

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ FAS ΣΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΔΙΣΚΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΗΣ ΚΗΛΗΣ ΤΟΥ ΜΕΣΟΣΠΟΝΔΥΛΙΟΥ ΔΙΣΚΟΥ

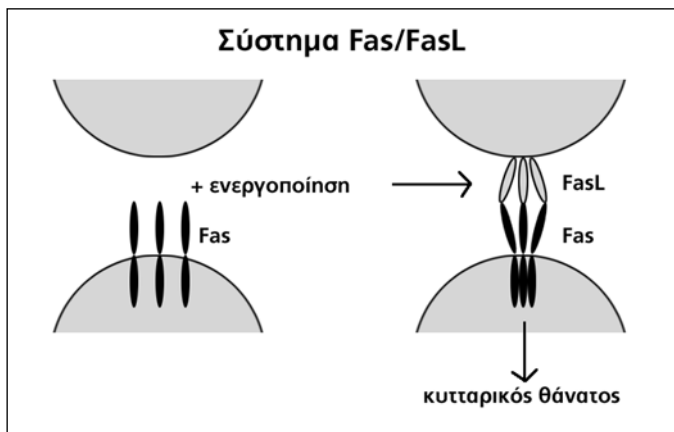
Γ. ΘΕΜΙΣΤΟΚΛΕΟΥΣ
Χ. ΚΑΡΑΒΟΛΙΑΣ
Γ. ΣΑΠΚΑΣ

Η κυτταρική απόπτωση^{8,13,15,27,28,32,34} θεωρείται ρυθμιστικός παράγοντας της φυσιολογικής ανάπτυξης, της ανακατασκευής των ιστών, της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος, αλλά εμπλέκεται και σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις^{6,7,14,17,20,23,25,26}. Συνοδεύεται από χαρακτηριστικές μορφολογικές μεταβολές σε κυτταρικό επίπεδο, όπως η ρίκνωση του κυτταροπλάσματος, η απώλεια των ινιδίων της μεμβράνης, ο κατακερματισμός του πυρήνα και η διάσπαση του χρωμοσωμικού DNA. Τα νεκρά κύτταρα φαγοκυτταρώνονται από γειτονικά κύτταρα, μακροφάγα ή ουδετερόφιλα^{17,18}.

Οι πρωτεΐνες Fas και FasL μεταφέρουν κάποιο μήνυμα στον πυρήνα του κυττάρου μέσω της ενδοκυτταρικής αλληλουχία σημάτων, που καταλήγει στην απόπτωση και στον κυτταρικό θάνατο. Το σύμπλεγμα Fas/FasL μεταφέρει εντολές κυτταρικού θανάτου από το εξωκυττάριο περιβάλλον στον πυρήνα του κυττάρου. Η Fas είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη που ανήκει στην οικογένεια των αυξητικών παραγόντων (TNF, Tumour Necrosis Factor)¹⁴. Είναι επίσης και διαμεμβρανική πρωτεΐνη, μέλος της ίδιας οικογένειας³⁰. Έχει περιγραφεί η ύπαρξη μιας διαλυτής μορφής της ίδιας πρωτεΐνης στον εξωκυττάριο χώρο αλλά φαίνεται πως έχει μικρότερη δυνατότητα επαγωγής κυτταρικού θανάτου¹⁶. Η σύνδεση της FasL με την Fas προκαλεί την ενεργοποίηση του τμήματος FADD (τμήμα θανάτου)³² (εικόνα 1), το οποίο με τη σειρά του δεσμεύει την προδιασπάση-8 ενεργοποιώντας την σε διασπάση-8³³. Η διασπάση-8 δίνει μέσω της ενδοκυτταρικής αλληλουχίας σημάτων το τελικό μήνυμα θανάτου στο κύτταρο^{2,16,21}.

Η FasL εκφράζεται κυρίως από τα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα και τα κύτταρα επιφάνειας στους οφθαλμούς, στον εγκέφαλο^{3,10,11,23,25,30,31}, ενώ η Fas εκφράζεται σε διάφορα όργανα, όπως ο θύμος αδένας, το ήπαρ, οι νεφροί και η καρδιά^{1,12,18,22,24}.

