



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ»**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΠΑΘΗΣΕΩΝ ΜΥΟΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ «Θ.ΓΑΡΟΦΑΛΙΔΗΣ»
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ : ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΣΜΗΝΗ ΔΟΝΤΑ

*ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΧΡΗΣΤΟΣ ΧΡΙΣΤΟΦΟΡΙΔΗΣ
ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ*

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΟΞΥΓΟΝΟΥ
ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΙΔΙΟΠΑΘΟΥΣ
ΟΣΤΕΟΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΓΕΩΡΓΙΟΣ Π. ΛΥΡΙΤΗΣ
ΟΜΟΤΙΜΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ, ΕΘΝΙΚΟΥ ΚΑΙ
ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

ΑΘΗΝΑ 2019



**NATIONAL AND KAPODISTRIAN
UNIVERSITY OF ATHENS
MEDICAL SCHOOL**

**POST-GRADUATE PROGRAM
METABOLIC BONE DISEASES**

**THE ROLE OF FREE OXYGEN RADICALS IN
PATHOGENESIS OF PRIMARY OSTEOARTHRITIS**

MASTER THESIS

CHRISTOS CHRISTOFORIDIS

ORTHOPAEDIC SURGEON

Supervisor: George Lyritis, Professor of Orthopedics, University of Athens, Medical
School

ATHENS 2019

Βιογραφικό σημείωμα

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: ΧΡΙΣΤΟΦΟΡΙΔΗΣ ΧΡΗΣΤΟΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΚΑΤΟΙΚΙΑΣ: Φωκαίας 30, Νέα Ερυθραία Αττικής, Τ.Κ. 14671

ΤΗΛΕΦΩΝΟ: 2106209394, 6970434900

E-MAIL: christoforidismd@gmail.com

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: 20/04/1981

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ: ΑΓΑΜΟΣ

ΕΘΝΙΚΟΤΗΤΑ: ΕΛΛΗΝΙΚΗ

ΣΤΡΑΤΙΩΤΙΚΕΣ ΥΠΟΧΡΕΩΣΕΙΣ: ΕΚΠΛΗΡΩΜΕΝΕΣ

Αποφοίτησε από το 2^ο Λύκειο Ρόδου-Καζούλειο με βαθμό 18 και 9/12 (Άριστα) το 2000.

Την χρονιά 2001 εισήχθη στην Ιατρική Σχολή L'Aquila, κεντρικής Ιταλίας.

Αποφοίτησε τον Μάρτιο του 2009 από την Ιατρική Σχολή με βαθμό 8.82/10 (Άριστα)

Το έτος 2010 υπηρέτησε την στρατιώτικη του θητεία ως ιατρός μονάδας τεθωρακισμένων του Ελληνικού στρατού.

Τον Νοέμβρη του 2010 ξεκίνησε την ειδικότητα της ορθοπαιδικής και τον Δεκέμβρη του 2011 ολοκλήρωσε το κομμάτι της γενικής χειρουργικής στο Β' χειρουργικό τμήμα του Γ.Ν Ρόδου.

Την χρονιά 2012/13 εκπλήρωσε την υπηρεσία υπαίθρου ως αγροτικός ιατρός του Π.Π.Ι Γενναδίου Ρόδου

Τον Μάρτιο του 2013 έως τον Ιανουάριο του 2016 παρακολούθησε το κλινικό και εκπαιδευτικό έργο της Ορθοπαιδικής Κλινικής του Γ.Ν Ρόδου με Διευθυντή τον κ.Σοκορέλο Μιχαήλ στα πλαίσια της ειδικότητας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής και Τραυματιολογίας.

Τον Φεβρουάριο του 2016 συνέχισε την ειδικότητας της Ορθοπαιδικής στο ΓΝΑ ΚΑΤ, στην Δ' Ορθοπαιδική κλινική με Διευθυντή τον κ.Μαχαιρά Γωργιο.

Στο πλαίσιο της ειδικότητας εκπαιδεύτηκε στα εξειδικευμένα τμήματα της ορθοπαιδικής-Αθλητικών κακώσεων και Μικροχειρουργικής-Ακρας Χειρός του ΓΝΑ ΚΑΤ όπως επίσης και στην παιδοορθοπαιδική όπου εκπλήρωσε μονοετή εκπαίδευση στην Β'Ορθοπαιδική κλινική του νοσοκομείου "Παίδων,Αγία Σοφία" με διευθυντή τον κ.Αναστασόπουλο Ιωάννη.

Τον Σεπτέμβριο του 2018 απέκτησε τον τίτλο ειδικότητας του χειρουργού ορθοπαιδικού.

Έχει λάβει μέρος σε μεγάλο αριθμό εκπαιδευτικών σεμιναρίων,συνεδρίων καθώς και σε αρκετές εργασίες και δημοσιεύσεις.

Μιλάει Αγγλικά και Ιταλικά.

Από τον Σεπτέμβριο του 2018 έως σήμερα συνεχίζει ως ορθοπαιδικός χειρουργός στην Δ'Ορθοπαιδική κλινική του ΓΝΑ ΚΑΤ.

Περίληψη

Παρόλο που η υπερπαραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου μπορεί να είναι επιβλαβής για τη βιολογία των κυττάρων, υπάρχουν πολλά δεδομένα που δείχνουν ότι τα μέτρια επίπεδα ελεύθερων ριζών οξυγόνου ελέγχουν την κυτταρική σηματοδότηση και την γονιδιακή έκφραση, διατηρώντας την οξειδοαναγωγική σηματοδότηση. Στον αρθρικό χόνδρο, χαμηλές συγκεντρώσεις ελεύθερων ριζών οξυγόνου, συμμετέχουν φυσιολογικά στην ενδοκυττάρια σηματοδότηση και την φυσιολογική ομοίωση του αρθρικού χόνδρου, του αρθρικού υμένα και του υποχόνδριου οστού. Όταν, για συγκεκριμένους λόγους, όπως η γήρανση, μηχανικοί παράγοντες και η δράση κυτοκινών, υπερπαραγονται ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, το προκύπτον οξειδωτικό στρες συμμετέχει στην παθογένεια της ιδιοπαθούς οστεοαρθρίτιδας μέσω της επαγωγής φλεγμονωδών διεργασιών, της αύξησης της απόπτωσης των χονδροκυττάρων, της αποικοδόμησης της εξωκυττάριας ουσίας, της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας των χονδροκυττάρων, της φλεγμονής του αρθρικού υμένα και της δυσλειτουργία του υποχόνδριου οστού.

Λέξεις – κλειδιά: οστεοαρθρίτιδα, ελεύθερες ρίζες, οξυγόνο, οξειδωτικό στρες, χονδροκύτταρα

Abstract

Although overproduction of free oxygen radicals can be harmful to cell biology, there is much evidence that moderate levels of free oxygen radicals control cell signaling and gene expression, while retaining redox signaling. In the articular cartilage, low concentrations of free radicals of oxygen normally participate in intracellular signaling and normal homeostasis of articular cartilage, synovium and subchondral bone. When, for specific reasons such as aging, mechanical factors and cytokine activity, free oxygen radicals are overproduced, the resulting oxidative stress is involved in the pathogenesis of idiopathic osteoarthritis through the induction of inflammatory processes, increased chondrocyte apoptosis, degradation of extracellular matrix, mitochondrial dysfunction of chondrocytes, synovial inflammation and dysfunction of subchondral bone.

Key – Words: osteoarthritis, free radicals, oxygen, oxidative stress, chondrocytes

Περιεχόμενα

Βιογραφικό σημείωμα	3
Περίληψη	5
Abstract	6
Περιεχόμενα	7
Πίνακας Εικόνων	10
Πίνακας Συνοτομογραφιών	12
Εισαγωγή	14
Κεφάλαιο 1. Αρθρικοί Ιστοί	15
1-1. Αρθρικός χόνδρος	15
1-1-1. Σύνθεση αρθρικού χόνδρου	15
1-1-2. Δομή αρθρικού χόνδρου	18
1-1-3. Μεταβολισμός αρθρικού χόνδρου	20
1-2. Αρθρικός υμένας	21
1-3. Αρθρικό υγρό	22
1-4. Υποχόνδριο οστό	22
Κεφάλαιο 2. Ιδιοπαθής οστεοαρθρίτιδα	24
2-1. Εισαγωγή	24
2-2. Παθογένεια	25
2-3. Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί	26
Κεφάλαιο 3. Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου	28

3-1. Εισαγωγή	28
3-2. Προέλευση	29
3-3. Λειτουργίες	31
3-4. Αντιοξειδωτικά κυτταρικά συστήματα	35
Κεφάλαιο 4. Ρόλος των ενεργών ριζών οξυγόνου στον αρθρικό χόνδρο	38
4-1. Παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου από τα χονδροκύτταρα στην οστεοαρθρίτιδα	38
4-2. Λειτουργίες ελεύθερων ριζών οξυγόνου στον οστεοαρθρικό χόνδρο	40
4-2-1. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στην ενδοκυττάρια σηματοδότηση στον οστεοαρθρικό χόνδρο	41
4-2-2. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στην απόπτωση των χονδροκυττάρων στον οστεοαρθρικό χόνδρο	43
4-2-3. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στη γήρανση των χονδροκυττάρων στον οστεοαρθρικό χόνδρο	45
4-2-4. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στη σύνθεση του οστεοαρθρικού χόνδρου	45
4-2-5. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στην αποικοδόμηση της εξωκυττάριας ουσίας του οστεοαρθρικού χόνδρου	46
4-2-6. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στη δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων των χονδροκυττάρων	50
Κεφάλαιο 5. Ρόλος των ενεργών ριζών οξυγόνου στον αρθρικό υμένα	54
5-1. Παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου από τον αρθρικό υμένα στην οστεοαρθρίτιδα	54
5-2. Λειτουργίες ελεύθερων ριζών οξυγόνου στον αρθρικό υμένα στην οστεοαρθρίτιδα	55
5-2-1. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στη φλεγμονή του αρθρικού υμένα	55

5-2-2. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στην απόπτωση των κυττάρων του αρθρικού υμένα _____	56
Κεφάλαιο 6. Ρόλος των ενεργών ριζών οξυγόνου στο υποχόνδριο οστό _____	57
Κεφάλαιο 7. Αντιοξειδωτικά συστήματα στην οστεοαρθρίτιδα _____	60
Κεφάλαιο 8. Συμπεράσματα _____	61
Βιβλιογραφία _____	63

Πίνακας Εικόνων

Εικόνα 1. Αρθρικοί ιστοί: Αρθρικός χόνδρος, αρθρική κοιλότητα, αρθρικός υμένας, αρθρικός θύλακος. Τροποποιημένο από Brittanica ^[9]	16
Εικόνα 2. Τριπλή έλικα κολλαγόνου. Τροποποιημένο από Wikipedia ^[11]	17
Εικόνα 3. Στιβάδες αρθρικού χόνδρου. Τροποποιημένο από Orthobullets ^[19]	20
Εικόνα 4. Ακτινολογική εικόνα οστεοαρθρίτιδας γόνατος. Διακρίνονται η στένωση του μεσάρθριου, η υποχόνδρια σκλήρυνση, ο σχηματισμός οστεοφύτων και η διαταραχή της αρχιτεκτονικής της άρθρωσης. Από το αρχείο του συγγραφέα.....	27
Εικόνα 5. Διαγραμματική απεικόνιση των διαδοχικών βημάτων αναγωγής του οξυγόνου σε νερό με βήματα ενός ηλεκτρονίου. Τροποποιημένο από Γάλαρη ^[31]	30
Εικόνα 6. Διαδικασία ενεργοποίησης της NADPH οξειδάσης, μετά από επίδραση ερεθίσματος και παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Τροποποιημένο από Assari et al ^[37]	31
Εικόνα 7. Οξειδωτικά μόρια που παράγονται από τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα σε φλεγμονή. Τροποποιημένο από Παπαγαλάνη ^[40]	32
Εικόνα 8. Σηματοδοτική οδός του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) για την τροποποίηση της δράσης τυροσινικών κινασών και φωσφατασών. Τροποποιημένο από Παπαγαλάνη ^[40] ..	34
Εικόνα 9. Απεικόνιση του σχηματισμού ενδιάμεσων μορφών αναγωγής του O_2 με σταδιακά βήματα του ενός ηλεκτρονίου. Απεικονίζεται η μετατροπή του O_2^- σε H_2O από τη SOD, καθώς και η αναγωγή του H_2O_2 σε H_2O από τα ένζυμα CAT, GPx (υπεροξειδάση της γλουταθειόνης) και Pxx (περοξυρεδοξίνη). Τροποποιημένο από Γάλαρη ^[31]	36
Εικόνα 10. Μοριακή δομή SOD. Τροποποιημένο από Wikipedia ^[11]	37

<i>Εικόνα 11. Κύριες πηγές ελεύθερων ριζών οξυγόνου στα χονδροκύτταρα. Τροποποιημένο από Li et al ^[62].</i>	39
<i>Εικόνα 12. Δράσεις του οξειδωτικού στρες στα χονδροκύτταρα. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου αυξάνουν τη γήρανση και την απόπτωση των χονδροκυττάρων και τη φλεγμονώδη σηματοδότηση ενώ ελαττώνουν την αυτοφαγία των χονδροκυττάρων, την αντιοξειδωτική ικανότητα και τη σύνθεση της εξωκυττάριας ουσίας του αρθρικού χόνδρου. Τροποποιημένο από Wang et al ^[69].</i>	41
<i>Εικόνα 13. Ενεργοποίηση ενδοκυτταρικών σηματοδοτικών μονοπατιών (NF-κB, JUN, MEK, p38, MAPK, ERK1/2, Nrf2) στα χονδροκύτταρα, από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS). Τροποποιημένο από Espinoza-Diez et al ^[71].</i>	42
<i>Εικόνα 14. Σχηματική αναπαράσταση των βιολογικών δράσεων της HNE σε μετα-μεταγραφικό και μεταφραστικό επίπεδο. Η HNE δρα ως μεσολαβητής σε διαφορετικά σηματοδοτικά μονοπάτια (p38 MAPK, ERK1/2, JNK, NF-κB, PKC). Τροποποιημένο από Abusarah et al....</i>	48
<i>Εικόνα 15. Δράσεις των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στην αποικοδόμηση του αρθρικού χόνδρου και τη φλεγμονή του αρθρικού υμένα. Τροποποιημένο από Henrotin et al ^[52].</i>	49
<i>Εικόνα 16. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία στην οστεοαρθρίτιδα. Τροποποιημένο από Bolduc et al ^[124].</i>	52
<i>Εικόνα 17. Πιθανοί ιστοί - στόχοι της HNE στην οστεοαρθρίτιδα. Σε όλους τους αρθρικούς ιστούς, επάγει καταβολικές και φλεγμονώδεις αποκρίσεις, αναστέλλει αναβολικά μονοπάτια και ελαττώνει την επιμετάλλωση του υποχόνδριου οστού. Τροποποιημένο από Abusarah et al ^[105].</i>	58

