

Piroptoz ile İntervertebral Disk Dejenerasyonu İlişkisi

Relationship Between Pyroptosis and Intervertebral Disc Degeneration

ÖZ

Disk dejenerasyonunun tedavisi için potansiyel stratejiler arasında farklı farmakomoleküler sinyal yolları hedeflenmiş ve bu yolların manipülasyonunda çeşitli farmakobiyojik ajanlar test edilmiştir. Üzerinde henüz yeni odaklanılmaya başlanan, hücre zarının yırtılmasıyla sonuçlanan ve enflamatuvar yanıtı tetikleyen bir programlı hücre ölüm mekanizması olan piroptoz, hedeflenenler arasında yerini almıştır. Yapılan araştırmalar, disk dejenerasyonu patogeneğinde piroptozun önemli bir rol oynadığını ve bu sürecin dejenerasyona karşı potansiyel bir hedef olabileceğini öne sürmüştür. Bu çalışmada, piroptozun intervertebral disk dejenerasyonundaki önemi, hangi mekanizmalar ile dejenerasyona katkıda bulunabileceği ve tedavi stratejilerinin derlenebilmesi amaçlandı.

Anahtar Sözcükler: Enflamasyon, Gasdermin, Mitojen aktif protein kinazlar, NLRP3 inflamazom, Piroptoz

ABSTRACT

Among the potential strategies for the treatment of disc degeneration, different pharmacomolecular signaling pathways have been targeted and various pharmacobiological agents have been tested in the manipulation of these pathways. Pyroptosis, a programmed cell death mechanism that has just begun to be focused on, resulting in the rupture of the cell membrane and triggering an inflammatory response, has taken its place among the targets. Studies have suggested that pyroptosis plays an important role in the pathogenesis of disc degeneration and that this process may be a potential target against degeneration. In this study, it was aimed to compile the importance of pyroptosis in intervertebral disc degeneration, the mechanisms by which it may contribute to degeneration, and treatment strategies.

Keywords: Inflammation, Gasdermin, Mitogen activated protein kinases, NLRP3 inflammasome, Pyroptosis

GİRİŞ

Piroptoz; hücre şişmesi, plazma zarı yırtılması ve proenflamatuvar hücre içi içeriğin salınması gibi özelliklerle belirlenen bir programlanmış hücre ölümü şeklindedir ve enflamatuvar kaspazlar aracılığıyla gerçekleşir (18). Bu süreç, enfekte hücrelerin ortadan kaldırılmasını teşvik eder ve mikrobiyal enfeksiyonlara karşı konakçı savunmasında önemli bir rol oynar, çünkü enflamatuvar bir yanıtı tetikler. Anahtar mekanizma, patojenler veya hücre hasarı gibi çeşitli tehlike sinyallerini algılayan çoklu protein kompleksleri olan inflamazomların aktivasyonunu içerir. Aktivasyon sonucunda, enflamatuvar prokaspaz-1 aktif formuna bölünür ve daha sonra gasdermin D'nin bölünmesine yol açar. Bu, hücre lizisine ve interlökin (IL)-1 beta (IL-1 β) ve IL-18 gibi enflamatuvar sitokinlerin salınmasına neden olan membran gözeneklerinin oluşumuna sebep olur. Bu sitokinler, enflamatuvar yanıtı daha da güçlendirir ve bağışıklık hücrelerini enfeksiyon bölgesine çeker. Genel olarak piroptoz, mikrobiyal istilacılara karşı önemli bir

savunma mekanizması görevi görür ve vücuttaki enflamatuvar yanıtların düzenlenmesine katkıda bulunur (18).

Piroptoz, inflamazomların aracılık ettiği, gasdermin proteini ailesine bağımlı bir tür proenflamatuvar programlanmış nekrozdur. İntervertebral disk (İVD) dejenerasyonu (İVD-D)'nin patolojik mekanizmalarının derinlemesine incelenmesi, piroptozun oluşumunda ve gelişiminde önemli bir rol oynadığını ortaya çıkarmıştır (30). Son araştırmalar piroptozun İVDD'de rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Yapılan çalışmalar, enflamatuvar aktivasyon ve enflamatuvar sitokinlerin salınması da dahil olmak üzere piroptozla ilişkili yolların aktivasyonunun, İVDD'ye katkıda bulunabileceğini göstermiştir. Özellikle, IL-1 β ve IL-18'in piroptoz yoluyla salınması, disklerde enflamasyonu ve matris bozulmasını indükleyerek doku hasarına ve dejenerasyona yol açabilecek olmalıdır.

Mekanik stres, oksidatif stres ve yaşlanma gibi İVDD'ye katkıda bulunduğu bilinen faktörler, İVD hücrelerinde piroptoz yollarının aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu faktörler,

piroptozun İVDD'nin patogeneziinde önemli bir role sahip olabileceğini desteklemektedir (15,29).

Anahtar bazı sinyal yollarları:

