

# İntervertebral Disk Dejenerasyonunda Nekroptozun Rolü

## The Role of Necroptosis in Intervertebral Disc Degeneration

### ÖZ

İntervertebral disk dejenerasyonunu durdurmak, geriletebilmek ya da rejenerasyonunu sağlayabilmek amacı ile nekroptozla ilişkili sinyal yollarının hedeflenmesi, disk dejenerasyonunun tedavisinde büyük umut vadetmektedir. Bu hedeflemenin başarılı olması durumunda, nekroptotik yolu modüle edebilen yenilikçi farmasötiklerin icadı ve/veya geliştirilmesine olanak tanınacak ve gelecekte belki de nekroptozla bağlı disk dejenerasyonundan muzdarip bireyler için yeni terapötik modaliteler sunulabilecektir. Bu derlemede, nekroptozla ilişkili intervertebral disk dejenerasyonuna kapsamlı bir genel bakış sunulabilmesi ve farmakomoleküler alanda artan bilimsel bilgi birikimine katkıda bulunabilmesi amaçlandı.

**Anahtar Sözcükler:** Anulus fibrozus, İntervertebral disk dejenerasyonu, Nekroptozis, Nükleus pulposus

### ABSTRACT

Targeting the signaling pathways associated with necroptosis in order to end, regress or regenerate intervertebral disc degeneration holds great promise in the treatment of disc degeneration. If research achieves this goal, innovative pharmaceuticals that can modulate the necroptotic pathway may be invented and/or developed and perhaps in the future, new therapeutic modalities may be offered for individuals whose disc degeneration is due to necroptosis. This review aimed to provide a comprehensive overview of intervertebral disc degeneration associated with necroptosis and to contribute to the increasing scientific knowledge in the pharmacomolecular field.

**Keywords:** Annulus fibrosus, Intervertebral disc degeneration, Necroptosis, Nucleus pulposus

### GİRİŞ

Nekroptoz, hücre hasara veya strese yanıt olarak ortaya çıkan programlanmış hücre ölümünün bir şeklidir. Hücre hasarına ve parçalanmasına yol açan bir dizi moleküler olayla karakterizedir. Kontrollü ve düzenli bir süreç olan apoptozun aksine nekroptoz, hücre ölümünün daha enflamatuvar ve katotik bir şekli olarak kabul edilir (11).

Çeşitli yollarla uyarılan membran reseptörleri ve intraselüler sinyal iletim moleküllerinin rol oynadığı programlı nekroz, nekroptoz olarak adlandırılır. Apoptoz ise çok hücreli organizmalarda görülen programlanmış diğer bir hücre ölüm mekanizmasıdır. Bu süreç, gelişim için gerekli olduğu gibi hücrenin virüslerle enfekte olması, DNA hasarı ve hücrenin normal fonksiyonlarında düzensizlik veya tahribat olması durumlarında da gerçekleşir. Hücre ölüm tiplerinden apoptoz ile benzer özellikler gösteren nekroptoz kaspaz bağımsızdır (3).

Nekroptoz ve hücre yaşlanma farklı süreçlerdir, ancak hücre ölüm sürecinde bazı ortak bağlantıları paylaşırlar. Yaşlanan hücrelerin ortadan kaldırılmasında rol oynayabilen

nekroptoz, “yaşlanan hücrelerin nekroptozu” olarak adlandırılır. Hücre yaşlanma; hücrelerin bölünmeyi bıraktığı, ancak metabolik olarak aktif kaldığı bir durumdur. Bu, DNA hasarı veya telomer kısalması gibi çeşitli faktörler tarafından tetiklenebilir ve doku homeostazisi ile işlevsiz hücrelerin uzaklaştırılmasına katkıda bulunabilir.

Nekroptoz ve hücre yaşlanma arasında bir bağlantı olduğunu gösteren yeni kanıtlar vardır. Ancak nekroptoz ile hücre yaşlanma arasındaki ilişki karmaşık olup, farklı hücre yaşlanma bağlamları ve fizyolojik koşullarda, bu süreçler arasındaki etkileşimi tam olarak anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Nekroptoz hücre yaşlanma ile ilişkilidir. Hücreler nekroptozla uğradığında, hücre içeriğinin salınması çevredeki dokuda enflamatuvar bir tepkiyi tetikler. Bunun nedeni nekroptotik hücre ölümünün, bağışıklık sistemi tarafından doku hasarı sinyalleri olarak tanınan hasarla ilişkili moleküler modellerin salınmasına yol açmasıdır (7).