Πίνακας Συντομογραφιών

AGEs: advanced glycation end products

ALP: alkaline phosphatase

AOPPs: advanced oxidation protein products

AP-1: activator protein 1

ATF/CRE: atranscription factor/cyclic AMP response element

ATF-2: activating transcription factor 2

ATP: adenosine triphosphate

BAFF: B-cell activating factor

Bcl-2: B-cell lymphoma 2

bFGF: basic fibroblast growth factor

BMP: bone morphogenetic protein

CREB-1: CAMP responsive element binding protein 1

COX2: cyclooxygenase 2

DNA: deoxyribonucleic acid

IFN- γ : interferon- γ

IGF-1: insulin-like growth factor-1

IL-1 β : interleukin-1 β

IL-6: interleukin-6

IL-8: interleukin-8

iNOS: inducible nitric oxide synthase

HNE: 4-hydroxynonenal:

JNK: c-Jun N-terminal kinase

LOX-1: lectin-type oxidized LDL receptor 1

MAPK: mitogen-regulated kinase

mRNA: messenger ribonucleic acid

mtDNA: mitochondrial DNA

MMPs: metalloproteinases

NADPH oxidase: nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase

NF- κ B: nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

NK: natural killers

Nrf2: nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2

NO: nitric oxide

NOS: nitric oxide synthase

ox-LDL: oxidized low density lipoprotein

PGE2: prostaglandin E2

PKC: protein kinase C

PI3K/Akt: phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase b

RANK: receptor activator of NF- κ B

RANKL: RANK ligand

RUNX2: runt-related transcription factor 2

TAK1: transforming growth factor β -activated kinase 1

TIMPS: tissue inhibitors of metalloproteinases

TLR: toll-like receptor

TNF- α : tumor necrosis factor- α

VEGF: vascular endothelial growth factor

Εισαγωγή

Η οστεοαρθρίτιδα είναι μια πολύπλοκη νόσος άγνωστης αιτιολογίας που επηρεάζει πολλές διαφορετικές αρθρώσεις, αποτελώντας βασική αιτία αναπηρίας ειδικά σε πληθυσμό αυξημένης ηλικίας. Χαρακτηρίζεται από μορφολογικές, βιοχημικές, μοριακές και εμβιομηχανικές μεταβολές τόσο των χονδροκυττάρων όσο και της θεμέλιας ουσίας, οι οποίες οδηγούν σε αποικοδόμηση του αρθρικού χόνδρου, φλεγμονή του αρθρικού υμένα, υποχόνδρια σκλήρυνση, και σχηματισμό οστεοφύτων και υποχόνδριων κύστεων. Η οστεοαρθρίτιδα είναι πολυπαραγοντική διαταραχή, η παθογένεση της οποίας επηρεάζεται από διάφορους γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες που σχετίζονται με την ενεργοποίηση των μοριακών σηματοδοτικών μονοπατιών που συμβάλλουν στην εξέλιξη της βλάβης της άρθρωσης ^[1]. Είναι απαραίτητη η περαιτέρω κατανόηση αυτών των μοριακών μονοπατιών και των αλληλεπιδράσεών τους με τους διάφορους αρθρικούς ιστούς για την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων για την αντιμετώπιση της νόσου. Πρόσφατες μελέτες έχουν διαπιστώσει ότι η εξέλιξη της οστεοαρθρίτιδας σχετίζεται σημαντικά με το οξειδωτικό στρες και τις ελεύθερες / δραστικές ρίζες οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) ^[2-4]. Η παρούσα εργασία περιλαμβάνει την ανασκόπηση της συμμετοχής των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στην παθογένεια της ιδιοπαθούς οστεοαρθρίτιδας.

Κεφάλαιο 1. Αρθρικοί Ιστοί

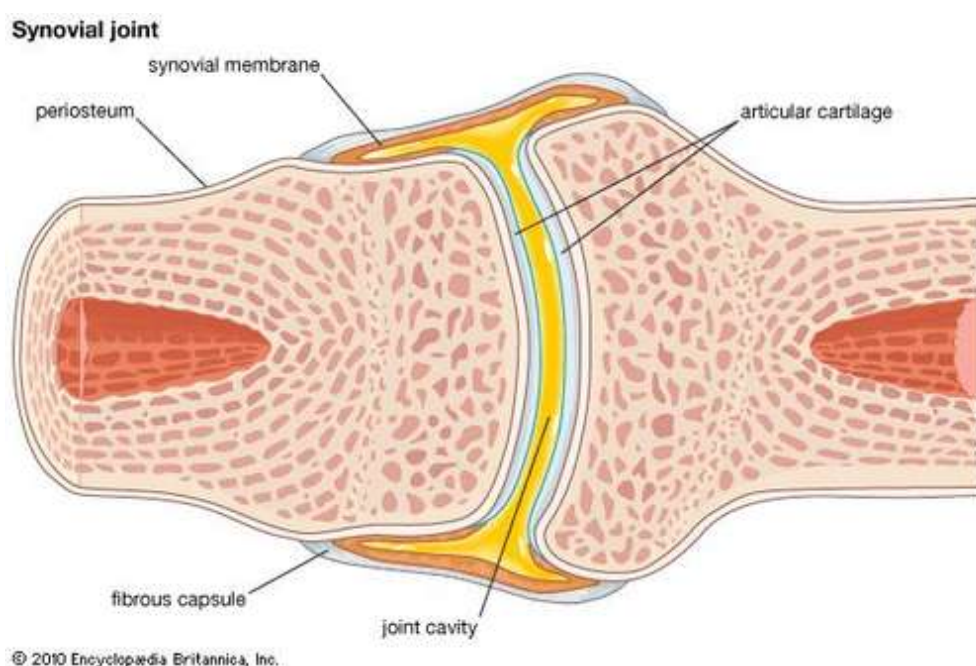
1-1. Αρθρικός χόνδρος

1-1-1. Σύνθεση αρθρικού χόνδρου

Ο αρθρικός χόνδρος λειτουργεί ως ιστός χαμηλής τριβής, ανθεκτικός στη φθορά, σχεδιασμένος να δέχεται και να διανέμει φορτία. Είναι ένας εξαιρετικά εξειδικευμένος ιστός με μοναδική μηχανική συμπεριφορά και πτωχή αναγεννητική ικανότητα. Ο αρθρικός χόνδρος έχει χαμηλή μεταβολική δραστηριότητα. αποτελείται από χονδροκύτταρα και πυκνή εξωκυττάρια ουσία (matrix) που αποτελείται κυρίως από νερό, κολλαγόνο και πρωτεογλυκάνη. Αν και τα κύτταρα αποτελούν μόνο το 5% περίπου του βάρους, ο μεταβολισμός των χονδροκυττάρων είναι υπεύθυνος για τη διατήρηση της σταθερότητας της εξωκυττάριας ουσίας. Η ισορροπία μεταξύ αναβολισμού και καταβολισμού της εξωκυττάριας ουσίας είναι κρίσιμη για την ομοιόσταση του αρθρικού χόνδρου [6].

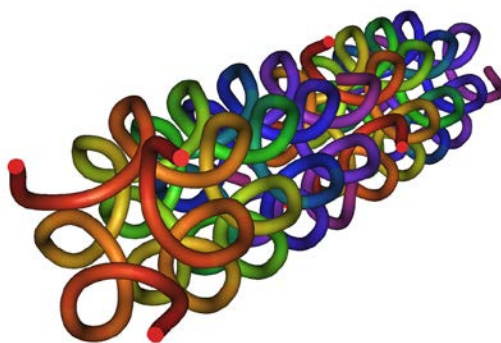
Τα χονδροκύτταρα αποτελούν το 1 - 5% του συνολικού όγκου και το 10% του βάρους του αρθρικού χόνδρου [6]. Εδράζονται σε κοιλότητες της εξωκυττάριας ουσίας και εμφανίζουν εσοχές και προσεκβολές οι οποίες αυξάνουν τη συνολική επιφάνεια τους, διευκολύνοντας την ανταλλαγή θρεπτικών ουσιών με τον εξωκυττάριο χώρο, γεγονός που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη θρέψη αυτών των κυττάρων.

Το μίγμα υγρού και εξωκυττάριας ουσίας παρέχει τις ιδιότητες της βιομηχανικής και της χαμηλής τριβής του αρθρικού χόνδρου. Τα κύρια συστατικά της εξωκυττάριας ουσίας του αρθρικού χόνδρου είναι το νερό, το κολλαγόνο τύπου II και οι πρωτεογλυκάνες. Η εξωκυττάρια ουσία μπορεί να θεωρηθεί ότι έχει διφασική δομή. Ο ιστός αποτελείται από μια στερεή φάση που αποτελείται από κολλαγόνο και πρωτεογλυκάνες και μια υγρή φάση, η οποία αποτελείται από νερό και ιόντα. Η στερεά φάση έχει χαμηλή διαπερατότητα λόγω της μεγάλης αντοχής στην τριβή έναντι της ροής ρευστού. Αυτό προκαλεί υψηλή διάμεση πίεση στην υγρή φάση, η οποία συνεισφέρει περισσότερο από το 90% στην ικανότητα μετάδοσης φορτίου του αρθρικού χόνδρου. Η χαμηλή διαπερατότητα της στερεάς φάσης και η προκύπτουσα υψηλή πίεση της υγρής φάσης δημιουργούν τόσο την ακαμψία όσο και τις ιξωδοελαστικές ιδιότητες του χόνδρου [7, 8].



Εικόνα 1. Αρθρικοί ιστοί: Αρθρικός χόνδρος, αρθρική κοιλότητα, αρθρικός υμένας, αρθρικός θύλακος. Τροποποιημένο από Brittanica [9].

Το στερεό συστατικό του αρθρικού χόνδρου αποτελείται κυρίως από ένα δίκτυο ινιδίων κολλαγόνου που διατηρείται σε μια συγκεκριμένη χωρική διάταξη από συσσωματώματα πρωτεογλυκάνης. Το κολλαγόνο τύπου II αντιπροσωπεύει περίπου το 10% έως 20% του βάρους του αρθρικού χόνδρου και συμβάλλει στις ιδιότητες διατμήσεως και εφελκυσμού του ιστού. Όπως όλα οι τύποι κολλαγόνου, το κολλαγόνο τύπου II περιέχει μια χαρακτηριστική δομή τριπλής έλικας (εικόνα 2). Η ενδομοριακή και η διαμοριακή διασύνδεση των ινιδίων κολλαγόνου χρησιμεύουν για τη σταθεροποίηση της εξωκυττάριας ουσίας [5, 10].



Εικόνα 2. Τριπλή έλικα κολλαγόνου. Τροποποιημένο από Wikipedia [11].

Στον αρθρικό χόνδρο, η κύρια δομική πρωτεογλυκάνη είναι η αγκρεγάνη, η οποία αποτελείται από ένα κέντρο υαλουρονικού οξέος με πολυάριθμες πλάγιες αλυσίδες γλυκοζαμινογλυκανών. Αυτά τα μόρια αγγρεκάνης συνδέονται στον πρωτεϊνικό πυρήνα με ένα μόριο υαλουρονικού. Στο χόνδρο, τα μόρια υαλουρονικού σχηματίζουν ένα ικρίωμα στο οποίο συνδέονται μόρια αγγρεκανών σχηματίζοντας ένα μακρομοριακό σύμπλεγμα

γνωστό ως συσσωμάτωμα πρωτεογλυκάνης. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των μορίων της πρωτεογλυκάνης και των ινιδίων κολλαγόνου δημιουργεί μία σύνθετη στερεή μήτρα ενισχυμένη με ίνες. Οι πρωτεογλυκάνες συμπλέκονται και συμπιέζονται εντός του ενδιάμεσου χώρου μεταξύ των ινιδίων κολλαγόνου, που βοηθά στη διατήρηση μιας πορώδους διαπερατής στερεής μήτρας και καθορίζει την κίνηση της υγρής φάσης της εξωκυττάριας ουσίας [5, 12].

Εκτός από τις πρωτεογλυκάνες και το κολλαγόνο, στη σύσταση του αρθρικού χόνδρου περιλαμβάνεται ένας μικρός αριθμός μη κολλαγόνων πρωτεϊνών (ινωδονεκτίνη, ολιγομερή πρωτεΐνη του χόνδρου, θρομβοσπονδίνη, τενασκίνη, αγκυρίνη, ντεκορίνη διγλυκάνη, χονδροκαλσίνη, κ.α), οι οποίες μαζί με τις γλυκοπρωτεΐνες αποτελούν το 15-20% του βάρους του αρθρικού χόνδρου. Οι πρωτεΐνες αυτές συμβάλλουν στην οργάνωση και διατήρηση της δομής της εξωκυττάριας ουσίας [13, 14].

Το νερό είναι το πλέον άφθονο συστατικό του αρθρικού χόνδρου, αντιπροσωπεύοντας το 65% έως 80% του υγρού βάρους του. Η πλειονότητα του ύδατος περιέχεται εντός του ενδιάμεσου χώρου μεταξύ των ινιδίων κολλαγόνου, και διατηρείται στη θέση της από το αρνητικό φορτίο των πρωτεογλυκανών. Η υγρή φάση παρέχει στην εξωκυττάρια μήτρα τις ιξωδοελαστικές ιδιότητές της: τη διάρκεια της στο χρόνο, την αναστρέψιμη παραμορφωσιμότητα και την ικανότητα διασποράς του φορτίου [15].