- **Enflamazom aktivasyon yolu:** İVDD'de enflamatuvar aktivasyon, özellikle nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı (NOD) benzeri reseptör protein ailesi pirin alanı içeren -3 (NLRP3) enflamazom, IL-1 β ve IL-18 gibi pro-enflamatuvar sitokinlerin üretimine yol açarak İVD'de enflamasyona ve doku hasarına katkıda bulunabileceği enflamazom aktivasyon yolağıdır.
- **NF- κ B sinyal yolu:** Enflamasyon ve immün yanıtın önemli bir düzenleyicisi olan aktive edilmiş B hücreleri nükleer faktör kappa-B (NF- κ B), sinyallesinin aktivasyonuna neden olarak, enflamatuvar mediatörlerin ve matris parçalayıcı enzimlerin upregülasyonuna yol açarlar. Bu durum, İVDD'ye katkıda bulunabilecek olan NF- κ B sinyal yolağıdır. Piroptozun indüklediği enflamatuvar sitokin salınımı, NF- κ B sinyalini daha da aktive edebilir ve enflamasyon ve doku hasarı için pozitif bir geri besleme döngüsü yaratabilir.
- **MAPK/cJUN sinyal yolu:** Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar (ERK), c-Jun N-terminal kinaz (JNK) ve p38/mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yolağı gibi çeşitli hücrel tepkilerde rol oynayan, enflamasyon ve oksidatif stres gibi stres faktörleriyle ilişkilendirilen MAPK yolağıdır. Bu yolağın aktivasyonu, annulus fibrozus (AF) ve nükleus pulpozus (NP) gibi İVD hücrelerinde ekstra selüler matris (ECM) bozulmasını ve apoptozu destekleyerek, İVDD'ye katkıda bulunabilir. Piroptozun neden olduğu enflamasyon ve oksidatif stres, MAPK sinyalini aktive ederek İVDD'yi şiddetlendirebilir.
- **ROS yolu:** Piroptoz; DNA, proteinler ve lipitler gibi hücrel bileşenlerde oksidatif hasara neden olabilen, reaktif oksijen türleri (ROS)'un oluşum yolağıdır. İVD'de ROS birikimi enflamasyona, hücrel yaşlanmaya ve ECM bozulmasına katkıda bulunarak, İVDD'nin ilerlemesini hızlandırabilir.

Bu derlemede, piroptozun farmakomoleküler özellikleri ve aktivasyon sinyal mekanizmaları gözden geçirilerek, İVDD patogenezi ile olan ilişkisinin kısaca özetlenmesi amaçlandı. Ayrıca, İVDD'nin patolojik ilerlemesinde piroptozun rolü ve önemi vurgulanmış ve bu durumun hedeflenen terapötik uygulamalarına da odaklanılmıştır.

Zhou ve ark.'ları, fazladan ROS'u temizleyerek mitokondriyi etkin bir biçimde hedefleyerek piroptoz inhibisyonu ile İVDD'yi engellemeye çalışmışlardır. Çalışmalarında, PG@Cu nanoparçacıklarına bir Schiff bazı bağı aracılığıyla bağlanan pentapeptit tasarlayarak, metal polifenol parçacıkları (PG@Cu-FP)'na çok daha fazla işlevlik kazandırmışlardır. Tasarımları PG@Cu-FP'ün, gasdermin protein ailesi (gasdermin D, GSDMD) oligomerizasyonunu inhibe ederek, NLRP3 enflamazomun aktivasyonunu başarılı bir şekilde azalttığını raporlamışlardır. Ek olarak, PG@Cu-FP'nin İVD yüksekliğini, su içeriğini ve yapısını koruduğunu vurgulamışlardır (29).

Literatürde her ne kadar kök hücre bazlı nakillerin, İVDD için umut verici bir tedavi yaklaşımı olduğundan bahsedilmiş olsa bile kök hücrelerin bazı sınırlamaları bulunmaktadır. Bu sınırlamalar arasında yetersiz hücre kaynağı, zayıf proliferasyon kapasitesi, düşük NP spesifik farklılaşma potansiyeli ve nakil

sonrası asidik İVDD mikro ortamının neden olduğu piroptozu teşvik etmesi gibi faktörler yer alır.

Bu zorlukların üstesinden gelmek amacıyla Xia ve ark.'ları, embriyodan türetilmiş uzun vadeli genişletilebilir NP progenitör hücreler ve esteraza duyarlı ibuprofen nano-miseller (PEG-PIB)'i sinerjistik transplantasyon için hazırlayarak, bir biyomateryal ön modifikasyon hücre stratejisi önermişlerdir. PEG-PIB'nin önceden modifiye edilmiş NP progenitör hücrelerinin *in-vitro* piroptoz inhibisyonu sergilediğini; daha fazla sinerjistik transplantasyonun ise İVDD rejenerasyonu sırasında etkili fonksiyonel iyileşme, histolojik rejenerasyon ve piroptozun inhibisyonunu sağladığını iddia etmişlerdir (20).

Mezenkimal kök hücrelerden türetilen eksozomların İVDD oluşumundaki rolünü araştırmayı hedefleyen bir başka çalışmada, deneysel İVDD fare ve lipopolisakarit (LPS) kaynaklı modellerde NLRP3 aracılı NP hücresi piroptozunun aktive edildiği raporlanmıştır. Bununla birlikte, mezenkimal kök hücre tedavisinin, *in-vitro* NP hücre piroptozunu inhibe edebileceğini bildiren çalışmada, mezenkimal kök hücrelerden türetilmiş eksozomların LPS'nin neden olduğu NP hücre piroptozundaki fonksiyonu da araştırılmıştır (25). Mezenkimal kök hücrelerden türetilmiş eksozomal miR-410'un piroptozun çok önemli bir düzenleyicisi olduğuna dair kanıtlar sunulan çalışmada, bu türetilen eksozomların, NLRP3 sinyal yolağını baskılayarak piroptoz önleyici bir rol oynadığını ve İVDD için umut verici bir terapötik strateji olabileceği vurgulanmıştır (25).

Mezenkimal kök hücreler, eksozomlar, mikropartiküller ve apoptotik cisimler içeren hücre dışı kesecikleri (EV'ler) salgılama konusunda güçlü bir yeteneğe sahiptir. Özellikle EV'lerin piroptoz düzenlemesinde önemli bir rol oynadığını ve İVDD'nin hafifletilmesinde faydalı olabileceği de raporlanmıştır (23).

Ayrıca, eksozom tedavisinin İVDD için umut verici bir terapötik yaklaşım olduğu ve terapötik etkilerini mikroRNA'ların, proteinlerin ve transkripsiyon faktörlerinin sürekli salınımı ile metabolik bozuklukları, mikroçevreyi ve hücre homeostazisini düzenleyerek elde ettiği belirtilmiştir. Yine de eksozomların hızlı temizlenmesi ve parçalanmasının, İVDD'de eksozom tedavisinin uygulanmasındaki iki büyük zorluk olduğu ortadadır.