Nekroptozla ilişkili enflamatuvar yanıt, çeşitli patolojik koşullara katkıda bulunabilir. Nekroptozdan kaynaklanan aşırı veya uzun süreli enflamasyon nörodejeneratif bozukluklar,

otoimmün hastalıklar ve enflamatuvar bağırsak hastalıkları dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle nekroptoz ile hücrel enflamasyon arasındaki ilişki önemlidir. İntervertebral disk dejenerasyonu (İVD-D)'de nekroptozun rolü bir araştırma konusudur ve bulgular, nekroptozun bu durumun ilerlemesine katkıda bulunabileceğini göstermektedir. İVDD'de diskler sıklıkla yıpranma ve yaşlanma ile ilişkili olarak dejeneratif değişikliklere uğrar. İVDD'de nekroptoz belirteçlerinin bulunabileceği literatürde yerini almıştır (9).

Nekroptoz; oksidatif stres, enflamasyon ve mekanik stres gibi İVDD sürecinde yer alan birçok faktör tarafından tetiklenebilir. Nekroptoz sırasında proinflatuar moleküllerin salınması, İVDD ile ilişkili enflamatuvar ortama katkıda bulunabilir (1). Nekrozun düzenlenmiş formu olan nekroptoz, apoptozun yanı sıra programlanmış hücre ölümünün önemli bir mekanizması olarak da önem arz eder. Nekroptozun aktivasyonuna bağlı olarak hücrel membran bozulması, enflamasyon ve vaskülarizasyonun tetiklendiği süreçlerin, İVDD dahil olmak üzere çeşitli patolojik durumlarda da çok önemli olduğu bildirilmiştir (1).

Anılan bu tür çeşitli uyarıların nekroptozu tetiklediği ve bunun düzenlenmesinin, reseptörle etkileşime giren serin-treoninkinaz (*receptor-interacting serine-threoninekinase*; RIPK)-1, RIPK3 ve karışık soy kinaz alanı benzeri protein (*mixed-lineagekinase domain-like protein*; MLKL) psödokinaz gibi spesifik proteinlerin aktivasyonunu içerdiği bilgisine yer verilen bir çalışmada, nekroptozu yöneten karmaşık mekanizmaların anlaşılmasının önemli olduğu vurgulanmaktadır (8).

Disk dejenerasyonunda nükleus pulpozus (NP) hücrelerinin ölümünün muhtemel olarak İVDD'yi başlattığından ve bunu takiben gelişen enflamatuvar mikroçevre ve ekstraselüler matriks (ECM) değişikliklerinin de İVDD sürecinin oluşumuna katkıda bulunduğu ve nekrozom oluşumuna yol açan ölüm reseptörlerinin ligandları tarafından aktive edilebileceği bilgileri artık araştırılan konular arasındadır.

Daha önce yapılan çeşitli çalışmalara göre, nekroptoz ile ilgili yolların İVDD'de aktive edildiği ve nekroptoz sinyal yollarının İVDD'nin tedavisi için bir hedef görevi görebileceği literatürde bildirilmektedir. RIPK3, programlanmış nekroptoz yollarında önemli bir sinyal molekülüdür. Bu yolağın; gelişim, doku hasarı tepkisi ve antiviral bağışıklık dahil olmak üzere çeşitli fizyopatolojik durumlarda önemli rol oynadığı geçmişte bildirilmiştir (13). MLKL, RIP3 kinazın aşağı akışında (*downstream*) nekroz sinyallemesine aracılık eder. MLKL'nin, RIP3 kinaz yolağında nekroz sinyalinin anahtar aracısı olarak bildirilmesinin ardından literatürde, MLKL inhibitörü olan nekrosülfonamid (NSA)'in insan NP hücreleri üzerindeki koruyucu etkisi araştırılmıştır (18). İnterlökin (IL)-1 beta (IL-1 $\beta$ ) ile dejenere NP hücre modeli oluşturulduktan sonra dejenere İVD'de; kaspaz 3, kaspaz 8, RIPK1, -3 ve MLKL'nin ekspresyonunun arttığı saptanmıştır. IL-1 $\beta$ 'nın, NP hücrelerinin hücre ölümünü teşvik ettiğinden bahsetmişlerdir. Buna ek olarak, NSA'nın IL-1 $\beta$ 'nin etkilerini tersine çevirerek süperoksid dismutaz gen-1, -2, katalaz ve glutatyon peroksidaz-3 ekspresyonunu artırdığına değinmişlerdir. Ayrıca bu inhibitörün, İVD'de oksidatif stresi azaltarak, özellikle matriks metalloproteinaz-3, -10, IL-6 ve tümör nekroze edici faktör alfa (TNF- $\alpha$ )'nın ifadelerini daha belirgin olarak baskıladığını saptamışlardır (18).