1-1-2. Δομή αρθρικού χόνδρου

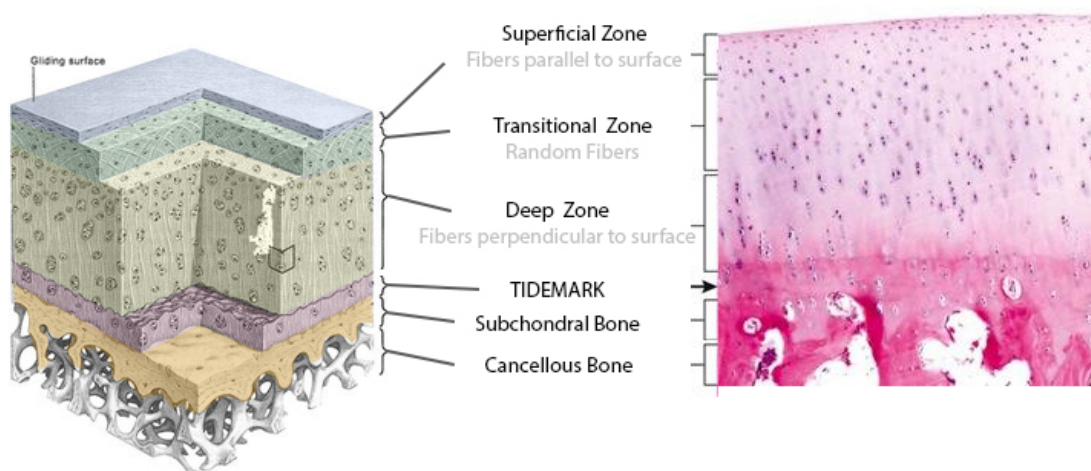
Ο αρθρικός χόνδρος έχει μια οργανωμένη πολυεπίπεδη δομή που μπορεί να διαρθρωθεί λειτουργικά και δομικά σε τέσσερις ζώνες: την

επιφανειακή ζώνη, τη μεσαία (ή μεταβατική) ζώνη, την εν τω βάθει ζώνη και τη ζώνη ασβεστοποιημένου χόνδρου (εικόνα 3). Η επιφανειακή ζώνη είναι η αρθρική επιφάνεια που παρέχει μια ομαλή επιφάνεια ολίσθησης και αντιστέκεται στις δυνάμεις διάτμησης, αποτελώντας περίπου το 10% έως 20% του πάχους του αρθρικού χόνδρου. Έχει το υψηλότερο ποσοστό κολλαγόνου από τις 4 ζώνες. Τα ινίδια κολλαγόνου είναι πυκνά τοποθετημένα και είναι ευθυγραμμισμένα παράλληλα με την αρθρική επιφάνεια. Αυτή η επιφανειακή ζώνη έχει το χαμηλότερο συντελεστή συμπίεσης και μπορεί παραμορφωθεί περίπου 25 φορές περισσότερο από τη μεσαία ζώνη. Τα χονδροκύτταρα σε αυτή τη ζώνη, είναι επιμήκη, εκφράζουν κατά προτίμηση πρωτεΐνες που έχουν λιπαντικές και προστατευτικές λειτουργίες και εκκρίνουν σχετικά λίγη πρωτεογλυκάνη. Μεταξύ των πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην λίπανση επιφάνειας, η πρωτεΐνη επιφανειακής ζώνης (Superficial Zone Protein, SZP) έχει αναγνωρισθεί ως ένα λειτουργικά σημαντικό μόριο. Επιπλέον, η ικανότητα βιοσύνθεσης της SZP έχει χρησιμοποιηθεί για τη φαινοτυπική διάκριση των χονδροκυττάρων επιφανειακής ζώνης από εκείνα των βαθύτερων στρωμάτων [14].

Η μεσαία ζώνη αποτελεί το 40% έως 60% του όγκου του αρθρικού χόνδρου. Αυτή η ζώνη έχει υψηλότερο συντελεστή συμπίεσης από την επιφανειακή ζώνη και λιγότερο οργανωμένη διάταξη των ινών κολλαγόνου. Τα ινίδια κολλαγόνου της μεσαίας ζώνης σχηματίζουν παχύτερες ίνες, είναι συσκευασμένα χαλαρά και ευθυγραμμίζονται λοξά στην επιφάνεια. Τα χονδροκύτταρα σε αυτό το στρώμα είναι πιο στρογγυλεμένα από ότι στην επιφανειακή ζώνη [12].

Η εν τω βάθει ζώνη αποτελεί το 30% του αρθρικού χόνδρου και αποτελείται από ινίδια κολλαγόνου μεγάλης διαμέτρου προσανατολισμένα κάθετα στην αρθρική επιφάνεια. Αυτή η ζώνη περιέχει την υψηλότερη συγκέντρωση πρωτεογλυκάνης και τη χαμηλότερη συγκέντρωση νερού και

έχει το υψηλότερο συντελεστή συμπίεσης. Τα χονδροκύτταρα είναι συνήθως διατεταγμένα κατά στήλες παράλληλα με τις ίνες κολλαγόνου και κάθετα προς την αρθρική επιφάνεια. Το tidemark χωρίζει την εν τω βάθει ζώνη από τον ασβεστοποιημένο χόνδρο, ο οποίος βρίσκεται ακριβώς πάνω από το υποχόνδριο οστό. Ο ασβεστοποιημένος χόνδρος περιέχει μικρά κύτταρα σε μια χονδροειδή μήτρα και είναι πλούσιος σε άλατα απατίτη [12, 16-18].



Εικόνα 3. Στιβάδες αρθρικού χόνδρου. Τροποποιημένο από Orthobullets [19].

1-1-3. Μεταβολισμός αρθρικού χόνδρου

Ο αρθρικός χόνδρος είναι ανάγγειος και δεν έχει νεύρωση. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, το αρθρικό χονδροκύτταρο του ενήλικα βρίσκεται σε κατάσταση ηρεμίας χωρίς ανιχνεύσιμη μιτωτική δραστηριότητα και έχει προσαρμοστεί σε περιβάλλον με χαμηλή παροχή οξυγόνου, διατηρώντας

σταθερό ενδοκυτταρικό μεταβολισμό και χαμηλή παραγωγή εξωκυττάριας ουσίας. Παρά την παραδοσιακή αντίληψη ότι τα χονδροκύτταρα ζουν σε ένα αναερόβιο περιβάλλον, οι επιφανειακές και μεσαίες ζώνες του αρθρικού χόνδρου δεν είναι ανοξικές. Το οξυγόνο διαχέεται στον αρθρικό χόνδρο και τα αρθρικά χονδροκύτταρα διαθέτουν μιτοχόνδρια και αναπνέουν παράγοντας ελεύθερες ρίζες οξυγόνου [20].

Τα επίπεδα οξυγόνου εντός του αρθρικού χόνδρου έχουν προσδιοριστεί μεταξύ 1% και 6%. Τα χονδροκύτταρα είναι προσαρμοσμένα σε περιβάλλον χαμηλής τάσης οξυγόνου. Ωστόσο, τάση του οξυγόνου κάτω από 1% εμποδίζει την πρόσληψη γλυκόζης, την παραγωγή γαλακτικού οξέος και τη σύνθεση κυτταρικού ριβονουκλεϊκού οξέος (RNA). Με άλλα λόγια, απαιτείται τουλάχιστον κάποια ελάχιστη συγκέντρωση οξυγόνου για τον βασικό μεταβολισμό των χονδροκυττάρων [21].

1-2. Αρθρικός υμένας

Ο αρθρικός υμένας είναι ένα λεπτό στρώμα αγγειοβριθούς συνδετικού ιστού που περιβάλλει την άρθρωση. Αποτελείται από δύο στρώματα: το εσωτερικό στρώμα, που αποτελείται από μακροφάγα ή συνοβιοκύτταρα ομοιάζοντα με ινοβλάστες (fibroblast-like synoviocytes) και το εξωτερικό στρώμα, αποτελούμενο από δύο έως τρία επίπεδα συνοβιοκυττάρων που βρίσκονται πάνω από χαλαρό συνδετικό ιστό πλούσιο σε ινοβλάστες, και άλλες πρωτεΐνες εξωκυττάριας ουσίας. Το εξωτερικό στρώμα έχει λίγα μακροφάγα και λεμφοκύτταρα, λιποκύτταρα και αιμοφόρα αγγεία, τα οποία

παρέχουν θρεπτικά συστατικά στον αρθρικό υμένα και στον γειτονικό ανάγγειο χόνδρο.

Ο αρθρικός υμένας αποτελείται από δυο κύρια είδη κυττάρων: τα συνοβιοκύτταρα τύπου A (υμενικά μακροφάγα), παράγουν κυτοκίνες και έχουν φαγοκυτταρικές ιδιότητες και τα συνοβιοκύτταρα τύπου B (υμενικοί ινοβλάστες) και παράγουν προσταγλανδίνες, υαλουρονικό οξύ, πρωτεάσες, κολλαγενάσες και άλλα ένζυμα ^[16].

1-3. Αρθρικό υγρό

Το αρθρικό υγρό παράγεται από τα συνοβιοκύτταρα της εσωτερικής στιβάδας του αρθρικού υμένα και συμβάλλει στη θρέψη των χονδροκυττάρων η οποία γίνεται με διάχυση των θρεπτικών ουσιών στη θεμέλια ουσία. Μια δεύτερη ιδιότητα του αρθρικού υγρού είναι η λίπανση των αρθρικών επιφανειών. Η λιπαντική ιδιότητα του αρθρικού υγρού οφείλεται κυρίως στην περιεκτικότητά του σε γλυκοπρωτεΐνες και υαλουρονικό οξύ ^[16].

1-4. Υποχόνδριο οστό

Το υποχόνδριο οστό βρίσκεται στην επιφάνεια επαφής μεταξύ του αρθρικού χόνδρου και του άκαμπτου σκελετού. Το βαθύτερο στρώμα του

αρθρικού χόνδρου είναι ασβεστοποιημένο (αλλά όχι οστεοποιημένο), παρέχοντας μια μεταβατική ζώνη μεταξύ του μη-ασβεστοποιημένου χόνδρου και της υποχόνδριας οστικής πλάκας. Το όριο μεταξύ ασβεστοποιημένου και μη-ασβεστοποιημένου χόνδρου εμφανίζεται ως βασεόφιλη γραμμή στις ιστολογικές τομές, και αναφέρεται ως tidemark. Τα βαθύτερα στρώματα του χόνδρου λαμβάνουν τη διατροφική τους υποστήριξη από το υποχόνδριο οστό, αντί του αρθρικού υμένα, και περιέχουν χονδροκύτταρα που ζουν σε ένα μικροπεριβάλλον, διαφορετικό από αυτό των επιφανειακών στιβάδων. Αμέσως κάτω από τον ασβεστοποιημένο χόνδρο είναι η υποχόνδρια πλάκα από σχετικά άκαμπτο φλοιώδες οστό. Κάτω από την υποχόνδρια πλάκα βρίσκεται το δοκιδωτό οστό της επιφύσεως, που περιέχει αιμοφόρα αγγεία, αισθητήρια νεύρα, ενδοθήλιο και αιμοποιητικό μυελό των οστών. Η σύγκλιση της οστεοχόνδριας σύνδεσης συμβαίνει κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του σκελετού, καθορίζοντας το όριο μεταξύ των υμενικών και των υποχόνδριων περιοχών σε μια υγιή ενήλικη άρθρωση. Το φυσιολογικό υποχόνδριο οστό "προστατεύει" τον αρθρικό χόνδρο αφού μπορεί να απορροφά το 30% των φορτίσεων της άρθρωσης ^[16].

Κεφάλαιο 2. Ιδιοπαθής οστεοαρθρίτιδα

2-1. Εισαγωγή

Η οστεοαρθρίτιδα είναι μία από τις πιο κοινές εκφυλιστικές αρθροπάθειες σε ηλικιωμένους πληθυσμούς, αποτελώντας την 4^η αιτία αναπηρίας, και συνοδεύεται από πόνο, κατάθλιψη και κοινωνικές επιπτώσεις στις οικογένειες των ασθενών. Πρόκειται για χρονοεξαντρώμενη και ηλικιοεξαντρώμενη νόσο που περιλαμβάνει προοδευτική καταστροφή των αρθρώσεων που σχετίζεται με τη βλάβη του αρθρικού χόνδρου, τη φλεγμονή του αρθρικού υμένα, τις μεταβολές του υποχόνδριου οστού και το σχηματισμό οστεοφύτων στο όριο της άρθρωσης (εικόνα 4). Συνοδεύεται από αυξημένες φλεγμονώδεις και καταβολικές αποκρίσεις, οι οποίες τελικά καταλήγουν σε απώλεια της αρχιτεκτονικής της άρθρωσης και τελική παραμόρφωση ^[1, 15]. Η ασθένεια επηρεάζει κυρίως τα άτομα ηλικίας άνω των 50 ετών (πρωτοπαθής / ιδιοπαθής οστεοαρθρίτιδα), αλλά μπορεί επίσης να αναπτυχθεί μετά από τραυματισμό των αρθρώσεων σε νεαρά άτομα (δευτεροπαθής / μετατραυματική οστεοαρθρίτιδα). Παρά το γεγονός ότι η οστεοαρθρίτιδα μπορεί να διαγνωστεί γρήγορα χρησιμοποιώντας απεικονιστικές τεχνικές, η ασθένεια εξελίσσεται αργά, αρκετά χρόνια πριν από τα πρώτα συμπτώματα, και ο κίνδυνος ευαισθησίας του ατόμου στη νόσο μπορεί να προβλεφθεί με βάση τη γονιδιακή ανάλυση, την ηλικία και τους περιβαλλοντικούς παράγοντες σε συνδυασμό με μοριακούς και απεικονιστικούς βιοδείκτες.

2-2. Παθογένεια

Η οστεοαρθρίτιδα είναι μια πολυπαραγοντική ασθένεια, που χαρακτηρίζεται από την προοδευτική καταστροφή των αρθρώσεων. Γενικά, επηρεάζει όλους τους ιστούς της άρθρωσης, όπως ο χόνδρος, τα οστά, ο αρθρικός υμένας, οι μύες και οι σύνδεσμοι. Ως εκ τούτου, η ανάπτυξη και η εξέλιξη της νόσου περιλαμβάνουν τη φλεγμονή της άρθρωσης, την οστική αναδιαμόρφωση και αυξημένες φλεγμονώδεις και καταβολικές αποκρίσεις. Η δομική ακεραιότητα της θεμέλιας ουσίας του αρθρικού χόνδρου διατηρείται από μια δυναμική ισορροπία μεταξύ της σύνθεσης και της αποικοδόμησης. Στην οστεοαρθρίτιδα, η διαταραχή της διαφοροποίησης και της λειτουργίας των χονδροκυττάρων επηρεάζει τη σύνθεση και τη δομή της εξωκυττάριας ουσίας του αρθρικού χόνδρου. Αυτή η διαταραχή προκαλεί την παραγωγή καταβολικών παραγόντων αρκετών για να ξεπεραστεί η αναβολική ικανότητα των χονδροκυττάρων, οδηγώντας σε συνολική απώλεια της κανονικής σύνθεσης της θεμέλιας ουσίας του αρθρικού χόνδρου. Ενώ η αποικοδόμηση των πρωτεογλυκανών θεωρείται ότι ανήκει στην πρώιμη αναστρέψιμη περίοδο αποικοδόμησης του χόνδρου, όταν εμπλακεί η αποδόμηση των ινών κολλαγόνου η βλάβη θεωρείται μη αναστρέψιμη ^[22]. Επομένως, σε αρκετές μελέτες η βλάβη του κολλαγόνου του αρθρικού χόνδρου θεωρείται ως κεντρικό γεγονός στην παθογένεση της οστεοαρθρίτιδας ^[23].

Η γήρανση έχει σημαντικό αντίκτυπο στην παθογένεση της ιδιοπαθούς οστεοαρθρίτιδας. Ορισμένα οστεοαρθρικά χονδροκύτταρα αποκτούν φαινότυπο γήρανσης με αυξημένη γονιδιακή αστάθεια, βράχυνση των τελομερών, επιγενετικές αλλοιώσεις (μειωμένη γονιδιακή μεθυλίωση και τροποποιήσεις ιστονών), διαταραχή του μεταβολισμού, μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και μεταβολή των ενδοκυττάριας σηματοδοτικών μονοπατιών ^[24, 25]. Κατά την εξέλιξη της ασθένειας,

εμφανίζονται ηλικιοεξαρτώμενες μεταβολές στην κυτταρική σηματοδότηση και το μεταβολισμό τόσο στα χονδροκύτταρα αλλά και σε οστεοκλάστες / οστεοβλάστες προκαλώντας ανισορροπία μεταξύ επαναρρόφησης του οστού και της οστικής αναδιαμόρφωσης και διαταραχών της δομής του υποχόνδριου οστού. Ωστόσο, δεν είναι ο μοναδικός παράγοντας κινδύνου. Η ασθένεια είναι πολυπαραγοντική, με παθογένεια στην οποία εμπλέκονται ποικίλες φυσιολογικές και μηχανικές διεργασίες, όπως η παχυσαρκία, η γενετική προδιάθεση, η κληρονομικότητα, οι μεταβολικές ή ενδοκρινικές μεταβολές, το τραύμα, η υπερφόρτωση αρθρώσεων και το μηχανικό στρες ^[15, 26].