Diskin dejenerasyonunu iyileştirmek için, NP ve adipoz türevli mezenkimal kök hücreler (ADSC)'in üstün özelliklerini miras alan, ADSC eksozomları (dECM@exo) ile birleştirilmiş, ısıya duyarlı aselüler bir ECM hidrojel tasarlanan çalışmada (21), bu tasarımın, yalnızca NP hücrelerinde ECM sızıntısını yenilemek için yerinde jelasyon sağlamakla kalmadığını, aynı zamanda NP hücrelerinin büyümesi için bir ortam da sağlayabileceği vurgulanmıştır. Ek olarak, ADSC'den türetilmiş eksozomların bu ilaç taşıyıcı sistemden sürekli salınımı sayesinde, matris metaloproteinaz (MMP)'in düzenlenerek ECM sentezini ve bozulmasını düzenlediği ve *in-vitro* enflamatuvar yanıtı hafifleterek, piroptozu inhibe ettiği raporlanmıştır. *In-vivo* sonuçlarda ise dECM@exo hidrojel sisteminin erken İVD mikro ortam homeostazisini koruduğunu ve İVDD'yi iyileştirdiğini bildirmişlerdir (21).

Farklı bir çalışmada, anti-enflamatuvar ve antioksidan etkileri nedeniyle, kırmızı ginsengden elde edilen ve tatlandırıcı bir madde olan maltol (MA)'ün, NP hücrelerini ve onları çevreleyen mikro ortamı düzenleyerek, potansiyel bir İVD koruyucu

ajan olabileceği de ileri sürülmüştür (8). MA'nın ADAMTS5, MMP3 ve MMP9 gibi anabolik proteinin ya da agrekan gibi katabolik MA'nın anabolik proteinlerin (ADAMTS5, MMP3 ve MMP9 gibi), agrekan gibi katabolik proteinin ve proenflamatuvar faktörlerin (indüklenebilir nitrik oksit sentaz ve siklooksijenaz gibi) transkripsiyonu ve protein ekspresyonu üzerindeki etkisi *in-vitro* ve *in-vivo* olarak araştırılmıştır. MA'nın PI3K/AKT/NF-κB sinyal yolağı ve piroptoz yolakları üzerindeki etkileri *in-vitro* analiz edilirken, *in-vivo* olarak, İVDD deneysel modeli oluşturulan farelerin vertebral yapısı üzerindeki etkileri de incelenmiştir. MA'nın PI3K/AKT/NF-κB sinyal yolağı ve NLRP3 enflamatuvar aracılı piroptoz yoluyla İVDD gelişimini yavaşlattığı raporlanmıştır (8).

Enflamasyon ile ilgili olarak aside duyarlı iyon kanallarının (ASIC'ler) düzenlenmesine ve asidik koşullar altında NP hücrelerinde NLRP3'ün piroptoz seviyelerini üzerindeki etkisine odaklanan bir araştırmada, laktat birikiminin İVDD'de önemli bir faktör olduğu ve laktatın İVDD sırasında NP hücre enflamasyonu üzerindeki etkisi ve altta yatan etki mekanizmasının belirsiz olduğu bildirilmiştir (28).

Hücre dışı laktatın, NLRP3 enflamazom aktivasyonunu ve NP ECM dejenerasyonunu teşvik ettiğini, ayrıca NP'deki enflamasyon ve piroptoz düzeylerini artırdığını raporladıkları çalışmalarında, NLRP3 enflamazom aktivasyonunun, ASIC inhibitörleri ve NLRP3-siRNA tarafından bloke edildiği bildirilmiştir. Hücre dışı laktatın, ASIC1 ve ASIC3 sinyal yolları ile hücreler arası ROS seviyelerini düzenlediğini, ROS, NF-κB sinyal yolağını aktive ederek, NP dejenerasyonunu teşvik eden NLRP3 enflamazom aktivasyonuna ve IL-1β salınımını teşvik ettiği çıkarımında bulunmuşlardır (28).

Aşırı birikmiş sitozolik DNA'nın, birçok dejeneratif hastalıkta bağışıklık tepkisini tetiklemek için cGAS-STING ekseni tarafından izlenen, hasarla ilişkili moleküler model görevi gördüğü de raporlanan bilgiler arasında yerini almıştır (19).

NLRP3 enflamatuvar bağımlı piroptozun, kronik enflamatuvar yanıtı ve doku dejenerasyonunu destekleyen bir tür enflamatuvar programlı ölüm olmakla birlikte, İVDD patogenezinde, cGAS-STING ekseni ile NLRP3 enflamazom kaynaklı piroptoz arasındaki ilişkinin belirsizliğini koruduğunun bildirildiği bir çalışmada (27); cGAS, STING ve NLRP3'ün İVDD'nin derecesi ile ilişkili olduğunu göstermek için manyetik rezonans görüntüleme ve histopatoloji kullanılmıştır. Oksidatif stresin, insan NP hücrelerinde STING'e bağımlı bir şekilde cGAS-STING ekseni aktivasyonunu ve NLRP3 enflamazom aracılı piroptozu indüklediğinden bahsedilen çalışmada, ilginç bir şekilde, mitokondriyal DNA'nın (mtDNA) sitozolik kaçıışı ile açılan mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneginin (mPTP), kanonik morfolojik ve fonksiyonel özelliklerinin, oksidatif stres altındaki insan NP hücrelerinde de gözlemlendiği belirtilmiştir. Ayrıca, mPTP'nin spesifik bir farmakolojik inhibitörünün ve kendi kendine mtDNA sitozolik sızıntısının uygulanması, bir sıçan disk iğnesi delme modelinde NLRP3 enflamazom aracılı piroptotik NP hücre ölümünü ve *in-vitro* mikroçevresel enflamasyonu ve dejeneratif ilerlemeyi etkili bir şekilde azalttığı vurgulanmıştır (27).