Kontrollü hücre ölümünün genellikle aşırı mekanik yüklenme, beslenme dengesizliği, enflamasyon mikro ortamı, sirkadiyen ritim değişiklikleri, hormonların geri çekilmesi ile diğer biyomekanik faktörler gibi birçok etmen tarafından indüklendiği ve kontrollü hücre ölümü farklı modları ile temel mekanizmaların arasındaki etkileşimin daha iyi anlaşılmasının, İVDD'nin engellenmesine yönelik farmasötik ajanların geliştirilmesine katkı sağlayacağı belirtilmiştir (15).

Bilindiği üzere fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K)/AKT sinyal iletim yolağı, hücre büyümesi, proliferasyonu, metabolizması, motilitesi, sağkalımı ve apoptozunu içeren normal hücrel süreçlerin anahtar düzenleyicisidir (16).

Diskte rejenerasyona yönelik otofaji, apoptoz ve yaşlanma ile ilişkili bir çalışmada hücrenin akıbetinin belirlenmesinde, rapamisininin memeli hedefi (*mammalian target of rapamycin*;mTOR)/PI3K/AKT sinyal yolağının *downstream* aktivasyonunda anahtar bir kinaz olduğu, PI3K/Akt/mTOR'un, mikro ortamı kontrol etmek için çeşitli uyarılara yönelik bir temel hücre içi ağ entegratörü olarak önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (17).

Fan ve ark.'ları; lomber disk hernisi veya travmatik lomber fraktür nedeni ile tedavi gören olgularda, manyetik rezonans görüntüleme sonrası Pfirrmann sınıflamasının ardından, diskektomi ile disk dokusu örnekleri biriktirmişlerdir. Bu örneklerde nekroptotiklerin ortak lokalizasyonunu değerlendirmek için ise RIP3, MLKL, p-MLKL ve miyeloid farklılaşma birincil yanıtı-88 (MyD88) gibi belirteçlerin immunfloresan işaretlenmesinden yararlanılmışlardır. Ayrıca insan NP hücrelerinin nekroptozunu indüklemek için TNF- $\alpha$ , lipopolisakarit kaynaklı sitokin salınımını azaltan ve kaspaz inhibitörü olan Z-VAD-FMK uygulamışlardır. *In-vivo* olarak RIP3, MLKL, p-MLKL ve MyD88 gibi nekroptotiklerin artan ekspresyonunu raporlamışlardır. Ayrıca MyD88 sinyalinin *in-vitro* NP hücrelerinin nekroptozunda rolünü belirlemek için, MyD88 inhibitörü uyguladıkları ve MyD88 sinyallesinin, İVDD'deki NP hücrelerinin nekroptozuna dahil edilmesinin, İVDD'nin patogenezi yenileyeceğini ve İVDD için yeni bir potansiyel terapötik hedef sağlayacağını raporlamışlardır (4).

Gong ve ark.'nın yaptığı çalışmada, *in-vitro* olarak NP hücrelerinde enflamasyonu baskılamak için indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi proinflatuar belirteçlerin üretimini azaltan, limonin adlı molekül test edilmiştir. Bu ajanın, NP hücrelerinde mitojenle aktive olan bir protein kinaz (MAPK)/nükleer faktör kappa-B (NF- $\kappa$ B) sinyal yolağı aracılığı ile RIP1/RIP3/MLKL nekroptoz sinyal yolağının aktivasyonunu suprese ederek etki gösterdiği raporlanmıştır. Bu sayede İVD içerisinde yer alan periferik matriks proteinlerinin modüle edilerek İVDD'yi geciktirebileceği raporlanmıştır (5).