2-3. Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί

Στα αρχικά στάδια της νόσου, οι αλλαγές στη λειτουργία και την επιβίωση των χονδροκυττάρων οδηγούν σε προοδευτική αποδιοργάνωση του αρθρικού χόνδρου. Σε μερικούς ασθενείς, αυτή η διαδικασία μπορεί να συνοδεύεται και διαιωνίζεται με δευτερογενή φλεγμονή και υμενίτιδα ^[27]. Ο εκφυλισμός του αρθρικού χόνδρου επιταχύνει τις καταβολικές διεργασίες και την οστική απορρόφηση από τους οστεοκλάστες, με αποτέλεσμα το σχηματισμό υποχόνδριων κύστεων και σκλήρυνσης. Οι απώλειες του αρθρικού χόνδρου και του υποχόνδριου οστού προκαλούν αντισταθμιστική αποκατάσταση από οστεοβλάστες με υπερβολική αναβολική δραστηριότητα, σχηματισμό νέου χόνδρου στα όρια της άρθρωσης (οστεόφυτα) και περιαρθρική ίνωση σε προχωρημένη νόσο ^[10].

Οι γονιδιακές μεταλλάξεις των μορίων της θεμέλιας ουσίας ή των παραγόντων που ρυθμίζουν τη σύνθεση των συστατικών της, μπορούν να

καταστήσουν τα χονδροκύτταρα υπερτροφικά και δυσλειτουργικά και να προκαλέσουν χονδροδυσπλασία σε σχετικά μικρή ηλικία [10]. Τα χονδροκύτταρα μπορούν να αποκτήσουν προοδευτικά αυτό τον διαταραγμένο φαινότυπο, ειδικά όταν εδράζονται σε φορτιζόμενες επιφάνειες. Με την πάροδο του χρόνου, η ευαισθησία στην οστεοαρθρίτιδα μπορεί να αυξηθεί λόγω συμπληρωματικών εμβιομηχανικών και δομικών διαταραχών στις αρθρώσεις που σχετίζονται με τη μειωμένη σωματική δραστηριότητα και τη μυϊκή ισχύ, το μειωμένο οστικό μεταβολισμό, τις λοιμώξεις, τον τραυματισμό των αρθρώσεων, τη φλεγμονή και τη διατροφή. Τέλος, οι ηλικιοεξαρτώμενες μεταβολές της σηματοδότησης των αυξητικών παραγόντων, οι οποίες απαιτούνται για τη μορφογένεση και την επιδιόρθωση, συμβάλλουν στην εξέλιξη της οστεοαρθρίτιδας στον ηλικιωμένο πληθυσμό. Σε μέσα και προχωρημένα στάδια της νόσου, διαφορετικοί τύποι κυττάρων μπορούν να εμπλέκονται στην παθολογία της νόσου: χονδροκύτταρα, αρθρικοί ινοβλάστες, οστεοβλάστες, οστεοκλάστες και κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος [28].



Εικόνα 4. Ακτινολογική εικόνα οστεοαρθρίτιδας γόνατος. Διακρίνονται η στένωση του μεσάρθριου, η υποχόνδρια σκλήρυνση, ο σχηματισμός οστεοφύτων και η διαταραχή της αρχιτεκτονικής της άρθρωσης. Από το αρχείο του συγγραφέα.

Κεφάλαιο 3. Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου

3-1. Εισαγωγή

Η ατμόσφαιρα της Γης σήμερα περιέχει 78% άζωτο και 21% οξυγόνο. Η ζωή έχει εξελιχθεί μέσα σε αυτήν την βιόσφαιρα έτσι ώστε τα ευκαρυωτικά κύτταρα να αντλούν μεγάλο μέρος των ενεργειακών τους απαιτήσεων μέσω του οξειδωτικού μεταβολισμού, ο οποίος αποτελεί το πιο αποτελεσματικό μέσο για την παραγωγή του ATP και τη διατήρηση της ζωής. Κατά τη διάρκεια της Προκάμβριας εποχής, το οξυγόνο είχε ελάχιστη συγκέντρωση (σε επίπεδο ιχνών), αλλά σε συγκεκριμένα χρονικά σημεία σε μια εξελισσόμενη γεωλογία, η συγκέντρωση αυτή αυξήθηκε και μειώθηκε, φτάνοντας το 35% κατ' ανώτατο όριο κατά τη διάρκεια της Λιθανθρακοφόρου περιόδου. Προφανώς, η ζωή έχει προσαρμοστεί (και κατά πάσα πιθανότητα συνεχίζεται να προσαρμόζεται) σε τόσο σημαντικές αλλαγές στη διαθεσιμότητα οξυγόνου.

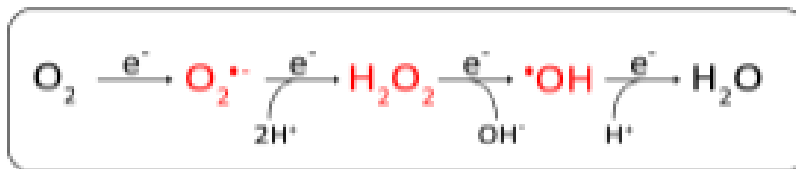
Μπορεί το οξυγόνο να αποτελεί πλέον μια υποχρεωτική ενεργειακή απαίτηση στα θηλαστικά, παραδόξως όμως προκαλεί επίσης σημαντικές τοξικότητες. Η βιοχημική μετατροπή του οξυγόνου μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου που συνεισφέρουν σημαντικά στην κυτταρική οξειδοαναγωγική κατάσταση. Γενικά, η τύχη ενός κυτάρου θηλαστικού εξαρτάται σχεδόν εξ ολοκλήρου από τα ενδοκυτταρικά και τα εξωκυτταρικά επίπεδα ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας εξέλιξης, σχετικά χαμηλά επίπεδα ελεύθερων ριζών οξυγόνου μπορούν να λειτουργήσουν ως σήματα για την προώθηση διεργασιών όπως ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση των κυττάρων, ενώ τα υψηλά επίπεδα πιθανότατα οδηγούν σε απόπτωση και κυτταρικό θάνατο ^[29].

3-2. Προέλευση

Ως ελεύθερη ρίζα (free radical) ορίζεται κάθε άτομο ή μόριο με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια, δηλαδή ηλεκτρόνια που κινούνται μόνα τους σε μια τροχιά γύρω από τον πυρήνα, σε αντίθεση με το σύνηθες φαινόμενο της ύπαρξης δυο ηλεκτρονίων, σε κάθε τροχιά, τα οποία παρουσιάζουν αντίθετη στροφορμή. Ως εκ τούτου, παρουσιάζουν ισχυρή τάση να αποσπούν ηλεκτρόνια από άλλες ενώσεις (εικόνα 5) ^[30].

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου περιλαμβάνουν τη ρίζα υδροξυλίου (OH^\cdot), το ανιόν υπεροξειδίου (O_2^\cdot), την υδροϋπεροξειδική ρίζα (HO_2^\cdot), το μονοξειδίο του αζώτου (NO) και το υποχλωριώδες ιόν (OCl^\cdot). Η παρουσία των μη ζευγαρωμένων ηλεκτρονίων στην εξωτερική στιβάδα τις καθιστά βραχύβιες, ασταθείς και εξαιρετικά δραστικές προκειμένου να πετύχουν μοριακή σταθερότητα ^[4]. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου όταν είναι συνδεδεμένες με πρωτεΐνες αποκτούν ιδιότητες ισχυρού οξειδωτικού και οξειδώνουν θετικά φορτισμένες χημικές ενώσεις. Στις μη-ελεύθερες ρίζες οξυγόνου συγκαταλέγονται το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), το υποχλωριώδες οξύ (HOCl) το υπεροξυνιτρώδες ανιόν (ONOO^\cdot). Ελεύθερες και μη, ρίζες οξυγόνου, έχουν τις ίδιες χημικές δράσεις και καλούνται ως δραστικές / ενεργείς μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) ^[30, 31].

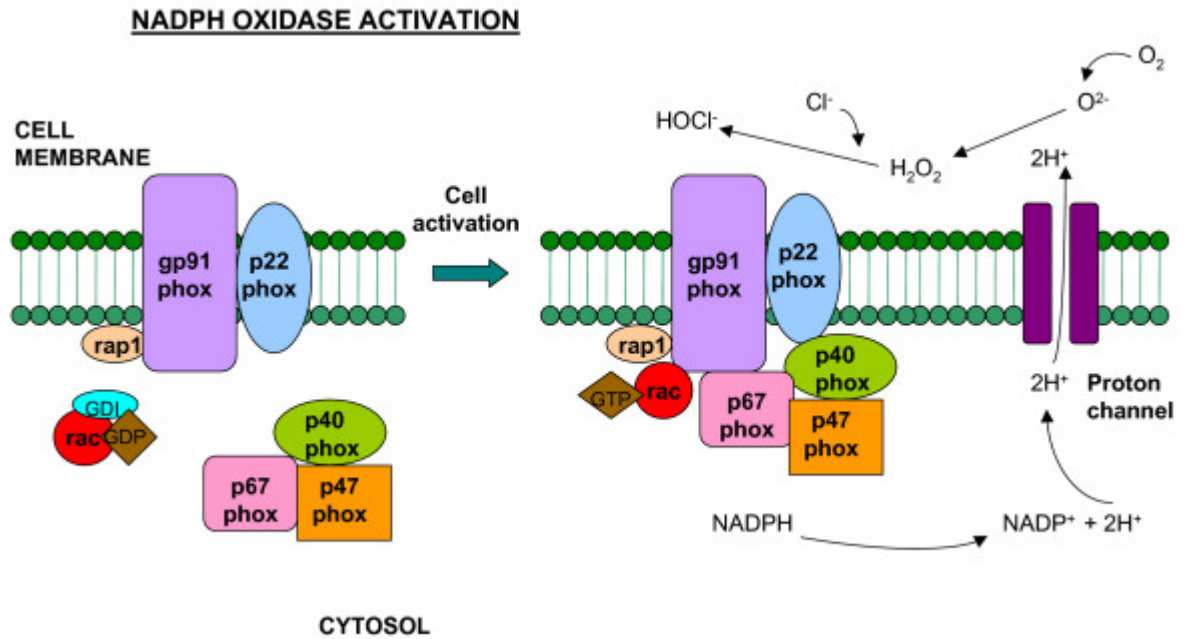
Οι κύριες θέσεις δημιουργίας ελεύθερων ριζών οξυγόνου περιλαμβάνουν τα μιτοχόνδρια (μέσω της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης), τη NADPH οξειδάση και την ξανθινοοξειδάση (XO). Από αυτές, η πιο πιθανή πηγή είναι τα μιτοχόνδρια: εκτιμάται ότι το 2 - 3% του συνολικού οξυγόνου που καταναλώνεται από τις αλυσίδες μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια μετατρέπεται σε O_2^\cdot και όχι σε νερό ^[32].



Εικόνα 5. Διαγραμματική απεικόνιση των διαδοχικών βημάτων αναγωγής του οξυγόνου σε νερό με βήματα ενός ηλεκτρονίου. Τροποποιημένο από Γάλαρη [31].

Η ενζυμική ομάδα της NADPH οξειδάσης (Nox1, Nox2, Nox3, Nox4, Nox5, Duox1 και Duox2) είναι η κύρια πηγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου στα φαγοκύτταρα μέσω της αντίδρασης $2\text{O}_2 + \text{NADPH} \rightarrow 2\text{O}_2^{\bullet -} + \text{NADP}^+ + \text{H}^+$ [6]. Η NADPH οξειδάση αποτελείται από 5 τμήματα: τρία κυτταροπλασματικά (p40rhox, p47rhox, p67rhox) και δύο μεμβρανικά (p22rhox και gp91 rhox) [33]. Κατόπιν επίδρασης του ερεθίσματος, τα κυτταροπλασματικά τμήματα μεταφέρονται στην εσωτερική επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης για να σχηματίσουν ένα πλήρως ενεργό ενζυμικό σύμπλοκο που έχει δραστηριότητα NADPH οξειδάσης (εικόνα 6). Μια παρόμοια διαδικασία πιστεύεται ότι συμβαίνει και σε μη φαγοκύτταρα [34]. Η ξανθοοξειδάση (XO) καταλύει την οξειδωση της υποξανθίνης σε ξανθίνη, παράγοντας H_2O_2 [35].

Σε όλα τα είδη που χρησιμοποιούν οξυγόνο για παραγωγή ενέργειας, έχουν εξελιχθεί εκτεταμένοι μηχανισμοί για την απομάκρυνση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Τα αντιοξειδωτικά συστήματα περιλαμβάνουν ενζυμικά και μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά όπως η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), καταλάση (CAT), υπεροξειδάση γλουταθειόνης (GPX), γλουταθειόνη (GSH), ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E) και καροτενοειδή. Οι ενώσεις αυτές αντιδρούν αυθόρμητα και με πολλές μορφές ελεύθερων ριζών οξυγόνου, διατηρώντας το ενδοκυτταρικό οξειδοαναγωγικό περιβάλλον [36].

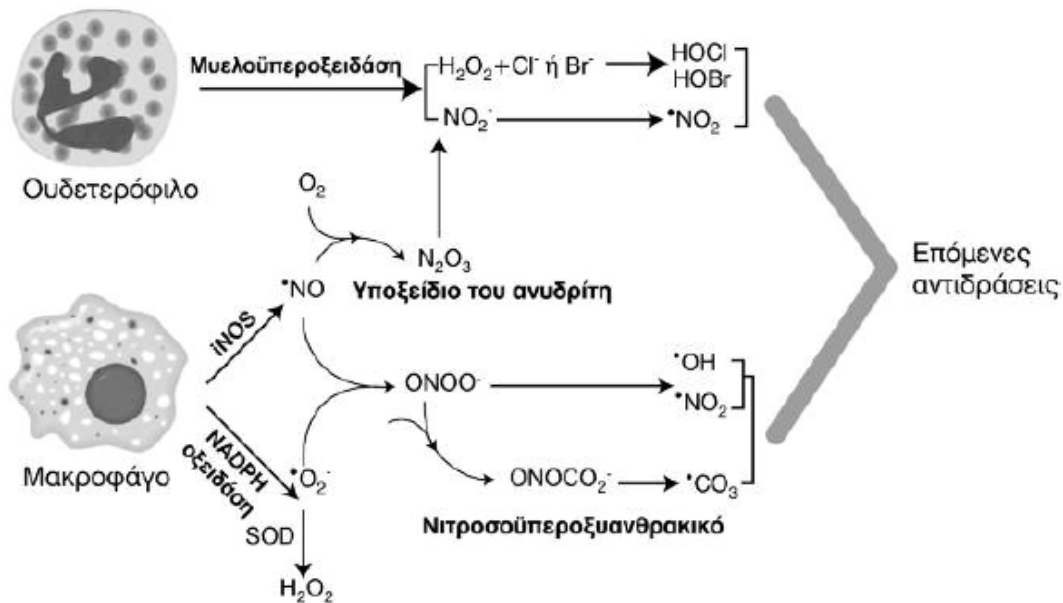


Εικόνα 6. Διαδικασία ενεργοποίησης της NADPH οξειδάσης, μετά από επίδραση ερεθίσματος και παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Τροποποιημένο από Assari et al [37].

