: The response of nucleus pulposus cell senescence to static and dynamic compressions in a disc organ culture. *Biosci Rep* 38(2):BSR20180064, 2018
34. Shi S, Kang XJ, Zhou Z, He ZM, Zheng S, He SS: Excessive mechanical stress-induced intervertebral disc degeneration is related to Piezo1 overexpression triggering the imbalance of autophagy/apoptosis in human nucleus pulposus. *Arthritis Res Ther* 24(1):119, 2022
35. Silwal P, Nguyen-Thai AM, Mohammad HA, Wang Y, Robbins PD, Joon Y Lee JY, Vo NV: Cellular senescence in intervertebral disc aging and degeneration: Molecular mechanisms and potential therapeutic opportunities. *Biomolecules* 13(4):686, 2023
36. Sun Y, Lyu M, Lu Q, Cheung K, Leung V: Current perspectives on nucleus pulposus fibrosis in disc degeneration and repair. *Int J Mol Sci* 23(12):6612, 2022
37. Tomás-Barberán FA, González-Sarriás A, García-Villalba R, Núñez-Sánchez MA, Selma MV, García-Conesa MT, Espín JC: Urolithins, the rescue of "old" metabolites to understand a "new" concept: Metabotypes as a nexus among phenolic metabolism, microbiota dysbiosis, and host health status. *Mol Nutr Food Res* 61(1):1-36, 2017
38. Vamvakas SS, Mavrogenatou E, Kletsas D: Human nucleus pulposus intervertebral disc cells becoming senescent using different treatments exhibit a similar transcriptional profile of catabolic and inflammatory genes. *Eur Spine J* 26(8):2063-2071, 2017
39. van Deursen JM: The role of senescent cells in ageing. *Nature* 509(7501):439-446, 2014

40. Vo N, Seo HY, Robinson A, Sowa G, Bentley D, Taylor L, Studer R, Usas A, Huard J, Alber S, Watkins SC, Lee J, Coehlo P, Wang D, Loppini M, Robbins PD, Niedernhofer LJ, Kang J: Accelerated aging of intervertebral discs in a mouse model of progeria. *J Orthop Res* 28(12):1600-1607, 2010
41. Wang Y, Hu Y, Wang H, Liu N, Luo L, Zhao C, Zhou D, Tong H, Li P, Zhou Q: Deficiency of MIF accentuates overloaded compression-induced nucleus pulposus cell oxidative damage via depressing mitophagy. *Oxid Med Cell Longev* 2021:6192498, 2021
42. Wang Y, Shen J, Chen Y, Liu H, Zhou H, Bai Z, Hu Z, Guo X: PINK1 protects against oxidative stress induced senescence of human nucleus pulposus cells via regulating mitophagy. *Biochem Biophysical Res Commun* 504(2):406-414, 2018
43. Wu J, Chen Y, Liao Z, Liu H, Zhang S, Zhong D, Qiu X, Chen T, Su D, Ke X, Wan Y, Zhou T, Su P: Self-amplifying loop of NF-kappaB and periostin initiated by PIEZO1 accelerates mechano-induced senescence of nucleus pulposus cells and intervertebral disc degeneration. *Molecular Therapy* 30: 3241-3256, 2022
44. Wuertz K, Godburn K, Iatridis JC: MSC response to pH levels found in degenerating intervertebral discs. *Biochem Biophys Res Commun* 379(4): 824-829, 2009
45. Xie C, Shi Y, Chen Z, Zhou X, Luo P, Hong C, Tian N, Wu Y, Zhou Y, Lin Y, Dou H, Wu A, Huang Q, Zhang X, Wang X: Apigenin alleviates intervertebral disc degeneration via restoring autophagy flux in nucleus pulposus cells. *Front Cell Dev Biol* 9:787278, 2022
46. Xu J, Shao T, Lou J, Zhang J, Xia C: Aging, cell senescence, the pathogenesis and targeted therapies of intervertebral disc degeneration. *Front Pharmacol* 14:1172920, 2023
47. Zhou C, Yao S, Fu F, Bian Y, Zhang Z, Zhang H, Luo H, Ge Y, Chen Y, Ji W, Tian K, Yue M, Jin H, Tong P, Wu C, Ruan H: Morroniside attenuates nucleus pulposus cell senescence to alleviate intervertebral disc degeneration via inhibiting ROS-Hippo-p53 pathway. *Front Pharmacol* 13:942435, 2022
48. Zhu Y, Tchkonja T, Pirtskhalava T, Adam C Gower AC, Ding H, Giorgadze N, Palmer AK, Ikeno Y, Hubbard GB, Lenburg M, O'Hara SP, LaRusso NF, Miller JD, Roos CM, Verzosa GC, LeBrasseur NK, Wren JD, Farr JN, Khosla S, Stout MB, McGowan SJ, Fuhrmann-Stroissnigg H, Gurkar AU, Zhao J, Colangelo D, Dorransoro A, Ling YY, Barghouthy AS, Navarro DC, Sano T, Robbins PD, Niedernhofer LJ, Kirkland JL: The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell* 2015;14(4):644-658, 2015