Benzer şekilde piroptoz ve NLRP3 enflamazom aktivasyonunun, İVDD'yi şiddetlendirdiği rapor edilen bir çalışmada (17), çeşitli hücresel işlemlere katılarak memeli hücresinin hayatta kalması ve uzun ömürlülüğü için gerekli olan NAD bağımlı deasetilaz, sirtuin-1 (SIRT1)'e odaklanılmıştır. IL-1β'nin, pi-

roptozu ve NLRP3 enflamazom aktivasyonunu indükleyebileceği, bu arada NP hücrelerinde mitokondriyal oksidatif stres hasarına ve fonksiyon bozukluğuna yol açtığına doğrulandığını belirttikleri çalışmalarında, mitokondriyal ROS, *Mito-Tempo* tarafından inhibe edildiğinde piroptoz ve NLRP3 enflamazom aktivasyonu da inhibe edildi şeklinde bildirimde bulunmuşlardır (17). SIRT1 aşırı ekspresyonunun, IL-1β'nin neden olduğu mitokondriyal fonksiyon bozukluğunu ve ROS birikimini iyileştirebileceğini, PINK1 / Parkin aracılı mitofajiyi teşvik ederek NLRP3 enflamazom aktivasyonunu inhibe edebileceği düşüncesinden yola çıktıkları çalışmalarında, sıçanlara SIRT1 agonisti olan SRT1720'yi uygulamışlardır. Bu uygulamanın, NLRP3, p20 ve IL-1β ekspresyonunu azalttığını, PINK1 ve LC3 ekspresyonunu artırdığını, İVDD sürecinin de geciktirildiğini vurgulayarak, SIRT1'in, NP hücrelerinde mitofaji yolağı ile IL-1β ile indüklenen NLRP3 enflamazom aktivasyonunu hafifleterek, piroptozu hafifletebileceğini öne sürmüşlerdir (17).

İVDD'de verapamilin işlev ve potansiyel etki mekanizmasının araştırıldığı bir çalışmada verapamil'in uygulanmasının tert-bütül hidroperoksit (TBHP)'in neden olduğu ROS aşırı üretimini ve NLRP3 enflamazom aktivasyonunu hafiflettiği, böylece hücreleri, nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2)/ tiyoredoksin ile etkileşime giren protein (TXNIP)/ NLRP3 ekseni üzerinden piroptoz, apoptoz ve ECM bozulmasına karşı koruduğu bildirilmiştir (3). Karaciğerde NLRP3 enflamatuvar bağımlı piroptozu katılan TXNIP'in, NP hücrelerindeki NLRP3/Kaspaz-1/IL-1β sinyal yolağı aracılığıyla piroptozu teşvik edebileceğinin varsayıldığı bir çalışmada, TXNIP'in İVDD üzerindeki etkileri incelemiştir. TXNIP inhibitörü olan Morin'in NP hücrelerinin piroptozunu hafifletebildiğini ve İVDD'yi iyileştirebildiği vurgulanmıştır (31).

Diyabetus mellitus (DM) ile İVDD'nin ilişkili olduğu ve diyabetik sıçanlarda transkriptom dizileme verilerine dayanarak İVDD'nin potansiyel moleküler mekanizması araştırılmıştır.

Süt yağı globülü-EGF faktörü-8 (MFG-E8); anti-enflamatuvar, antioksidan ve NLRP3 enflamazom modülasyonunun faydalı etkilerine sahip, endojen olarak salgılanan bir glikoproteindir. MFG-E8'in İVDD üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (16), MFG-E8 ekspresyonunun, hidrojen peroksit ile tedavi edilen NP hücrelerinin yanı sıra, insan ve sıçanların bozulmuş NP'lerinde de azaldığını bulmuşlardır. MFG-E8'in ekzojen takviyesinin, Nrf2/TXNIP/NLRP3 sinyal yolları ekseni üzerinden hidrojen peroksitin neden olduğu oksidatif stresi, mitokondriyal fonksiyon bozukluğunu ve NLRP3 enflamazom aktivasyonunu kurtarabilir ve NP hücrelerini piroptoz ve ECM bozulmasından koruyabilir şeklinde yorumda bulunmuşlardır (16).

Stabil bir deneysel İVDD fare modeli oluşturularak, anormal omurga mekanik yükünün İVDD patogenezi üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada (6), erkek farelere lomber omurga instabilitesi (LSI) uygulanmıştır. LSI uygulamasının, Wnt sinyal yolağını aktive ettiği, disk dejenerasyonunda histolojik değişikliklere, matris metabolizmasının bozulmasına, İVDD hücrelerinin apoptozunun teşvik edilmesine, duyuşal sinirlerin AF'ye yayılmasına ve piroptozun indüklenmesine yol açtığı vurgulanmıştır (6).

Büyüme faktörleri İVDD'ye karşı yapılan araştırmalarda da oldukça sık test edilmiştir. Streptozotosin (STZ) ile indüklenen Tip 1 diyabet (T1DM) modelinde kullanılan sıçan NP

üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada (24), kemik morfojenetik protein (BMP)-7 kullanılmıştır. BMP-7'nin, NP hücrelerindeki NLRP3 enflamazom aktivasyonunu ve piroptozunu inhibe ettiği ve bu şekilde T1DM'li sıçanlarda İVDD'nin hafifletilmesine katkı sağladığı belirtilmiştir (24).

Doku onarımı ve tümör ilerlemesinde rol oynayan bir sitokin olan trombosit kaynaklı büyüme faktörü-BB (PDGF-BB)'nin, İVDD üzerindeki potansiyel etkilerini araştıran bir deneyde, enflamatuvar bir ortamın simüle edilmesi için NP hücreleri IL-1 β ile tedavi edilmiştir (26). Bu tedavinin, NP hücrelerinde NLRP3 inflamazomunu aktive eden kaspaz-1 ve IL-1 β 'nin bölünmesini artırdığı ve piroptozu teşvik ettiği raporlanmıştır. Ancak, PDGF-BB'nin, ERK/JNK/PI3K/AKT sinyal yollarını düzenleyerek NP hücrelerinin ECM anabolizmasını destekleyebildiği fakat P38 sinyal yollarını desteklemediği belirtilmiştir. PDGF-BB reseptörlerinin bloke edilmesi durumunda ise İVDD'nin daha şiddetli histolojik belirtiler gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bulgular, PDGF-BB'nin piroptozu inhibe ederek ve MAPK sinyal yollarını düzenleyerek İVDD'nin oluşumunu ve gelişimini engellemeye katıldığını öne sürmektedir (26).