3-3. Λειτουργίες

Είναι γνωστό ότι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου αποτελούν συστατικό της απάντησης του ανοσοποιητικού συστήματος στη βακτηριακή εισβολή. Η διεγερόμενη παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου από τα φαγοκύτταρα, καταλυόμενη από την NADPH οξειδάση, ονομαζόταν αρχικά "αναπνευστική έκρηξη" (respiratory burst) λόγω της αυξημένης κατανάλωσης οξυγόνου από τα φαγοκύτταρα (εικόνα 7) [38]. Έχει αποδειχθεί ότι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου παράγονται σε όλους τους κυτταρικούς τύπους και χρησιμεύουν ως σημαντικοί κυτταρικοί μεσολαβητές στην κανονική κυτταρική μεταγωγή

σήματος, τη ρύθμιση των γονιδίων και τον κυτταρικό κύκλο. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μεσολαβούν στην κυτταρική σηματοδότηση μέσω δύο μηχανισμών: αλλοιώσεις στην ενδοκυτταρική οξειδοαναγωγική κατάσταση και οξειδωτική τροποποίηση των πρωτεϊνών [39].



Εικόνα 7. Οξειδωτικά μόρια που παράγονται από τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα σε φλεγμονή. Τροποποιημένο από Παπαγαλάνη [40].

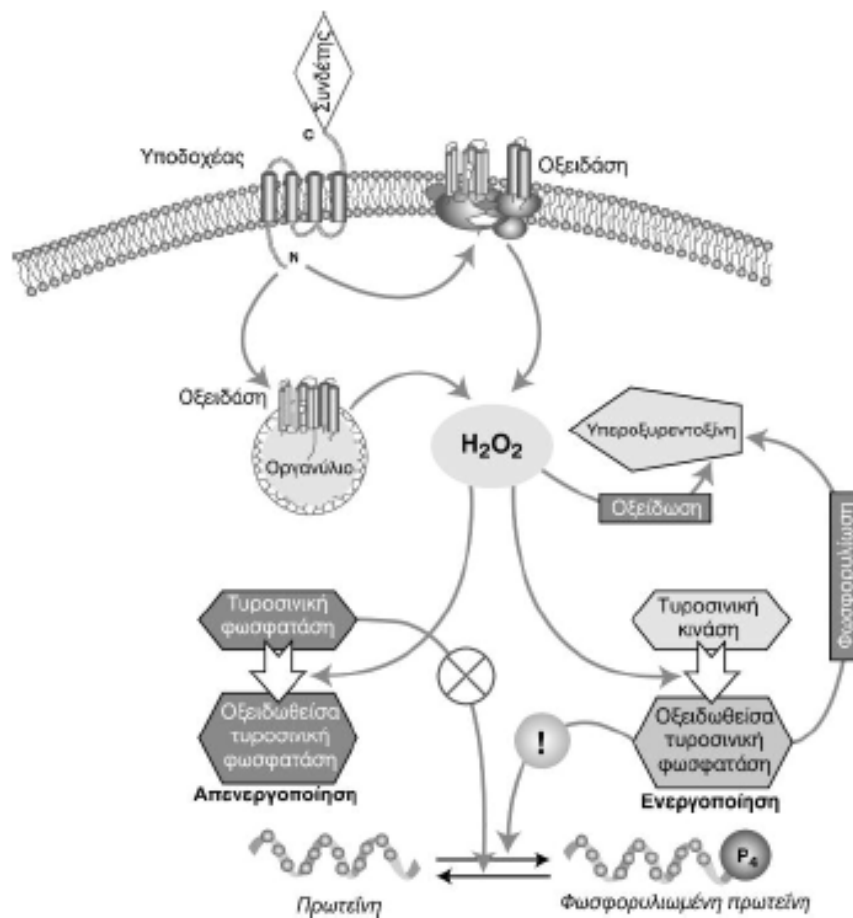
Η επαγόμενη από τις ελεύθερες ρίζες ενδοκυττάρια σηματοδότηση περιλαμβάνει την αναστολή τυροσινικών φωσφατασών που επάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη μετατόπιση και ενεργοποίηση κινασών σερίνης / θρεονίνης, όπως η πρωτεϊνική κινάση C, την ενεργοποίηση MAPK κινασών, του πυρηνικού παράγοντα NF-κB, της πρωτεΐνης p53, του μεταγραφικού παράγοντα AP-1 και σηματοδοτικών μονοπατιών λιπιδίων

(φωσφολιπάσες, PKC και PI3-κινάση) (εικόνα 8) ^[41]. Ένας άλλος σημαντικός μηχανισμός για τη δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου είναι η αναστρέψιμη οξειδωση της σουλφυδρυλικής ομάδας (-SH) των κυστεϊνών για το σχηματισμό παραγώγων SOH, SO₂H ή SO₃H που μεταβάλλουν την ενζυμική δραστηριότητα αν η κυστεΐνη βρίσκεται στην καταλυτική περιοχή ή στη θέση πρόσδεσης του DNA ^[42]. Έμμεσα, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου συμβάλλουν στη μετα-μεταφραστική τροποποίηση διαφόρων μακρομορίων (κινάσες, φωσφατάσες, κασπάσες, μεταγραφικοί παράγοντες) σχηματίζοντας ενδομοριακές δισουλφιδικές γέφυρες μεταξύ των κυστεϊνών οδηγώντας σε αλλαγή στη δομή των πρωτεϊνικών κινασών και στην αναστρέψιμη απενεργοποίηση των φωσφατασών ^[43]. Τα ενδοκυττάρια επίπεδα ασβεστίου είναι σημαντικά για τη ρύθμιση των σηματοδοτικών οδών που ελέγχονται από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, ενώ ταυτόχρονα οι ελεύθερες ρίζες ελέγχουν τη δραστηριότητα των διαύλων ασβεστίου της κυτταρικής μεμβράνης και των μιτοχονδρίων ^[44].

Η βιολογία των ελεύθερων ριζών οξυγόνου έχει δυο διακριτά πρόσωπα: Το οξειδωτικό στρες και την οξειδοαναγωγική σηματοδότηση, τα οποία συμβάλλουν σε φυσιολογικές και παθολογικές κυτταρικές λειτουργίες. Το οξειδωτικό στρες έχει οριστεί ως η διαταραχή στην ισορροπία μεταξύ της παραγωγής ελεύθερων ριζών οξυγόνου και των αντιοξειδωτικών αμυντικών μηχανισμών και μπορεί να οδηγήσει σε τραυματισμό των ιστών ^[45]. Η οξειδοαναγωγική σηματοδότηση αναφέρεται στην ενεργοποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών που εμπλέκονται σε φυσιολογικές κυτταρικές διεργασίες από τη χαμηλή ενδοκυττάρια συγκέντρωση ελεύθερων ριζών οξυγόνου.

Τα κύτταρα ανταποκρίνονται στις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου με διαφορετικούς τρόπους ανάλογα με την ένταση και τη διάρκεια της σηματοδότησης και την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου. Όταν το

οξειδωτικό επίπεδο δεν υπερβαίνει τις αναγωγικές ικανότητες των κυττάρων, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου εμπλέκονται σε αρκετές φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της μετάδοσης ενδοκυττάρων σημάτων [46]. Αντίθετα, σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όταν η κυτταρική αντιοξειδωτική ικανότητα δεν επαρκεί για την αποτοξίνωση από τις ελεύθερες ρίζες, μπορεί να προκύψει οξειδωτικό στρες και οι ελεύθερες ρίζες να αντιδράσουν με το DNA, τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια, διαταράσσοντας τη δομή και τη λειτουργία τους προκαλώντας κυτταροτοξικότητα [3].



Εικόνα 8. Σηματοδοτική οδός του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) για την τροποποίηση της δράσης τυροσινικών κινασών και φωσφατασών. Τροποποιημένο από Παπαγαλάνη [40].

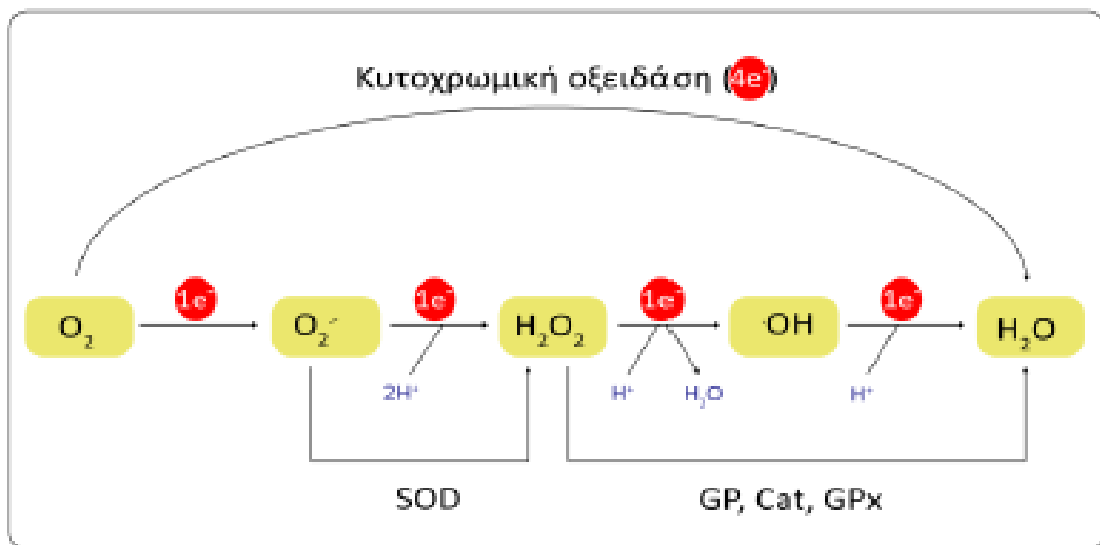
Το οξειδωτικό στρες μπορεί επίσης να προκαλέσει απόπτωση κυττάρων και απελευθέρωση κυτταρικού περιεχομένου σε εξωκυτταρικό περιβάλλον. Συνολικά, τα προϊόντα αποικοδόμησης και το κυτταρικό περιεχόμενο που περιέχει οξειδωμένα μόρια μπορεί να προκαλέσουν φαύλο κύκλο, που αποτελείται από πρόσφατα σχηματισμένες ελεύθερες ρίζες και περαιτέρω προϊόντα αποικοδόμησης. Γίνεται εμφανές ότι εντός των κυττάρων υπάρχει ένα πολύ περίπλοκο ενδοκυτταρικό ρυθμιστικό σύστημα που εμπλέκει τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου [47].

Ανάλογα με τις ενδοκυττάρειες συγκεντρώσεις ελεύθερων ριζών οξυγόνου, ενεργοποιούνται διάφοροι μεταγραφικοί παράγοντες ευαίσθητοι στις ελεύθερες ρίζες, ρυθμίζοντας διαφορετικές βιολογικές αποκρίσεις [48]. Τα χαμηλά επίπεδα ελεύθερων ριζών οξυγόνου διεγείρουν την παραγωγή Nrf2, ο οποίος είναι μεταγραφικός παράγοντας που εμπλέκεται στην γονιδιακή έκφραση των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Τα ενδιάμεσα επίπεδα ελεύθερων ριζών οξυγόνου ενεργοποιούν τον μεταγραφικό παράγοντα AP-1 και την οδό σηματοδότησης NF-κB, προκαλώντας φλεγμονώδεις διεργασίες. Οι υψηλές συγκεντρώσεις ROS διαταράσσουν τη μιτοχονδριακή διαπερατότητα και τη μεταφορά ηλεκτρονίων οδηγώντας σε απόπτωση ή νέκρωση [45, 49].

3-4. Αντιοξειδωτικά κυτταρικά συστήματα

Οι αντιοξειδωτικοί παράγοντες προστατεύουν τα κύτταρα από τη βλάβη που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Η SOD καταλύει τη μετατροπή του O_2^- σε H_2O_2 και O_2 , ενώ η CAT, η GPX και η βιταμίνη C καταλύουν την τελική αντίδραση του H_2O_2 σε H_2O και O_2 (εικόνα 9) [36]. Τρεις διακριτές μορφές SOD (εικόνα 10) είναι παρούσες στον άνθρωπο: Η

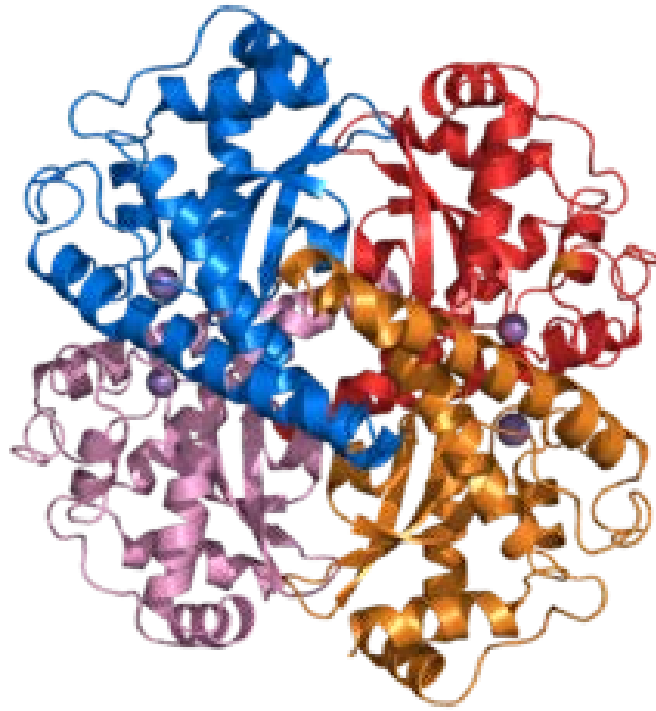
κυτταροπλασματική SOD (SOD1) που εντοπίζεται πρωταρχικά στο κυτταρόπλασμα, η μιτοχονδριακή SOD (SOD2 ή MnSOD) που βρίσκεται στα μιτοχόνδρια και η εξωκυτταρική SOD (SOD3 ή EC-SOD) που εκκρίνεται ως τετραμερής γλυκοπρωτεΐνη με θετικά φορτισμένη θέση πρόσδεσης ηπαρίνης [50].