Dairesel (Circ)-0004354, İVDD'de miR-345-3p-FAF1/TP73 eksenini hedef alarak NP hücrelerinin ölümünü ve enflamatuvar tepkiyi tetiklemek için, circ-0040039 ile rekabet edebileceğinin bildirildiği bir çalışmada, circRNA'ların, NP hücrelerinin işlevini düzenleyerek, İVDD'nin patolojik sürecine dahil olduğu gösterilmiştir (10). İVDD'de syntrophin beta-2 geninden türetilen, ancak farklı derecelerde biyolojik fonksiyonlara sahip olan üst düzeyde düzenlenmiş circ-0040039 ve circ-0004354'ün belirlendiği çalışmada, PANoptozun apoptoz, piroptoz ve nekroptozdan oluştuğu fikrinden yola çıkarak apoptoz ve piroptoz şeklinde yeni bir proinflatuar

hücre ölümü PAoptozunun olması gerektiğini ifade etmişlerdir. Circ-0004354, miR-345-3p-FAF1/TP73 eksen aracılı PAoptozu, enflamatuvar yanıtı, büyüme inhibisyonunu ve NP hücrelerinin ECM bozulmasını modüle ederek İVDD gelişimini teşvik eder çıkarımında bulunmuşlardır. İVDD'deki circRNA'ların aracılık ettiği transkripsiyon sonrası düzenleyici ağa yeni bir bakış açısı sunarak, İVDD'nin tedavisinde ümit verici bir terapötik hedef geliştirmek üzere patolojik mekanizmanın daha fazla aydınlatılmasına katkıda bulunmuşlardır (10).

Mitokinin mesilat (MitoQ) veya rotenon ile ön tedavi sonrasında reaktif oksijen türleri (ROS) pozitif hücrelerin oranının önemli ölçüde azaldığının raporlandığı bir çalışmada ise mekanik stresten 12 saat sonra İVD'de nekroptoz ve apoptozla ilişkili belirteçlerin seviyelerinin önemli ölçüde arttığı, yedinci günde önemli bir değişiklik gözlenmediği bildirilmektedir (9). MitoQ ile ön tedavi sonrasında NP hücre canlılığının arttığı ve İVDD'yi hafiflettiği belirtilen bu çalışmada, mitokondriyal ROS'un, mekanik stres sonrası erken zaman noktalarında İVD'lerde programlanmış NP hücre ölümü ve ECM dejenerasyonunun önemli düzenleyicileri olarak görev yaptığını gösterdiği vurgulanmıştır (9).

NP hücrelerinin ölümü ve enflamasyonu arasındaki karşılıklı aktivasyon, İVDD'nin önemli bir patojenik faktörüdür.

Enflamasyonun, NP hücrelerinin nekroptozuna aracılık edip etmediği ve bunun mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ve oksidatif stres ile ilişkisinin belirsizliğini koruduğunun bildirildiği bir diğer çalışmada, sıçan NP hücreleri TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  kullanılarak indüklenmiştir. Ardından RIPK1, -3 ve MLKL gibi nekroptozla ilişkili hedef moleküllerin ekspresyon düzeyi değerlendirildiğinde, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  tedavi süresinin uzamasıyla, nekroptozla ilişkili moleküllerin ekspresyon seviyesinin giderek arttığı raporlanmıştır. RIPK1'e özgü inhibitör nekrostatin-1 (Nec-1), RIPK3 inhibitörü GSK872, MLKL inhibitörü NSA ve küçük engelleyici RNA (small interfering RNA; siRNA) teknolojisi kullanıldığında, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  tedavisi altında, Nec-1, GSK872 veya NSA uygulanmasının, NP hücrelerinin ölümünü ve upregüle edilen NP hücrelerinin canlılığını belirgin şekilde azalttığı bildirilmektedir (1).

Tutarlı bir şekilde, RIPK3'ün veya MLKL'nin, siRNA aracılı degradasyonunun, NP hücrelerinin hayatta kalmasını desteklediği vurgulanmıştır. Ancak siRNA-RIPK1'in, NP hücrelerinin ölümünü ağırlaştırdığı, 48 saatlik TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  tedavisinden sonra mitokondriyal membran potansiyelinin azaldığı, mitokondriyal geçirgenlik geçiş porlarının açılmasının arttığı ve oksidatif stres seviyesinin belirgin şekilde yükseldiği gözlenmiştir. Nec-1, GSK872 veya NSA tedavisi, normal mitokondriyal fonksiyonu büyük ölçüde onarır ve oksidatif stresi azaltır şeklinde yorumladıkları çalışmada RIPK1/RIPK3/MLKL aracılı nekroptoz, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ve oksidatif stresin upregülasyonu ile yakından ilişkili olabilecek enflamatuvar hasar sırasında NP hücrelerinin ölümünde önemli bir rol oynadığını bildirmişlerdir (1).