Bir diğer çalışmada ise İVDD'de TGF- β 2'yi hedef alan insan yağ dokusu kök hücreleri (hASCs)'inden türetilmiş eksozomal miR-155-5p'nin rolü ve ilgili mekanizmaları araştırılmıştır (1). Daha sonra miRNA dizilimi gerçekleştirilerek, hASCs'den türetilmiş Exo (hASCs-Exo) ekstre elde ederek karakterize edilmiştir. MiR-155-5p'nin, NP hücrelerinde enflamasyon ile ilişkili bir miRNA olarak tanımlandığı, hASCs-Exo miR-155-5p'nin NP hücrelerinin piroptozunu inhibe ettiği, otofajiyi ve ECM sentezini desteklediğine bağlı olarak İVDD'yi hafiflettiği bildirilmiştir (1).

Deoksi ribonükleik asit metiltransferaz 1'in (DNMT1) M1/M2 makrofaj polarizasyonunu ve piroptozunu düzenleme-deki rolünün yanı sıra bir deneysel İVDD sıçan modelinde, TBHP ile tedavi edilen NP hücrelerinde, Sirtuin 6 ekspresyonu araştırılmıştır (10). DNMT1'in susturulmasının apoptozu, ilgili enflamatuvar mediatörlerin ve enflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir. DNMT1'in susturulmasının, piroptoz belirteçleri olan IL-1 β , IL-6 ve IL-18'in ekspresyonunu da önemli ölçüde inhibe ettiği, NLRP3 ile apoptozla ilişkili benek benzeri protein olarak bilinen kaspaz toplama alanı (ASC) ve kaspaz-1 ekspresyonunu azalttığı belirtilmiştir. Bu çalışmada ayrıca, DNMT1'in susturulmasının SIRT6 ifadesinin artırılması üzerinde düzenleyici bir etki yarattığı vurgulanmıştır. Sonuç olarak, DNMT1'in İVDD tedavisi için umut verici bir hedef olabileceği öne sürülmüştür (10).

Otofaji ile piroptotik hücre ölümü arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada (13), otofajinin susturucu RNA (*small interfering RNA*; siRNA) transfeksiyonu ve kimyasal ilaçlarla inhibisyonunun, insan NP hücre piroptozunu ağırlaştırdığı vurgulanmıştır. Özellikle, kaspaz-1 inhibitörü VX-765 uygulamasının, *in-vivo* sıçan İVDD modelinde doğrulandığı gibi hücre piroptozunu azaltabileceği de tespit edilmiştir. ATG5'in yıkılmasının İVDD'nin ilerlemesini önemli ölçüde hızlandırdığı bildirilen araştırmada, otofajinin, P62/SQSTM1 aracılı bir bozunma mekanizması yoluyla LPS kaynaklı insan NP hücre piroptozuna karşı koruyucu özellik gösterdiği raporlanmıştır. Ek olarak bu özelliğin piroptozun inhibisyonunu *in-vivo* İVDD ilerlemesini geciktirebileceği bildirilmiştir (13).

Duhuo Jisheng dekoksasyonu (DHJSD)'nin, NLRP3 enflamazomunu etkileyen anti-enflamatuvar ve düzenleyici etkilere

sahip olabileceği, ancak bu ürünün İVDD tedavisinde kullanılıp kullanılmayacağını araştıran bir çalışmada (9); biyoinformatik analizlerle, NLRP3, GSDMD, IL-1 β ve diğer piroptoz merkezi proteinlerinin deneysel İVDD sıçanlarında yüksek oranda ifade edildiği belirtilmiştir. Araştırmacılar; DHJSD'nin hücre yaşlanma, apoptoz ve piroptozu kontrol ederek İVDD'yi tedavi etmede potansiyel rolünü vurgulamışlardır. DHJSD'nin LPS ile tetiklenen enflamatuvar yanıtları azaltmada etkili olduğu ve bu etkinin daha fazla baskılandığını gösterdiği belirtilmiştir. Bu bulgular, DHJSD'nin SDF-1/CXC-R4-NF-kB-NLRP3 sinyal eksenini yolağı ile NP hücrelerindeki piroptozu inhibe ederek ve İVDD tedavisinde potansiyel bir değer sunabileceği üzerine bir çıkarım yapılmasını sağlamıştır (9).

Yeni farmakorejeneratif araştırmalarda; piroptoz, apoptoz ve nekroptozun temel özelliklerine sahip, düzenlenmiş bir hücre ölümü (RCD) yolu olan PANoptoz'a da odaklanılmaktadır. TBHP'nin, NP hücrelerinde PANoptozda rol oynayan anahtar proteinlerin ekspresyonunu değiştirdiğini, ayrıca potansiyel anti-nekrotik ve anti-enflamatuvar özelliklere sahip doğal ürün kongensin-A (KA)'nın, PANoptozu inhibe ettiği bildirilen bir araştırmaya da literatürde rastlanmaktadır.

Doğuştan gelen bağışıklık, hücre ölümü, enflamasyon ve hücre homeostazinin önemli bir düzenleyicisi olan ve Map3k7 olarak anılan TAK1'in, İVDD'nin altında yatan fizyolojik roller ve düzenleyici mekanizmalardaki etkisinin belirsizliğini koruduğundan bahsedilmiştir. KA'nın PANoptozu inhibe ettiğini ve mitokondriyal redoks dengesini korumak için TAK1 ekspresyonunun upregülasyonunu düzenleyerek, NP hücrelerinde İVDD ilerlemesini geciktirdiği belirtilmiştir (4).