Εικόνα 9. Απεικόνιση του σχηματισμού ενδιάμεσων μορφών αναγωγής του O_2 με σταδιακά βήματα του ενός ηλεκτρονίου. Απεικονίζεται η μετατροπή του O_2^- σε H_2O από τη SOD, καθώς και η αναγωγή του H_2O_2 σε H_2O από τα ένζυμα CAT, GPx (υπεροξειδάση της γλουταθειόνης) και Prx (περοξυρεδοξίνη). Τροποποιημένο από Γάλαρη [31].

Η EC-SOD εντοπίζεται στην επιφάνεια των κυττάρων και στην εξωκυττάρια ουσία των ιστών συνδέοντας τα αρνητικά φορτισμένα μόρια, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεογλυκανών και του κολλαγόνου. Σε αυτή την εξωκυττάρια θέση μπορεί να προστατεύσει τα ευάλωτα μακρομόρια της

εξωκυττάριας ουσίας από την οξειδωτική βλάβη ^[50]. Η CAT συμμετέχει στη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων που κωδικοποιούν διάφορους μεσολαβητές φλεγμονής ^[51].



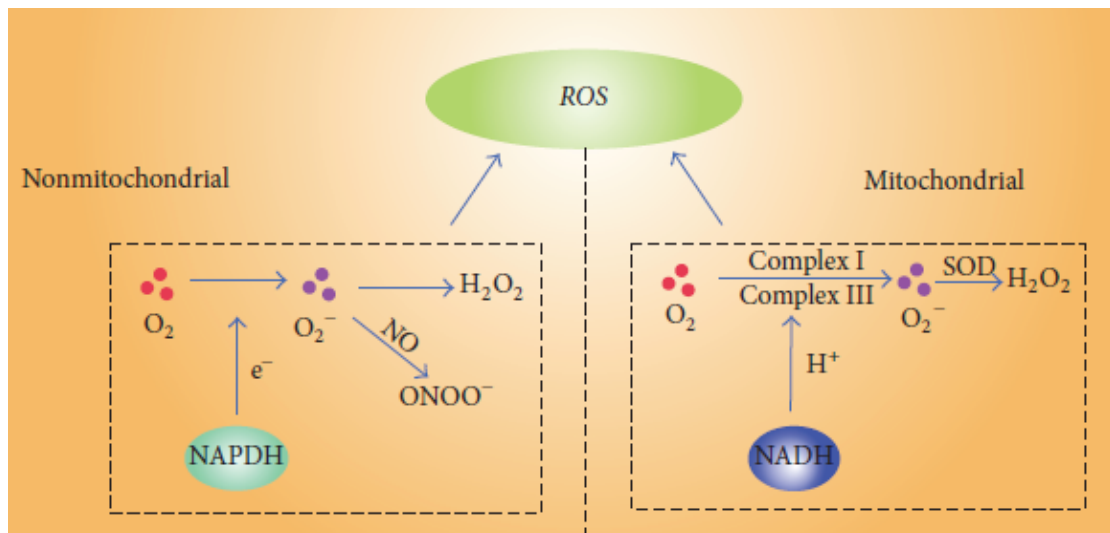
Εικόνα 10. Μοριακή δομή SOD. Τροποποιημένο από Wikipedia ^[11].

Κεφάλαιο 4. Ρόλος των ενεργών ριζών οξυγόνου στον αρθρικό χόνδρο

4-1. Παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου από τα χονδροκύτταρα στην οστεοαρθρίτιδα

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου παράγονται σε χαμηλά επίπεδα στα χονδροκύτταρα του αρθρικού χόνδρου, κυρίως από την NADPH οξειδάση, και δρουν ως παράγοντες ενδοκυτταρικών σηματοδοτικών μηχανισμών συμβάλλοντας στη διατήρηση της ομοιόστασης του χόνδρου καθώς ρυθμίζουν την απόπτωση των χονδροκυττάρων, τη γονιδιακή έκφραση, την σύνθεση και την αποικοδόμηση της εξωκυττάριας ουσίας και την παραγωγή κυτοκινών ^[52]. Έχει βρεθεί ότι η παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου και το οξειδωτικό στρες είναι αυξημένα σε ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα ^[53]. Ο οστεοαρθρικός χόνδρος έχει σημαντικά μεγαλύτερη βλάβη στο DNA προκαλούμενη από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου σε σχέση με το φυσιολογικό χόνδρο και αυτή η βλάβη προκαλείται από την ιντερλευκίνη-1 (IL-1) ^[54]. Τα στοιχεία για την εμπλοκή των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στην αποδόμηση του χόνδρου προέρχονται από την παρουσία προϊόντων οξειδωσης λιπιδίων, όπως οι οξειδωμένες λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (ox-LDL), στα βιολογικά υγρά και στον χόνδρο ασθενών με αρθρίτιδα και στα ζωικά μοντέλα της οστεοαρθρίτιδας ^[52]. Αντίθετα, τα αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως οι SOD, CAT και GPX είναι ελαττωμένα στους ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα, επιβεβαιώνοντας το ρόλο του οξειδωτικού στρες στην παθογένεση της νόσου ^[55, 56].

Οι ρίζες O_2^- παράγονται από την NADPH οξειδάση, τα συστατικά της οποίας εκφράζονται στα ανθρώπινα χονδροκύτταρα του αρθρικού χόνδρου (εικόνα 11) [57, 58]. Μελέτη των Hiran et al απέδειξε ότι τα χοίρεια αρθρικά χονδροκύτταρα μπορούν να απελευθερώσουν ελεύθερες ρίζες οξυγόνου χρησιμοποιώντας ενζυμικό σύμπλεγμα τύπου NADPH οξειδάσης [59]. Η NADPH οξειδάση που εκφράζεται από χονδροκύτταρα είναι το κύριο ένζυμο που είναι υπεύθυνο για το σχηματισμό ελεύθερων ριζών οξυγόνου στο αρθρικό υγρό, συμβάλλοντας στην αύξηση του οξειδωτικού στρες στο εσωτερικό της άρθρωσης και στην προοδευτική αποικοδόμηση του αρθρικού χόνδρου στην οστεοαρθρίτιδα [60, 61].

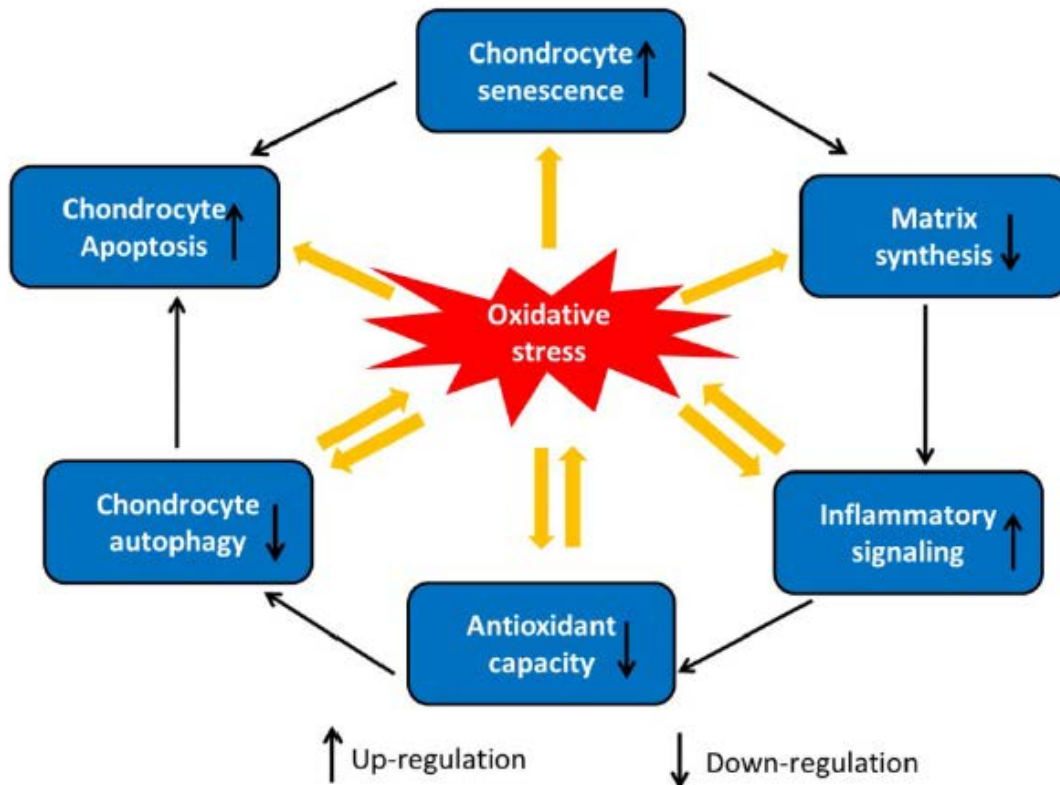


Εικόνα 11. Κύριες πηγές ελεύθερων ριζών οξυγόνου στα χονδροκύτταρα.

Τροποποιημένο από Li et al [62].

4-2. Λειτουργίες ελεύθερων ριζών οξυγόνου στον οστεοαρθρικό χόνδρο

Σε παθολογικές καταστάσεις, όπως στην οστεοαρθρίτιδα, η τάση του οξυγόνου στο αρθρικό υγρό υπόκειται σε διακυμάνσεις με αποτέλεσμα την παθολογική επιτάχυνση του ιστικού μεταβολισμού και τη δημιουργία παρατεταμένων μη φυσιολογικών φορτίων στην άρθρωση [63]. Σε απάντηση στις μεταβολές της τάσης του οξυγόνου, τη μηχανική καταπόνηση και τους φλεγμονώδεις μεσολαβητές (IL-1β, TNF-α, IFNγ, ox-LDL, LPS, IL-17), τα χονδροκύτταρα παράγουν μη φυσιολογικά επίπεδα ελεύθερων ριζών οξυγόνου μέσω της NADPH οξειδάσης και XO, κυρίως O_2^- και μονοξειδίου του αζώτου (NO), τα οποία με τη σειρά τους αντιδρούν παράγοντας άλλες δραστικές ρίζες όπως υπεροξυνιτρώδες ανιόν ($ONOO^-$) και υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), με τελικό προϊόν το σχηματισμό 3-νιτροτυροσίνης, που προκαλεί την οξειδωτική βλάβη των πρωτεϊνών, των λιπιδίων, των υδατανθράκων και του DNA στον ανθρώπινο αρθρικό χόνδρο [64-68]. Σε παθολογικές καταστάσεις, οι πλεονάζουσες ελεύθερες ρίζες οξυγόνου δρουν ως ενδοκυττάριοι αγγελιοφόροι και συμβάλλουν στην αποικοδόμηση του χόνδρου αναστέλλοντας τη σύνθεση της εξωκυττάριας ουσίας, τη μετανάστευση των κυττάρων και τη βιοδραστικότητα των αυξητικών παραγόντων, στην αποικοδόμηση των συστατικών της εξωκυττάριας ουσίας, , την ενεργοποίηση μεταλλοπρωτεασών και την επαγωγή κυτταρικού θανάτου. Παράλληλα η αντιοξειδωτική ικανότητα και η αυτοφαγία των χονδροκυττάρων μειώνονται (εικόνα 12).

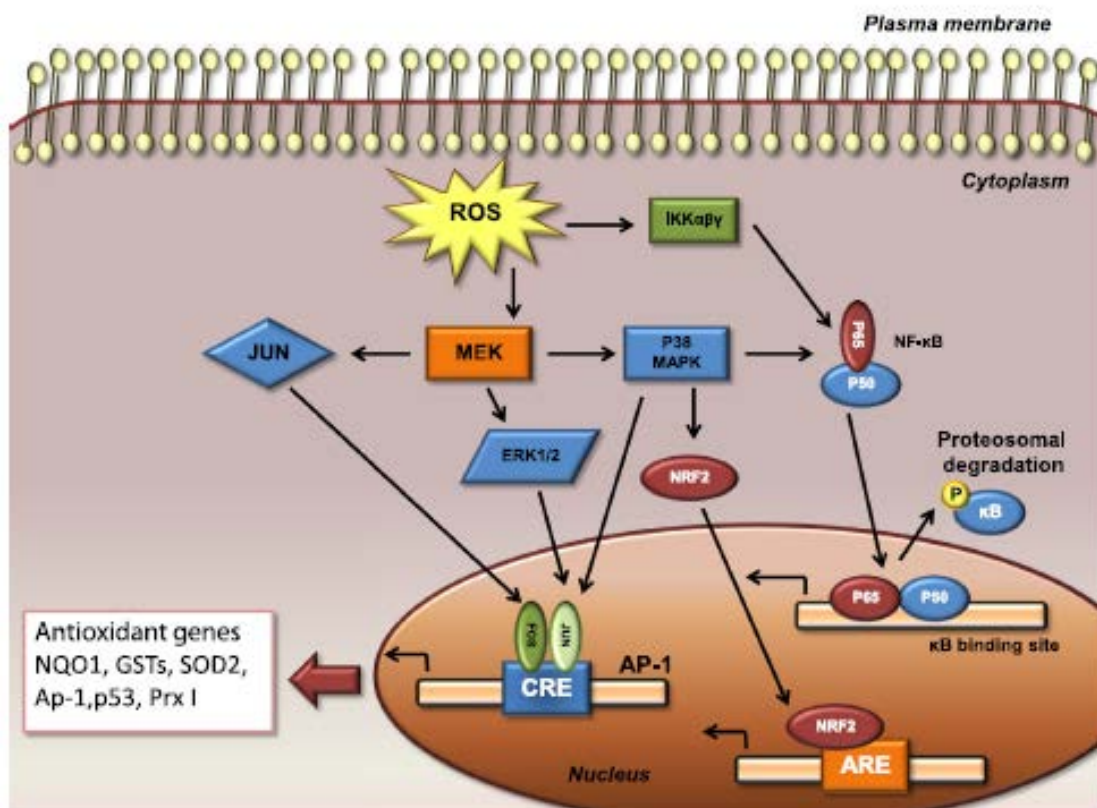


Εικόνα 12. Δράσεις του οξειδωτικού στρες στα χονδροκύτταρα. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου αυξάνουν τη γήρανση και την απόπτωση των χονδροκυττάρων και τη φλεγμονώδη σηματοδότηση ενώ ελαττώνουν την αυτοφαγία των χονδροκυττάρων, την αντιοξειδωτική ικανότητα και τη σύνθεση της εξωκυττάριας ουσίας του αρθρικού χόνδρου. Τροποποιημένο από Wang et al ^[69].