Kompresyona bağlı sıçan NP hücrelerinin ölümünde nekroptozun rolünü sistematik olarak araştıran bir çalışmada; hücreleri çeşitli sürelerde 1,0 MPa basınca maruz bırakarak hücre canlılığı, hücre ölümü, nekroptoz ile ilişkili hedef moleküller RIPK1, fosforile edilmiş RIPK1, -3, fosforile edilmiş RIPK3 (pRIPK3) ve MLKL ölçülmüştür. Dolaylı olarak nekroptozun varlığını belirlemek için RIPK1'e özgü inhibitör Nec-1, RIPK3 inhibitörü GSK872, MLKL inhibitörü NSA ve siRNA kullanılan

çalışmada, NP hücrelerinde nekroptozun gerçekleştiğini ve nekroptoz düzeyinin zamana bağlı olarak arttığı ve bu etkinin *in-vitro* Nec-1 tarafından azaltıldığı raporlanmıştır. Ek olarak, Nec-1, GSK872 veya NSA ile tedavinin ardından, NP hücrelerinin ölümünün önemli ölçüde azaldığı da raporlanmıştır. RIPK1/RIPK3/MLKL aracılı nekroptoz, sürekli mekanik stresin neden olduğu NP hücrelerinin ölümünde önemli bir rol oynayabilir ve nekroptozu düzenlemeyi amaçlayan tedavi stratejileri hem NP hücre ölümünü azaltarak hem de İVDD'yi yavaşlatarak faydalı olabilir ifadesine yer verilmiştir (2).

Isı çok proteini 90 inhibisyonunun, NP'den türetilen kök/progenitor hücreleri nekroptozdan ve apoptozdan koruyarak İVD rejenerasyonuna katkı sağlayabileceği bildirilmiştir (6).

Programlanmış nekrozun H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı, sıçan NP hücrelerinin ölümüne katkıda bulunup bulunmadığını sistematik olarak araştıran bir diğer çalışmada; oksidatif stres altında Poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) ve apoptoz indükleyici faktör (AIF), sinyal yolağı aracılığıyla gerçekleştirilen RIP1/RIP3 aracılı programlanmış nekrozun, NP hücre ölümünde önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, RIP1/RIP3-PARP-AIF sinyal yolağı aracılığı ile sıçan NP hücrelerinde programlanmış nekrozu indükler çıkarımında bulunulmuştur (19).

Tauroursodeoksikolik asit (TUDCA), endoplazmik retikulum (ER) stresini inhibe ederek hücreleri ölümden koruyabilen bir tür hidrofilik safra asididir.

Dimetil sülfoksit veya TUDCA ile tedavi edilen NP hücreleri deneysel olarak kompresyona maruz bırakıldıktan sonra, TUDCA'nın apoptoz ve nekroptozu azaltarak NP hücrelerini aşırı kompresyona bağlı ölümden koruyabildiği ve bu sebeple İVDD'yi geciktirebileceği literatürde bildirilmektedir (14).

Sonuç olarak bugüne kadar çok sayıda çalışma yapılmıştır ve İVDD'nin tüm tedavileri için ana strateji, programlanmış veya düzenlenmiş hücre ölümüne bağlı hücre kaybını önlemektir. Biriken kanıtlar; nekroptoz, piroptoz ve ferroptoz dahil olmak üzere apoptoz dışında çeşitli hücre ölümü türlerinin de İVDD'de rol oynadığını göstermektedir (12). İVDD'deki nekroptoz tutulumunun spesifik mekanizmaları ve kapsamı hâlâ devam eden araştırma alanlarıdır. Bu süreçlerin anlaşılması, gelecekte İVDD'nin yönetilmesine yönelik potansiyel terapötik yaklaşımlar hakkında fikir verebilir.

## KAYNAKLAR

1. Cao C, Chen S, Song Z, Liu Z, Zhang M, Ma Z, Chen S, Ge Y, Zheng J: Inflammatory stimulation mediates nucleus pulposus cell necroptosis through mitochondrial function disfunction and oxidative stress pathway. *Front Biosci (Landmark Ed)* 27:111, 2022
2. Chen S, Lv X, Hu B, Shao Z, Wang B, Ma K, Lin H, Cui M: RIPK1/RIPK3/MLKL-mediated necroptosis contributes to compression-induced rat nucleus pulposus cells death. *Apoptosis* 22:626-638, 2017
3. Chen W, Gullett JM, Tweedell RE, Kanneganti TD: Innate immune inflammatory cell death: PANoptosis and PANoptosomes in host defense and disease. *Eur J Immunol* 53:e2250235, 2023
4. Fan H, Chen Z, Tang HB, Shan LQ, Chen ZY, Liu SC, Zhang YY, Guo XY, Yang H, Hao DJ: Necroptosis of nucleus pulposus cells involved in intervertebral disc degeneration through MyD88 signaling. *Front Endocrinol (Lausanne)* 13: 994307, 2022