Μέχρι σήμερα ήταν γνωστό ότι η πρωτεΐνη Fas εκφράζεται στη μεμβράνη των κυττάρων του μεσοσπονδύλιου δίσκου που έχει υποστεί κήλη. Όμως ο κυτταρικός τύπος ο οποίος εκφράζει την πρωτεΐνη FasL δεν ήταν γνωστός. Ο Beom προσπάθησε να ανακαλύψει τον κυτταρικό τύπο που εκφράζει την πρωτεΐνη FasL. Για τη μελέτη αυτή χρησιμοποίησε 23 χειρουργικά παρασκευάσματα από κήλες μεσοσπονδύλιου δίσκου (9 ενδοδισκικές και 14 εξωδισκικές), στις οποίες μετά από ανοσοϊστοχημική χρώση και ταυτοποίηση του DNA προσπάθησε να εντοπίσει τα κύτταρα που εκφράζουν την FasL, καθώς και να μελετήσει κάθε είδους κυτταρική απόπτωση. Το ποσοστό των FasL-θετικών δισκικών κυττάρων υπολογίστηκε και συγκρίθηκε με κλινικά και ακτινολογικά δεδομένα. Τα αποτελέσματα στα οποία κατέληξε ο Beom ήταν ότι η FasL εκφραζόταν στο κυτταρόπλασμα των ίδιων των δισκικών κυττάρων. Τα αποτελέσματα υποβλήθηκαν σε στατιστικές δοκιμασίες. Υψηλότερο ποσοστό έκφρασης της FasL βρέθηκε στις εξωδισκικές παρά στις ενδοδισκικές κήλες ($p < 0,05$). Το ποσοστό των FasL θετικών δισκικών κυττάρων αυξανόταν με την αύξηση της ηλικίας του



Εικόνα 1. Η σύνδεση του FasL με τη Fas προκαλεί την ενεργοποίηση του τμήματος FADD και οδηγεί στον κυτταρικό θάνατο.

ασθενούς ($p < 0,05$), αλλά όχι με το βαθμό εκφυλισμού του δίσκου ($p > 0,05$).

Με βάση τα αποτελέσματα προηγούμενης μελέτης του ίδιου ερευνητή στην οποία η πρωτεΐνη Fas είχε βρεθεί στα ίδια κύτταρα, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η ταυτόχρονη παρουσία των πρωτεϊνών Fas και FasL είναι ένας από τους μηχανισμούς απόπτωσης των δισκικών κυττάρων του δίσκου που έχει υποστεί κήλη και συνεπώς τα δισκικά κύτταρα μετά τη δημιουργία κήλης πεθαίνουν μέσω αυτοκρινών ή παρακρινών μηχανισμών^{4,6,9,24,35}, εντείνοντας τον εκφυλισμό και την καταστροφή του δίσκου.

Σύγχρονες μελέτες^{3,10,11,30,31} έδειξαν ότι ιστοί όπως οι οφθαλμοί και ο εγκέφαλος παρουσιάζουν ανοσολογική ανεξαρτησία λόγω του αιματογενούς φραγμού και της απουσίας λεμφικής παροχέτευσης, αλλά και της έκφρασης της πρωτεΐνης FasL από τα κύτταρα επιφανείας του. Ομοίως, ο μεσοσπονδύλιος δίσκος είναι ανάγγειος και δεν έχει λεμφική παροχέτευση. Έτσι μπορούμε να υποθέσουμε ότι ο μεσοσπονδύλιος δίσκος υπάγεται στην κατηγορία των ανοσολογικά ανεξάρτητων οργάνων.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Η παρουσία της πρωτεΐνης Fas ανιχνεύεται σε δισκικά κύτταρα κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου.
- Η ποσότητα της πρωτεΐνης Fas διαφέρει ανάλογα με τον τύπο της κήλης.
- Η διαδικασία της απόπτωσης-κυτταρικού θανάτου έχει βρεθεί ιστολογικά σε κύτταρα κήλης μεσοσπονδύλιου δίσκου.
- Η συνύπαρξη των πρωτεϊνών Fas/FasL στα δισκικά κύτταρα της κήλης του μεσοσπονδύλιου δίσκου φανερώνει ότι τα δισκικά κύτταρα μετά την κήλη υφίστανται απόπτωση μέσω αυτοκρινών και παρακρινών μηχανισμών.