Hasarla ilişkili moleküler modelin bir parçası olarak mtDNA, Toll-benzeri reseptör (TLR)-9 tarafından tanınabilir, NF-kB ve NLRP3 enflamazom ekspresyonunu tetikleyerek, piroptoz ve enflamatuvar yanıtı indükleyebilir.

TLR9, NF-kB ve NLRP3 enflamazomun ekspresyon seviyelerinin İVDD derecesi ile korele olduğunu göstermek amacı ile insan NP'lerinde gerçekleştirilen bir çalışmada, oksidatif stresin neden olduğu insan NP hücre piroptozunda, mtDNA'nın, TLR9/NF-kB/NLRP3 eksenini aktivasyonuna aracılık ettiği *in-vitro* olarak gösterilmiştir. Oksidatif stres sonrası NP mitokondrieleri zarar görmekte, bu da mPTP'nin açılmasına ve mtDNA'nın sitozole salınmasına neden olmaktadır fikri de ileri sürülmüştür (14).

Periferik sinir sisteminde kemik metabolizmasına ve kırık disk bozulmasına aracılık eden nöropeptid Y(NPY)'nin; piroptoz, hücre yaşlanma ve dejenerasyon arasındaki ilişkisi de araştırılan konular arasındadır. NPY fonksiyonunun düzenlenmesinin İVDD tedavisi için umut verici bir strateji olabileceği bildirilmektedir.

Olgunlaşmamış (6 hafta), olgun (16 hafta), yaşlı (54 hafta) ve dejenerasyon disklerde, NPY, Y1R, Y2R ve piroptozla ilişkili proteinlerin ekspresyonları analiz edilmiştir. Doğal yaşlanan disklerle karşılaştırıldığında, dejeneratif disklerin NPY, Y1R ve Y2R'nin yüksek ifadesini gösterdiği belirtilen çalışmada (11), dejeneratif disklerdeki NPY ve Y1R düzeyinin GSDMD ile pozitif korelasyon gösterdiği ancak Y2R ile GSDMD arasında anlamlı bir korelasyon olmadığı raporlanmıştır. NPY tedavisinin, NP hücrelerin kaspaz-1'e bağlı piroptozunun aktivasyonunu uyardığı ve bununla birlikte, Y1R antagonisti,

NP'lerin NPY kaynaklı piroptozunu inhibe ettiği vurgulanmıştır (11).

Retinoik asit (RA) aracılı piroptozun altında yatan mekanizmaların araştırıldığı bir çalışmada RA'nın; dNP'lerin sox9, aggregan ve kolajen II'nin proliferasyonunu ve protein ekspresyonunu önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir. RA'nın, dNP'lerde SIRT1/SOD2 sinyalinin etkinleştirildiği, ROS üretimini ve TXNIP/NLRP3 sinyalini inhibe ettiği vurgulanmıştır. Ayrıca, RA'nın piroptozla ilişkili proteinlerin ifadesini önemli ölçüde azalttığı raporlanmıştır (12).

DEAD-box helikaz ailesi üyesi DDX3X; RNA metabolizmasının neredeyse tüm aşamalarında işlev görür ve virüs enfeksiyonu, iltihaplanma, zihinsel engellilik ve kanser dahil olmak üzere birçok hastalığın ilerlemesine katılır (7). Aşırı DDX3X'in ifadesinin, NP hücrelerinde piroptozu tetiklediği ve NLRP3, IL-1 β , IL-18 ve piroptozla ilişkili proteinlerin seviyelerinin arttığından bahseden bir çalışmada (5), DDX3X'in, İVDD'ye yol açan NLRP3 ekspresyonunu düzenleyerek NP hücrelerinin piroptozuna aracılık ettiği de gösterilmiştir (5).

Memeli hücrelerinde önemli bir besin olan kolesterol seviyelerindeki değişikliklerin, hücre proliferasyonu ve sinyal iletimi gibi hücre fizyolojisinde bozulmalara yol açtığı bildirildiği bir çalışmada (22), hiperkolesteroleminin İVDD için potansiyel bir risk faktörü olabileceği belirtilmektedir. Hem insanlarda hem de *Sprague-Dawley* sıçanlarında dejeneratif NP'de farklı kolesterol düzeylerinin yükseldiğinin bulunduğunu, yüksek kolesterolü bir diyetle (HCD) beslenen sıçanlar, standart bir diyetle beslenenlere kıyasla lomber İVD'de dejeneratif özellikler sergilediği raporlanmıştır (22).

İlginç bir şekilde bu etkinin, atorvastatin ile ortadan kaldırılabildiğini ve TNF- α /IL-1 β ile tedavi edilen NP hücrelerinde önemli ölçüde daha yüksek bir kolesterol seviyesi gözleendiği iddia edilmiştir. Bu sonuçlar ile de İVDD'nin ilerlemesinde kolesterolün önemini vurgulamışlardır (22). Ayrıca NP hücrelerinde hızlandırılmış piroptoz ve eksojen kolesterol ile tedavi edilen sıçan NP hücrelerinde ECM bozulmasını da gözlemlediklerini bildirdikleri çalışmada, kolesterolün neden olduğu piroptoz ve ECM bozulmasından, endoplazmik retikulum stresinin sorumlu olduğunu raporlamışlardır. Ayrıca, RNA-seq analizi, lipit metabolizmasının önemli bir düzenleyicisi olan SREBP1'in olgun formunun, yıkım deneylerinde endoplazmik retikulum stresinin düzenlenmesinde rol oynadığını ortaya çıkardığından bahseden çalışmada kolesterolün, İVDD'de mSREBP1'i uyarak endoplazmik retikulum stresini aktive ederek NP hücrelerinde piroptozu ve ECM bozulmasını indükleyebileceğine dikkat çekmişlerdir (22).

NF- κ B sinyal yolağının, rosuvastatin ve HMGB1 tarafından düzenlenen temel yol olduğu da iddia edilmektedir. Rosuvastatinin, piroptoz ve yaşlanmayı hafifleterek ve HMGB1 ve p65'in downregülasyonunu düzenleyerek İVDD ilerlemesini inhibe ettiğinden de bahsedilmektedir.