4-2-1. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στην ενδοκυττάρια σηματοδότηση στον οστεοαρθρικό χόνδρο

Στα χονδροκύτταρα του αρθρικού χόνδρου, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου δρουν ως ενδιάμεσα σήματα σε πολλαπλά σηματοδοτικά μονοπάτια που περιλαμβάνουν κυτοκίνες, αυξητικούς παράγοντες και

πρωτεΐνες της θεμέλιας ουσίας (εικόνα 13). Οι αποκρίσεις των κυττάρων στις κυτοκίνες και στους αυξητικούς παράγοντες εξαρτώνται από την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου η οποία είναι αποτέλεσμα μιας λεπτής ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής ελεύθερων ριζών οξυγόνου και του επιπέδου των ενδοκυτταρικών αντιοξειδωτικών. Αυτή η ισορροπία ρυθμίζεται μερικώς από εξωγενείς παράγοντες, όπως η τάση οξυγόνου ή οι κυτοκίνες. Σε παθολογικές καταστάσεις, όπως η οστεοαρθρίτιδα, η οξειδοαναγωγική κατάσταση μπορεί να μεταβληθεί και οι αποκρίσεις των κυττάρων σε βιοχημικούς παράγοντες να τροποποιηθούν πλήρως [70].



Εικόνα 13. Ενεργοποίηση ενδοκυτταρικών σηματοδοτικών μονοπατιών (NF-κB, JUN, MEK, p38, MAPK, ERK1/2, Nrf2) στα χονδροκύτταρα, από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS). Τροποποιημένο από Espinoza-Diez et al [71].

Το αυξημένο οξειδωτικό στρες οδηγεί στην αύξηση της παραγωγής οξειδο-ευαίσθητων μεταγραφικών παραγόντων, όπως ο NF-κB, που συμβάλλουν στις φλεγμονώδεις μεταβολές στον οστεοαρθρικό ιστό, συμπεριλαμβανομένης της επαγωγής έκφρασης συνθετάσης του μονοξειδίου του αζώτου (NOS), ιντερλευκίνης-8 (IL-8) και κυκλοοξυγενάσης-2 (COX-2) . Τα αυξημένα επίπεδα ελεύθερων ριζών οξυγόνου αναστέλλουν την οδό PI3K / Akt και ενεργοποιούν την οδό MEK / ERK στα οστεοαρθρικά χονδροκύτταρα. Η ισορροπία αυτών των οδών είναι σημαντική για την έναρξη, τη φλεγμονώδη διαδικασία και την εξέλιξη της οστεοαρθρίτιδας [72]. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου δρουν ως ενδιάμεσα σηματοδοτικά μόρια στην ενεργοποίηση του JNK από την IL-1 και τον TNF-α σε χονδροκύτταρα [73]. Ταυτόχρονα, η ενεργοποίηση του Nrf2 αναστέλλει την επαγόμενη από την IL-1β φλεγμονή και την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου στα χονδροκύτταρα. Έχει βρεθεί ότι στα βόεια αρθρικά χονδροκύτταρα, ο TNF-α και ο bFGF επάγουν την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου μέσω NADPH οξειδάσης, με αποτέλεσμα την αύξηση της έκφρασης c-fos [74]. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, ενεργώντας ως ενδιάμεσοι μεσολαβητές, δρουν σε μεμβρανικά κανάλια μεταφοράς ιόντων προκαλώντας τη φωσφορυλίωση πρωτεϊνών, ρυθμίζοντας το ενδοκυτταρικό pH και την ιοντική ομοιόσταση [75].

4-2-2. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στην απόπτωση των χονδροκυττάρων στον οστεοαρθρικό χόνδρο

Τα χονδροκύτταρα είναι κύτταρα αδρανή και δεν μπορούν να πολλαπλασιαστούν. Ο θάνατος των χονδροκυττάρων θεωρείται σημαντικός παράγοντας στην παθογένεια της οστεοαρθρίτιδας και το οξειδωτικό στρες φαίνεται να διαδραματίζει μείζονα ρόλο παίζοντας ρόλο στην απόπτωση των

χονδροκυττάρων ^[76]. Η απόπτωση είναι μια σύνθετη ενδοκυτταρική διαδικασία που προκύπτει από την ισορροπία μεταξύ αποπτωτικών και μη αποπτωτικών παραγόντων και διεργασιών ^[77]. Η περίσσεια ελευθέρων ριζών οξυγόνου έχει συνδεθεί με τη δόσο-εξαρτώμενη απόπτωση των χονδροκυττάρων τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* ενώ έχει αναφερθεί ότι τα αποπτωτικά χονδροκύτταρα στην οστεοαρθρίτιδα περιέχουν 3-νιτροτυροσίνη ^[78, 79]

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου προκαλούν απόπτωση των χονδροκυττάρων μέσω της ρύθμισης των οδών σηματοδότησης PI3K / Akt και JNK ^[80]. Το αυξημένο οξειδωτικό στρες καθιστά τα χονδροκύτταρα πιο ευαίσθητα στον κυτταρικό θάνατο, μέσω της απορρύθμισης του αντιοξειδωτικού συστήματος της γλουταθειόνης ^[81]. Επιπλέον, η 4-υδροξυμινεράλη (HNE), ένα προϊόν οξείδωσης των λιπιδίων, προκαλεί απόπτωση των ανθρώπινων χονδροκυττάρων μέσω της ενεργοποίησης των κασπασών -3, -8 και -9, ελάττωσης της έκφρασης του Bcl-2 και αύξησης της έκφρασης του Bax ^[82]. Στην ίδια μελέτη, βρέθηκε ότι η HNE είναι κυτταροτοξική για τα χονδροκύτταρα σε συγκέντρωση μεγαλύτερη από 20 μΜ. Στις συγκεντρώσεις αυτές, η HNE ελαττώνει πολύ τη βιωσιμότητα των χονδροκυττάρων καταστρέφοντας τη χρωματίνη ^[82]. Η HNE μπορεί επίσης να προκαλέσει απόπτωση των χονδροκυττάρων, μετά από σύνδεση με το κολλαγόνο τύπου II και τροποποίηση της έκφρασης μορίων προσκόλλησης (ICAM-1, α1β1-ιντεγκρίνες) ^[83].

Η απόπτωση είναι συνέπεια της αδρανοποίησης των κυττάρων, μετά την επαγωγή της βλάβης του DNA ^[84]. Σε καταστάσεις αυξημένου οξειδωτικού στρες, μπορεί να συμβεί ανισορροπία μεταξύ της βλάβης και της επιδιόρθωσης του DNA, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση μη επιδιορθωμένων βλαβών του DNA που θα μπορούσε να οδηγήσει σε μεταβολή της γονιδιακής μεταγραφής και τον σχηματισμό μεταβλημένων πρωτεϊνών ή την επαγωγή

απόπτωσης ^[85, 86]. Επιπλέον, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μπορεί να προκαλέσει βλάβη στα μιτοχόνδρια, με αποτέλεσμα τη μείωση της ακεραιότητας και της ικανότητας επιδιόρθωσης του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA) και τελικά να οδηγήσει στον θάνατο των χονδροκυττάρων ^[87]. Ο μεταγραφικός παράγοντας Nrf2 που κωδικοποιεί αντιοξειδωτικά ένζυμα, έχει χονδροπροστατευτικό ρόλο έναντι στην οξειδοαναγωγική ανισορροπία που προκαλεί η IL-1, εμποδίζοντας την απόπτωση των οστεοαρθρικών χονδροκυττάρων ^[88].

4-2-3. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στη γήρανση των χονδροκυττάρων στον οστεοαρθρικό χόνδρο

Η αύξηση της ηλικίας, η οποία αποτελεί μείζονα παράγοντα κινδύνου για την οστεοαρθρίτιδα, συνοδεύεται από γήρανση των χονδροκυττάρων, όπου τα κύτταρα σταματούν να διαιρούνται, παραμένουν ζωντανά αλλά παρουσιάζουν φαινοτυπικές αλλοιώσεις, όπως η μεταβολή της παραγωγής καταβολικών ενζύμων ^[89]. Η γήρανση των χονδροκυττάρων συνδέεται με τη βράχυνση και δυσλειτουργία των τελομερών ^[90]. Το οξειδωτικό στρες προκαλεί γονιδιωματική αστάθεια των τελομερών και δυσλειτουργία των χονδροκυττάρων στον οστεοαρθρικό χόνδρο, οδηγώντας σε γήρανση των χονδροκυττάρων και του αρθρικού χόνδρου ^[91]. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου προάγουν την αποδιαφοροποίηση των χονδροκυττάρων και τη γήρανση μέσω του σηματοδοτικού μονοπατιού ERK ^[92].

4-2-4. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στη σύνθεση του οστεοαρθρικού χόνδρου

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου εμπλέκονται στην αναστολή της σύνθεσης της εξωκυττάριας ουσίας του αρθρικού χόνδρου, προκαλώντας απώλεια της ακεραιότητάς του ^[93]. Μέσα στα χονδροκύτταρα, το H₂O₂ αναστέλλει τη σύνθεση των πρωτεογλυκανών καταστέλλοντας την οξειδωτική φωσφορυλίωση στα μιτοχόνδρια και τον σχηματισμό ATP ^[94]. Το οξειδωτικό στρες αναστέλλει την επαγωγική δράση του IGF-1 στη σύνθεση των πρωτεογλυκανών από τα χονδροκύτταρα μέσω της διαφορικής ρύθμισης των σηματοδοτικών μονοπατιών PI3K / Akt και MEK-ERK ^[95].

Σχετικά με την παραγωγή νέου χόνδρου, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου συμβάλλουν στην απευαισθητοποίηση των χονδροκυττάρων στους αυξητικούς παράγοντες ^[96]. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μπορούν επίσης να συμμετέχουν στην αποτυχία της επιδιόρθωσης του αρθρικού χόνδρου μειώνοντας την ικανότητα των αρχέγονων χονδροκυττάρων να μεταναστεύσουν και να πολλαπλασιαστούν σε μια τραυματισμένη περιοχή ^[95].

4-2-5. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στην αποικοδόμηση της εξωκυττάριας ουσίας του οστεοαρθρικού χόνδρου

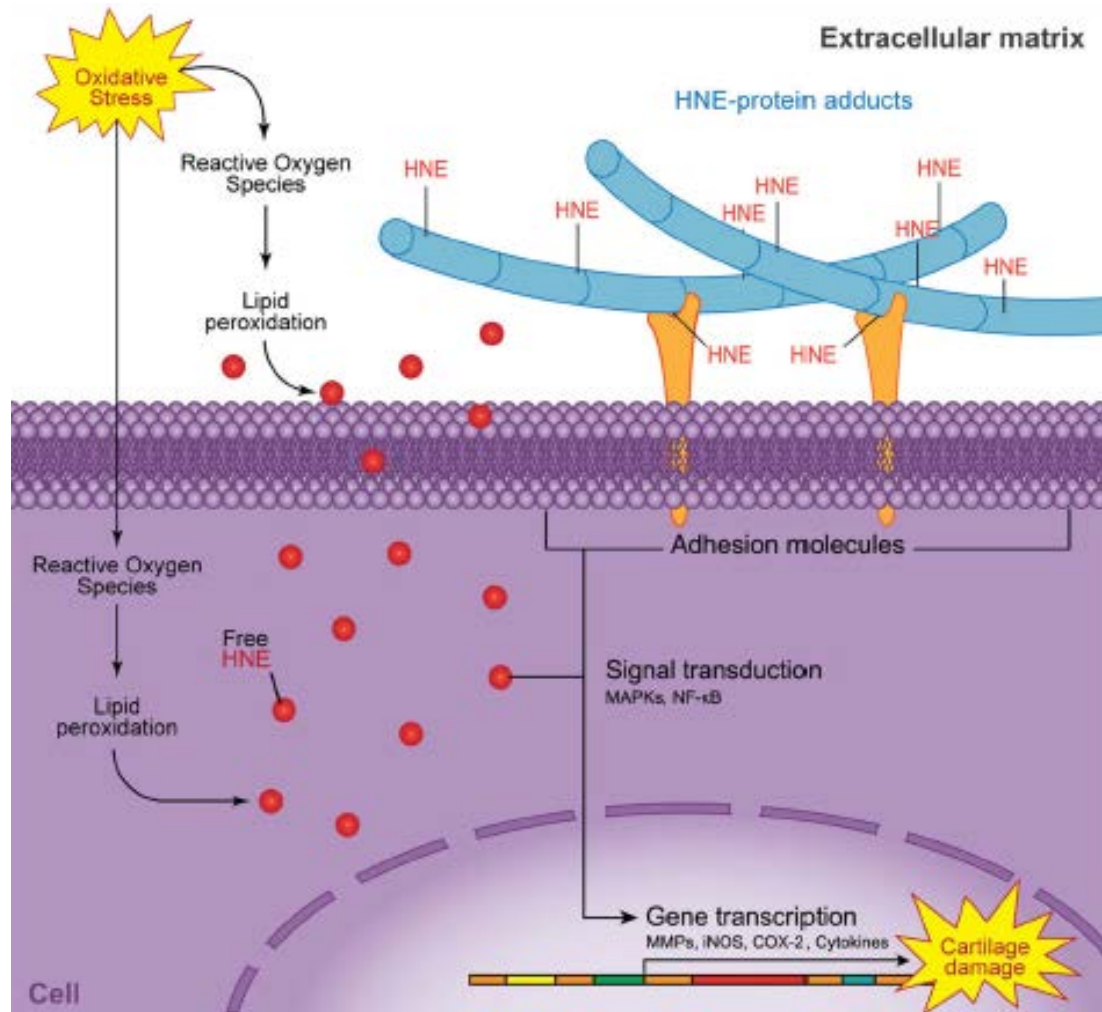
Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μπορούν να βλάψουν απευθείας όλα τα συστατικά της εξωκυττάριας ουσίας προσβάλλοντας απευθείας τα μόρια πρωτεογλυκανών και κολλαγόνου και εμποδίζοντας το σχηματισμό ινιδίων κολλαγόνου ^[2]. Παρουσία οξυγόνου, το OH[·] αποικοδομεί το κολλαγόνο και τροποποιεί τη σύνθεση αμινοξέων ^[97].

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μπορούν επίσης να έχουν περισσότερες έμμεσες δράσεις στον καταβολισμό της εξωκυττάριας ουσίας, όπως π.χ. μέσω της ρύθμισης της έκφρασης των γονιδίων που κωδικοποιούν τις μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs). Το HOCl ενεργοποιεί προένζυμα, όπως η προ-MMP-8, και μειώνει την παραγωγή και την ενεργοποίηση των ιστικών αναστολέων των μεταλλοπρωτεϊνών (TIMP) [98-101]. Πειραματικά, μετά από διέγερση με IL-1β, τα χονδροκύτταρα παράγουν MMP-1 μέσω ενός σηματοδοτικού μονοπατιού που διαμεσολαβείται από τη NADPH οξειδάση και εξαρτάται από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου [60]. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου δρουν επίσης ως δευτερεύοντες αγγελιοφόροι στο σηματοδοτικό μονοπάτι FN-f των χονδροκυττάρων που οδηγεί στην αυξημένη παραγωγή μεταλλοπρωτεασών, συμπεριλαμβανομένης της MMP-13 [102].