- Η τοπική παρουσία της πρωτεΐνης FasL στα δισκικά κύτταρα υποδεικνύει ότι ο μεσοσπονδύλιος δίσκος είναι ένα ανοσολογικά ανεξάρτητο όργανο.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Asahara H, Hasumuna T, Kobata T et al. Expression of Fas antigen and Fas ligand in the rheumatoid synovial tissue. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; 81:27-34.
2. Ashuenazi et al. Death receptors: Signaling and modulation science (Wash DC) 1998; 281:1305-08.
3. Bellgrau D, Gold D, Selaway H et al. A role for CD95 ligand in preventing graft rejection. *Nature* 1995; 377:630-2.
4. Bursch WB, Paffe S, Putz B et al. Determination of the length of the histological stages of apoptosis in normal liver and in altered hepatic foci of rats. *Carcinogenesis* 1990; 11:874-53.
5. Chinnaiagan et al. FADD a novel death domain - contain protein interacts with the death of fas and cell. 1995; 81:505-12.
6. Columbano A, Ledda-Columbano GM, Rao PM et al. Occurrence of cell death (apoptosis) in preneoplastic and neoplastic liver cells. *Am J Pathol* 1984; 116:441-6.
7. Dowling P, Shang G, Raval S et al. Involvement of the CD95 (APO-1/Fas) receptor / ligand system in multiple sclerosis brain. *J Experim Med* 1996; 184:1513-8.
8. Frymoyer JW, Moskowitz RW. Spinal degeneration: Pathogenesis and medical management. In: Frymoyer JW (ed.): *The Adult Spine Principles and Practice*. 1st ed. NY: Raven Press Ltd New York, 1991, pp. 611-34.
9. Galle PR, Krammer PH. CD95 induced apoptosis in human liver disease. *Semin Liver Dis* 1998; 18:141-51.
10. Greil R, Egle A, Villunger A. On the role and significance of Fas (APO-1/CD95) ligand (FasL) expression in immune privileged tissues and cancer cells using multiple myeloma as a model. *Leuk Lymphoma* 1998; 31:477-90.
11. Griffith T, Fletcher S et al. Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science* 1995; 270:1189-92.
12. Gruber HE, Hanley EN Jr. Analysis of aging and degeneration of the human intervertebral disc: Comparison of surgical specimens with normal controls. *Spine* 1998; 23:751-7.
13. Hayashi N, Mita E. Involvement of Fas system-mediated in pathogenesis of viral hepatitis. *J Viral Hepatitis* 1999; 6:357-65.
14. Ito T, Yonehara S, Ishil A et al. The polypeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis. *Cell* 1991; 66:233-43.
15. Jacobson, MD, Weil M, Raff MC. Programmed cell death in animal development. *Cell* 1997; 88:347-54.
16. Jong-Beom P, Man Chang, Ki-Won K. Expression of Fas ligand and apoptosis of disc cells in herniated lumbar disc tissue. *Spine* 2001; 26(6):618-21.
17. Kerr JFR, Wylie AH, Currie AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging complication in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26:239-57.
18. Krammer PH. CD95 (APO-1/Fas) mediated apoptosis: Live and let die. *Adv Immunol* 1999; 71:163-210.
19. Krams SM, Fox CK, Beatty PR et al. Human hepatocytes

- produce an isoform of Fas that inhibits apoptosis. *Transplantation* 1998; 65:713-21.
20. Maehara H, Yoshizawa H, Kobayashi S et al. Evidence of apoptosis in terminally differentiated chondrocytes and notochordal cells of the mice lumbar spine: End-labeling studies of DNA fragmentation. Presented at 27th Annual Meeting of the International Society for the Study of the Lumbar Spine, Kona, Hawaii, June 21-25, 1999.
 21. Mazio, Chinnaiagan et al. Flice a novel FADD-homologues ICE/Led-3 like phosphatase, is recruited to the CD 95 (Fas / APO-D death including sigralling complex.
 22. Mita E, Hayashi N. Molecular biology of Fas antigen-Fas ligand system (in Japanese). *Nippon Rinsho* 1996; 54:1736-40.
 23. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell* 1997; 88:355-65.
 24. Nagata S. Fas-induced apoptosis. *Int Med* 1998; 37:179-81.
 25. Nagata S, Pierre G. The Fas death factor. *Science* 1995; 267:1449-56.
 26. Park JB, Kim KW, Han CW et al. Expression of Fas receptor on disc cells in herniated lumbar disc tissue. *Spine* 2001; 26: 142-6.
 27. Rand N, Juliano SF, Dawson JM et al. In situ apoptosis in the human intervertebral disc. Presented at 27th annual meeting of the Cervical Spine Research Society, Seattle, Washington, December 16-18, 1999.
 28. Rand N, Juliano SF, Dawson JM et al. Age related in apoptosis rate in the murine intervertebral disc. Presented at 26th annual meeting of the Cervical Spine Research Society, Rosemont, Illinois, December 3-5, 1998.
 29. Rand N, Juliano SF, Spengler DM et al. Static hydrostatic loading induces in-vitro apoptosis in human intervertebral disc cells. Presented at 27th annual meeting of the Cervical Spine Research Society, Seattle, Washington, December 16-18, 1999.
 30. Suda T, Okazaki T, Naito Y et al. Expression of the Fas ligand in cells of T cell lineage. *J Immunol* 1995; 154:3806-13.
 31. Suda T, Takahashi T, Golstein P et al. Molecular cloning and expression of the Fas ligand: A novel member of the tumor necrosis factor family. *Cell* 1993; 75:1169-78.
 32. Suda T. Membrane fas ligand kills human peripheral blood T lymphocytes and saluble fas ligand blocks the killing. *J Exp Med* 1997; 186:2045-50.
 33. Tanaka M, Suda T, Haze K et al. Fas ligand in human serum. *Nat Med* 1996; 2:317-22.
 34. Warner HR. Aging and regulation of apoptosis. *Current Topics in Cellular Regulation* 1997; 35:107-21.
 35. Wyllie AH, Kerr JFR, Currie AR. Cell death: The significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 1980; 68:251-306.