Yine kolesterol seviyelerini düşürmek için klinikte yaygın olarak kullanılan rosuvastatinin İVDD üzerindeki düzenleyici etkisi ve potansiyel mekanizmasının araştırıldığı güncel bir çalışmada, rosuvastatinin, TNF- α stimülasyonuna yanıt olarak ECM anabolizmasını desteklediğini ve katabolizmayı baskıladığı, TNF- α 'nın neden olduğu hücre piroptozunu ve yaşlanmasını da inhibe ettiği iddia edilmiştir (2). Bunun, kolesterol metabolizması ve enflamatuvar yanıtla yakından ilişkili bir gen olan HMGB1'in, TNF- α uyarımına yanıt olarak

upregüle düzenlendiğini bulduklarının belirtildiği çalışmada, HMGB1 inhibisyonu veya yıkılmasının, TNF- α kaynaklı ECM bozulmasını, yaşlanmasını ve piroptozunu başarılı bir şekilde hafifleteceği raporlanmaktadır (2).

Sonuç olarak piroptoz, enflamatuvar kaspazların aktivasyonu ile tetiklenen bir tür litik programlanmış hücre ölümüdür. Apoptozdan farklı olarak piroptoz, plazma zarının yırtılması ve enflamatuvar medyatörlerin salınması ile ECM tahribatını hızlandırması ile karakterize edilir. Bu derlemede bahsi geçen ilgili mekanizmaları tam olarak anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğu inkâr edilemez. Bununla birlikte piroptoz, İVDD'de yer alan birden fazla sinyal yolağını etkileyebilir ve bu da İVDD için yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesinde, piroptoz ile ilişkili yolların hedeflenmesinin potansiyel önemini ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

1. Chen D, Jiang X, Zou H: hASCs-derived exosomal miR-155-5p targeting TGF β R2 promotes autophagy and reduces pyroptosis to alleviate intervertebral disc degeneration. *J Orthop Translat* 39:163-176, 2023
2. Chen W, Deng Z, Zhu J, Yuan L, Li S, Zhang Y, Wu J, Huang Z, Qin T, Ye W: Rosuvastatin suppresses TNF- α -induced matrix catabolism, pyroptosis and senescence via the HMGB1/NF- κ B signaling pathway in nucleus pulposus cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 55:795-808, 2023
3. Chen Y, Cao X, Pan B, Du H, Li B, Yang X, Chen X, Wang X, Zhou T, Qin A, Zhao C, Zhao J: Verapamil attenuates intervertebral disc degeneration by suppressing ROS overproduction and pyroptosis via targeting the Nrf2/TXNIP/NLRP3 axis in four-week puncture-induced rat models both in vivo and in vitro. *Int Immunopharmacol* 123:110789, 2023
4. Chen Y, Hu B, Ni F, Han Y, Shu S, Xiong L, Shao Z, Wei Y: Kongensin A attenuates intervertebral disc degeneration by inhibiting TAK1-mediated PANoptosis of nucleus pulposus cells. *Int Immunopharmacol* 129:111661, 2024
5. Chi S, Li S, Xu Z, Yang G, Song Y, Liao Z, Yang C, Wu X: The involvement of DDX3X in compression-induced nucleus pulposus pyroptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 655: 1-10, 2023
6. Fu F, Bao R, Yao S, Zhou C, Luo H, Zhang Z, Zhang H, Li Y, Yan S, Yu H, Du W, Yang Y, Jin H, Tong P, Sun ZT, Yue M, Chen D, Wu C, Ruan H: Aberrant spinal mechanical loading stress triggers intervertebral disc degeneration by inducing pyroptosis and nerve ingrowth. *Sci Rep* 11:772, 2021
7. Gadek M, Sherr EH, Floor SN: The variant landscape and function of DDX3X in cancer and neurodevelopmental disorders. *Trends Mol Med* 29:726-739, 2023
8. Gong Y, Qiu J, Jiang T, Li Z, Zhang W, Zheng X, He Z, Chen W, Wang Z, Feng X, Wang M, Hong Z: Maltol ameliorates intervertebral disc degeneration through inhibiting PI3K/AKT/NF- κ B pathway and regulating NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis. *Inflammopharmacology* 31:369-384, 2023
9. Guo D, Cheng K, Song C, Liu F, Cai W, Chen J, Mei Y, Zhou D, Gao S, Wang G, Liu Z: Mechanisms of inhibition of nucleus pulposus cells pyroptosis through SDF1/CXCR4-NF κ B-NLRP3 axis in the treatment of intervertebral disc degeneration by Duhuo Jisheng Decoction. *Int Immunopharmacol* 124: 110844, 2023