5. Gong Y, Jiang T, Lu F, Sun J, Xu W, Qiu J, Zhang W, Zheng X, Yang G, Chu B, Ye J, Mi S, Hong Z: Limonin delays the progression of intervertebral disc degeneration in vivo and in vitro: the key role of the MAPK/NF- $\kappa$ B and necroptosis pathways. *J Pharm Pharmacol* 75:612-624, 2023
6. Hu B, Zhang S, Liu W, Wang P, Chen S, Lv X, Shi D, Ma K, Wang B, Wu Y, Shao Z: Inhibiting heat shock protein 90 protects nucleus pulposus-derived stem/progenitor cells from compression-induced necroptosis and apoptosis. *Front Cell Dev Biol* 8:685, 2020
7. Kaczmarek A, Vandenabeele P, Krysko DV: Necroptosis: The release of damage-associated molecular patterns and its physiological relevance. *Immunity* 38:209-223, 2013
8. Khaleque MA, Kim JH, Hwang BJ, Kang JK, Quan M, Kim YY: Role of necroptosis in intervertebral disc degeneration. *Int J Mol Sci* 24:15292, 2023
9. Li BL, Liu X, Gao M, Zhang F, Chen X, He Z, Wang J, Tian W, Chen D, Zhou Z, Liu S: Programmed NP cell death induced by mitochondrial ROS in a one-strike loading disc degeneration organ culture model. *Oxid Med Cell Longev* 2021:5608133, 2021
10. Li Y, Wu X, Li J, Du L, Wang X, Cao J, Li H, Huo Z, Li G, Pan D, Xu H, Xu B: Circ\_0004354 might compete with circ\_0040039 to induce NPCs death and inflammatory response by targeting miR-345-3p-FAF1/TP73 axis in intervertebral disc degeneration. *Oxid Med Cell Longev* 2022: 2776440, 2022
11. Liu M, Wu W, Li H, Li S, Huang LT, Yang YQ, Sun Q, Wang CX, Yu Z, Hang CH: Necroptosis, a novel type of programmed cell death, contributes to early neural cells damage after spinal cord injury in adult mice. *J Spinal Cord Med* 38:745-753, 2015
12. Ohnishi T, Iwasaki N, Sudo H: Causes of and molecular targets for the treatment of intervertebral disc degeneration: A review. *Cells* 11: 394, 2022
13. Sun L, Wang H, Wang Z, He S, Chen S, Liao D, Wang L, Yan J, Liu W, Lei X, Wang X: Mixed lineage kinase domain-like protein mediates necrosis signaling downstream of RIP3 kinase. *Cell* 148:213-227, 2012
14. Wang W, Qing X, Wang B, Ma K, Wei Y, Shao Z: Tauroursodeoxycholic acid protects nucleus pulposus cells from compression-induced apoptosis and necroptosis via inhibiting endoplasmic reticulum stress. *Evid Based Complement Alternat Med* 2018:6719460, 2018
15. Yang F, Liu W, Huang Y, Yang S, Shao Z, Cai X, Xiong L: Regulated cell death: Implications for intervertebral disc degeneration and therapy. *J Orthop Translat* 37:163-172, 2022
16. Yilmaz I, Karaarslan N, Yasar Sirin D, Ozbek H: Pharmacomolecular assessment of the effects of anandamide and its antagonists on hippocampal tissue in Wistar albino rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 24:11871-11882, 2020
17. Yurube T, Takeoka Y, Kanda Y, Kuroda R, Kakutani K: Intervertebral disc cell fate during aging and degeneration: Apoptosis, senescence, and autophagy. *N Am Spine Soc J* 14:100210, 2023
18. Zhang QX, Guo D, Wang FC, Ding WY: Necrosulfonamide (NSA) protects intervertebral disc degeneration via necroptosis and apoptosis inhibition. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 24: 2683-2691, 2020
19. Zhao L, Lin H, Chen S, Chen S, Cui M, Shi D, Wang B, Ma K, Shao Z: Hydrogen peroxide induces programmed necrosis in rat nucleus pulposus cells through the RIP1/RIP3-PARP-AIF pathway. *J Orthop Res* 36:1269-1282, 2018