10. Hou Y, Shi J, Guo Y, Shi G: DNMT1 regulates polarization of macrophage-induced intervertebral disc degeneration by modulating SIRT6 expression and promoting pyroptosis in vivo. *Aging (Albany NY)* 15:4288-4303, 2023
11. Li F, Xie W, Chen Z, Zhou Z, Wang Z, Xiao J, Li Z: Neuropeptide Y and receptors are associated with the pyroptosis of nucleus pulposus in aging and degenerative intervertebral discs of rats. *Neuropeptides* 96:102284, 2022
12. Li PF, Xiong F, Xing HY, Hu SJ, Zhang N: Retinoic acid inhibits the pyroptosis of degenerated nucleus pulposus cells by activating Sirt1-SOD2 signaling. *Connect Tissue Res* 64:337-349, 2023
13. Liao Z, Li S, Liu R, Feng X, Shi Y, Wang K, Li S, Zhang Y, Wu X, Yang C: Autophagic degradation of gasdermin D protects against nucleus pulposus cell pyroptosis and retards intervertebral disc degeneration In Vivo. *Oxid Med Cell Longev* 2021:5584447, 2021
14. Lu P, Zheng H, Meng H, Liu C, Duan L, Zhang J, Zhang Z, Gao J, Zhang Y, Sun T: Mitochondrial DNA induces nucleus pulposus cell pyroptosis via the TLR9-NF- κ B-NLRP3 axis. *J Transl Med* 21:389, 2023
15. Luo J, Yang Y, Wang X, Chang X, Fu S: Role of pyroptosis in intervertebral disc degeneration and its therapeutic implications. *Biomolecules* 12:1804, 2022
16. Ma H, Xie C, Chen Z, He G, Dai Z, Cai H, Zhang H, Lu H, Wu H, Hu X, Zhou K, Zheng G, Xu H, Xu C: MFG-E8 alleviates intervertebral disc degeneration by suppressing pyroptosis and extracellular matrix degradation in nucleus pulposus cells via Nrf2/TXNIP/NLRP3 axis. *Cell Death Discov* 8:209, 2022
17. Ma Z, Tang P, Dong W, Lu Y, Tan B, Zhou N, Hao J, Shen J, Hu Z: SIRT1 alleviates IL-1 β induced nucleus pulposus cells pyroptosis via mitophagy in intervertebral disc degeneration. *Int Immunopharmacol* 107:108671, 2022
18. Vande Walle L, Lamkanfi M: Drugging the NLRP3 inflammasome: From signalling mechanisms to therapeutic targets. *Nat Rev Drug Discov* 23:43-66, 2024
19. Wu X, Yu N, Ye Z, Gu Y, Zhang C, Chen M, Wang K: Inhibition of cGAS-STING pathway alleviates neuroinflammation-induced retinal ganglion cell death after ischemia/reperfusion injury. *Cell Death Dis* 14:615, 2023
20. Xia KS, Li DD, Wang CG, Ying LW, Wang JK, Yang B, Shu JW, Huang XP, Zhang YA, Yu C, Zhou XP, Li FC, Slater NKH, Tang JB, Chen QX, Liang CZ: An esterase-responsive ibuprofen nano-micelle pre-modified embryo derived nucleus pulposus progenitor cells promote the regeneration of intervertebral disc degeneration. *Bioact Mater* 21:69-85, 2022
21. Xing H, Zhang Z, Mao Q, Wang C, Zhou Y, Zhou X, Ying L, Xu H, Hu S, Zhang N: Injectable exosome-functionalized extracellular matrix hydrogel for metabolism balance and pyroptosis regulation in intervertebral disc degeneration. *J Nanobiotechnology* 19:264, 2021
22. Yan J, Li S, Zhang Y, Deng Z, Wu J, Huang Z, Qin T, Xiao Y, Zhou J, Xu K, Ye W: Cholesterol induces pyroptosis and matrix degradation via mSREBP1-Driven endoplasmic reticulum stress in intervertebral disc degeneration. *Front Cell Dev Biol* 9:803132, 2022
23. Yang S, Zhang Y, Peng Q, Meng B, Wang J, Sun H, Chen L, Dai R, Zhang L: Regulating pyroptosis by mesenchymal stem cells and extracellular vesicles: A promising strategy to alleviate intervertebral disc degeneration. *Biomed Pharmacother* 170:116001, 2024
24. Yu XJ, Wang YG, Lu R, Guo XZ, Qu YK, Wang SX, Xu HR, Kang H, You HB, Xu Y: BMP7 ameliorates intervertebral disc degeneration in type 1 diabetic rats by inhibiting pyroptosis of nucleus pulposus cells and NLRP3 inflammasome activity. *Mol Med* 29:30, 2023
25. Zhang J, Zhang J, Zhang Y, Liu W, Ni W, Huang X, Yuan J, Zhao B, Xiao H, Xue F: Mesenchymal stem cells-derived exosomes ameliorate intervertebral disc degeneration through inhibiting pyroptosis. *J Cell Mol Med* 24:11742-11754, 2020
26. Zhang W, Gong Y, Zheng X, Qiu J, Jiang T, Chen L, Lu F, Wu X, Cheng F, Hong Z: Platelet-derived growth factor-BB inhibits intervertebral disc degeneration via suppressing pyroptosis and activating the MAPK signaling pathway. *Front Pharmacol* 12:799130, 2022
27. Zhang W, Li G, Luo R, Lei J, Song Y, Wang B, Ma L, Liao Z, Ke W, Liu H, Hua W, Zhao K, Feng X, Wu X, Zhang Y, Wang K, Yang C: Cytosolic escape of mitochondrial DNA triggers cGAS-STING-NLRP3 axis-dependent nucleus pulposus cell pyroptosis. *Exp Mol Med* 54:129-142, 2022
28. Zhao K, An R, Xiang Q, Li G, Wang K, Song Y, Liao Z, Li S, Hua W, Feng X, Wu X, Zhang Y, Das A, Yang C: Acid-sensing ion channels regulate nucleus pulposus cell inflammation and pyroptosis via the NLRP3 inflammasome in intervertebral disc degeneration. *Cell Prolif* 54:e12941, 2021
29. Zhou H, Qian Q, Chen Q, Chen T, Wu C, Chen L, Zhang Z, Wu O, Jin Y, Wang X, Guo Z, Sun J, Zhang J, Shen S, Wang X, Jones M, Khan MA, Makvandi P, Zhou Y, Wu A: Enhanced mitochondrial targeting and inhibition of pyroptosis with multifunctional metallopolyphenol nanoparticles in intervertebral disc degeneration. *Small* 12:e2308167, 2023
30. Zhou KS, Ran R, Gong CY, Zhang SB, Ma CW, Lv JY, Lei ZY, Ren Y, Zhang HH: Roles of pyroptosis in intervertebral disc degeneration. *Pathol Res Pract* 248:154685, 2023
31. Zhou Y, Chen Z, Yang X, Cao X, Liang Z, Ma H, Zhao J: Morin attenuates pyroptosis of nucleus pulposus cells and ameliorates intervertebral disc degeneration via inhibition of the TXNIP/NLRP3/Caspase-1/IL-1 β signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 559:106-112, 2021