Η υπεροξειδωση των λιπιδίων είναι η βασική πηγή οξειδωτικού στρες με την οποία οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου συμβάλλουν στην αποικοδόμηση του αρθρικού χόνδρου. Μπορεί να προκληθεί καταβολισμός του κολλαγόνου του χόνδρου και δομική αποσταθεροποίηση της θεμέλιας ουσίας μέσω της προσβολής των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων των μεμβρανικών λιπιδίων των χονδροκυττάρων [103, 104]. Η υπεροξειδωση λιπιδίων παράγει μια ποικιλία προϊόντων, όπως η μαλονιοδιαδεΰδη (MDA) και η 4-υδροξυεπενάλη (HNE), τα οποία είναι ιδιαίτερα αντιδραστικά με τα κυτταρικά συστατικά και την θεμέλιας ουσίας του αρθρικού χόνδρου. Η αντίδραση τους με τις κυτταρικές πρωτεΐνες μπορεί να μεταβάλλει την κυτταρική λειτουργία, τη διαπερατότητα της μεμβράνης και την ισορροπία των ηλεκτρολυτών, οδηγώντας έτσι σε αποικοδόμηση των πρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας [36].

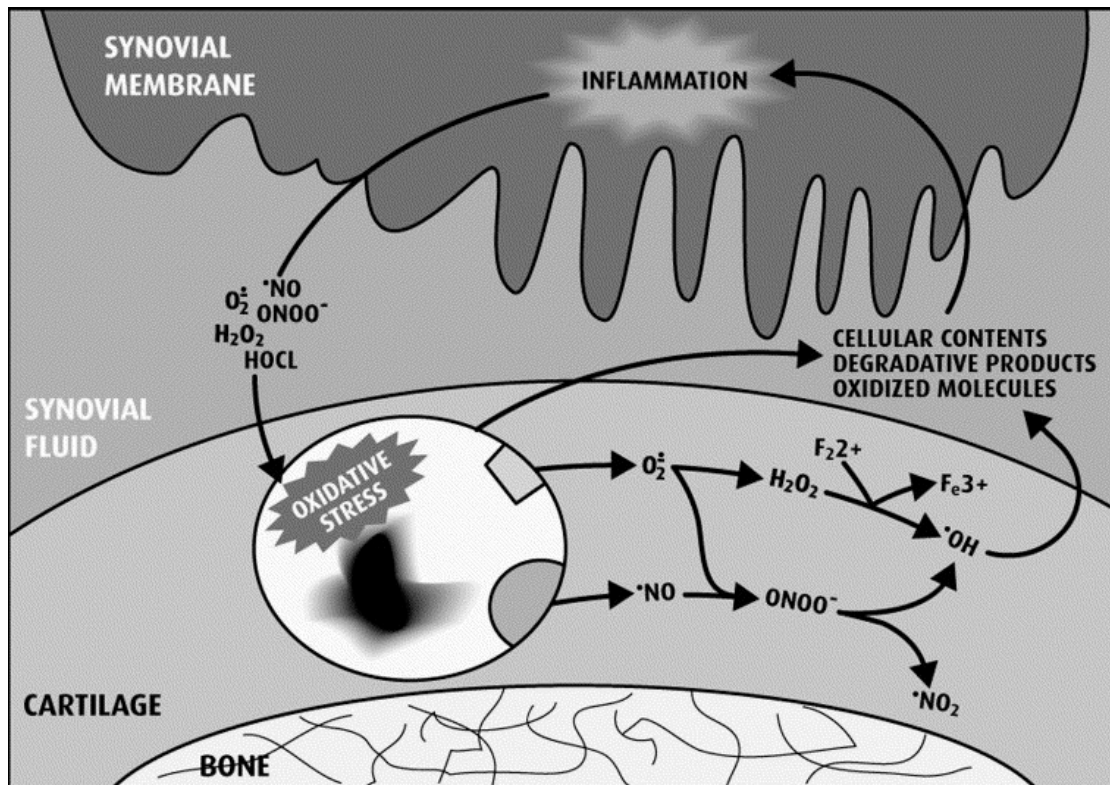
Σε χαμηλές συγκεντρώσεις (10 μM), η HNE ενεργεί ως σημαντικός μεσολαβητής διαφόρων καταβολικών και φλεγμονωδών διεργασιών στην οστεοαρθρίτιδα. Σε απομονωμένα ανθρώπινα οστεοαρθρικά χονδροκύτταρα, η ελεύθερη HNE μπορεί να προκαλέσει αρκετές αλλαγές,

επηρεάζοντας την παραγωγή κολλαγόνου τύπου II σε επίπεδα πρωτεΐνης και mRNA. Η αναστολή της έκφρασης του κολλαγόνου II από την HNE μπορεί να έρθει ως αποτέλεσμα της ενεργοποίησης των μεταγραφικών παραγόντων των πρωτεϊνών ειδικότητας (Sp) [105].



Εικόνα 14. Σχηματική αναπαράσταση των βιολογικών δράσεων της HNE σε μετα-μεταγραφικό και μεταφραστικό επίπεδο. Η HNE δρα ως μεσολαβητής σε διαφορετικά σηματοδοτικά μονοπάτια (p38 MAPK, ERK1/2, JNK, NF-κB, PKC). Τροποποιημένο από Abusarah et al.

Αυξημένα επίπεδα MDA και HNE έχουν αναφερθεί στο πλάσμα και το αρθρικό υγρό των ασθενών με οστεοαρθρίτιδα και οι μετρήσεις τους είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μέθοδοι για τη μέτρηση της υπεροξειδωσής λιπιδίων [106, 107]. Η MDA μεσολαβεί στην οξείδωση του κολλαγόνου του αρθρικού χόνδρου, ενώ η HNE επάγει την παραγωγή ελεύθερων ριζών που ενεργοποιούν τις οδούς MAPK [108]. Η HNE επηρεάζει επίσης την παραγωγή κολλαγόνου τύπου II και MMP-13 σε μεταγραφικό και μετα-μεταφραστικό επίπεδα, αυξάνοντας την έκφραση COX-2 μέσω της ενεργοποίησης ATF / CRE [82].



Εικόνα 15. Δράσεις των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στην αποικοδόμηση του αρθρικού χόνδρου και τη φλεγμονή του αρθρικού υμένα. Τροποποιημένο από Henrotin et al [52].

Ο LOX-1 είναι ένας υποδοχέας ox-LDL που εκφράζεται στα χονδροκύτταρα και η παραγωγή του ενισχύεται από την IL-1β [109]. Η σύνδεση των ox-LDL με τον υποδοχέα LOX-1 επάγει την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του παράγοντα NF-κΒ [110]. Έχει αποδειχθεί ότι η ox-LDL ανιχνεύεται στο αρθρικό υγρό αρθρώσεων σε οστεοαρθρικούς ασθενείς και ότι το LOX-1 mRNA και η αντίστοιχη πρωτεΐνη εκφράζονται στα ανθρώπινα οστεοαρθρικά χονδροκύτταρα [111]. Τα φυσιολογικά ανθρώπινα χονδροκύτταρα εκφράζουν επίσης το LOX-1 mRNA σε βασικό επίπεδο και αυτή η έκφραση τριπλασιάζεται στα οστεοαρθρικά χονδροκύτταρα [112]. Μελέτες in vivo έδειξαν ότι η δέσμευση της ox-LDL στον υποδοχέα LOX-1 εμπλέκεται στον εκφυλισμό του χόνδρου [113]. Επιπλέον, η ox-LDL αυξάνει την έκφραση των MMP-3 και MMP-13 [114]. Συλλογικά, αυτά τα δεδομένα υποστηρίζουν την υπόθεση ότι η υπεροξειδωση των λιπιδίων που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες και το σύστημα ox-LDL / LOX-1 διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην αποικοδόμηση χόνδρου στην οστεοαρθρίτιδα.

4-2-6. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στη δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων των χονδροκυττάρων

Τα μιτοχόνδρια διαδραματίζουν βασικό ρόλο στο οξειδωτικό στρες και στην παθογένεια της οστεοαρθρίτιδας, καθότι αποτελούν κυρίαρχες θέσεις παραγωγής ελεύθερων ριζών οξυγόνου αλλά και πρωταρχικός στόχος των μορίων αυτών.

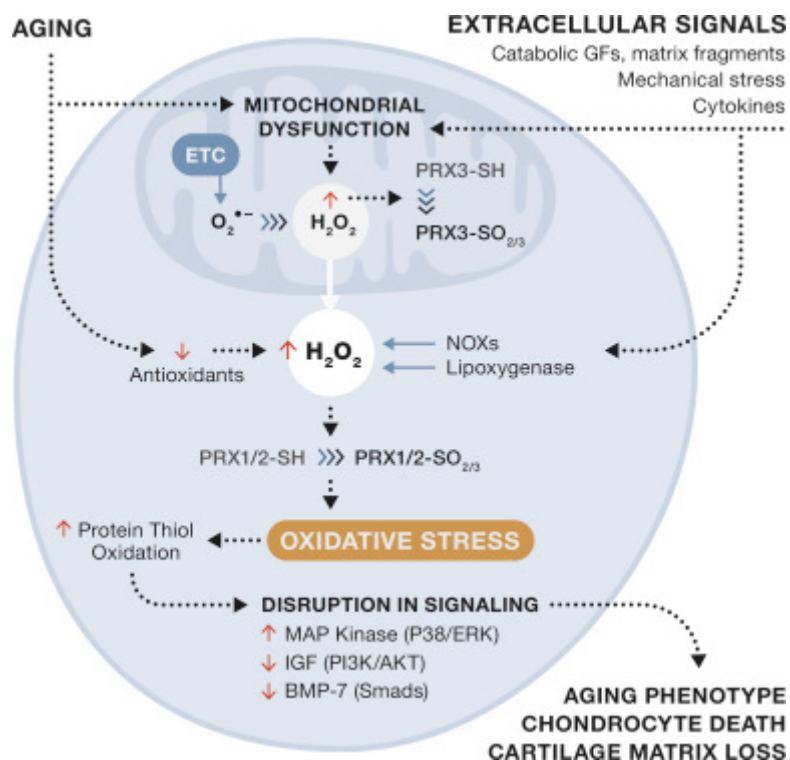
Τα οστεοαρθρικά χονδροκύτταρα είναι υποβαθμισμένα υποβαθμίζονται και έχουν ακανόνιστα προσανατολισμένα μιτοχόνδρια.

Πράγματι, τα χονδροκύτταρα πλησίον των ινιδωμένων περιοχών παρουσιάζουν οιδηματώδη μιτοχόνδρια με αποπροσανατολισμένα κενοτόπια γλυκόζης, ενδεικτικά διαταραγμένου κυτταρικού μεταβολισμού [115]. Σε καλλιέργειες, τα οστεοαρθρικά χονδροκύτταρα εμφανίζουν αυξημένη μιτοχονδριακή μάζα αλλά μειωμένη αναπνευστική δραστηριότητα του μιτοχονδρίου και αλλαγμένο δυναμικό της μιτοχονδριακής μεμβράνης σε σύγκριση με τα φυσιολογικά χονδροκύτταρα [116]. Η κατάρρευση του δυναμικού της μιτοχονδριακής μεμβράνης έχει ως αποτέλεσμα τη διόγκωση των μιτοχονδρίων, τη διάρρηξη της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης και την απελευθέρωση προαποπτωτικών παραγόντων, όπως το κυτόχρωμα c, ο παράγοντας επαγωγής της απόπτωσης (apoptosis-inducing factor) και οι προκασπάσες [117]. Άλλη μελέτη έδειξε ότι τα ένζυμα που εμπλέκονται στη γλυκόλυση μειώνονται σημαντικά στα οστεοαρθρικά χονδροκύτταρα, καθώς και η μιτοχονδριακή SOD, η CAT και η GSH, ενώ ταυτόχρονα υπερπαραγονται ελεύθερες ρίζες, μονοξειδίο του αζώτου και μειώνεται η συγκέντρωση ATP [118].

Η υπερπαραγωγή σε συνδυασμό με τη μειωμένη απομάκρυνση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στον αρθρικό χόνδρο προκαλεί προοδευτική μιτοχονδριακή βλάβη σε όλα τα χονδροκύτταρα, με αλλαγές στην οξειδωτική φωσφορυλίωση και την οξειδοαναγωγική σηματοδότηση [119]. Ως αποτέλεσμα, η απόπτωση των χονδροκυττάρων σε επιφανειακές περιοχές του χόνδρου αυξάνεται, και τα χονδροκύτταρα σε βαθύτερες ζώνες γίνονται υπερτροφικά, διαταράσσοντας την φυσιολογική ενδοχόνδρια οστεοποίηση και την επισκευή της θεμέλιας ουσίας. Τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα έχουν συνήθως διαταραχές μεταβολισμού και πολλαπλασιασμού τα οποία μπορούν να ξεπεραστούν με αντιοξειδωτική αγωγή με N-ακετυλοκυστεΐνη [120].

Οι ελεύθερες ρίζες αναστέλλουν την αναπνευστική αλυσίδα, μειώνουν την παραγωγή ATP και συμβάλλουν στη μετάλλαξη του μιτοχονδριακού DNA,

τα οποία σχετίζονται με τη βαρύτητα της φλεγμονώδους διαδικασίας και τον κυτταρικό θάνατο [121, 122]. Το μιτοχονδριακό DNA υπόκειται σε ποσοστό οξειδωσης 10 έως 20 φορές υψηλότερο από εκείνο του πυρηνικού DNA λόγω έλλειψης προ στασίας από τις ιστόνες [123]. Κατά συνέπεια, η βλάβη του μιτοχονδριακού DNA που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου οδηγεί στη σύνθεση διαταραγμένων υπομονάδων αναπνευστικής αλυσίδας, προκαλώντας περαιτέρω δυσλειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας και αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου, διατηρώντας έναν φαύλο κύκλο [87].



Εικόνα 16. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία στην οστεοαρθρίτιδα. Τροποποιημένο από Bolduc et al [124].

Ο οστεοαρθρικός χόνδρος περικλείει μεγαλύτερη οξειδωτική βλάβη στο μιτοχονδριακό DNA σε σχέση με τον φυσιολογικό χόνδρο ενώ η δραστηριότητα της αναπνευστικής αλυσίδας και το δυναμικό της μιτοχονδριακής μεμβράνης είναι μειωμένα σε καλλιεργημένα ανθρώπινα χονδροκύτταρα από ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα, σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς δότες ^[121]. Αυτή η βλάβη στο μιτοχονδριακό DNA μπορεί να προκαλέσει ενδοκυττάρια σήματα που οδηγούν στην αυξημένη παραγωγή MMP-1 και MMP-3. Αυτά τα δεδομένα αποδεικνύουν ότι το οξειδωτικό στρες που προέρχεται από τα μιτοχόνδρια ρυθμίζει τα επίπεδα των μεταλλοπρωτεασών ^[125]. Η HNE μπορεί επίσης να διαταράσσει τη λειτουργία των μιτοχονδρίων επιδρώντας στο μεταβολισμό της GSH και την ομοίωση του ασβεστίου ^[126]. Επιπλέον, η δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων ενισχύει την φλεγμονή των χονδροκυττάρων μέσω της παραγωγής ελεύθερων ριζών οξυγόνου και της ενεργοποίησης του παράγοντα NF-κΒ ^[127].

Κεφάλαιο 5. Ρόλος των ενεργών ριζών οξυγόνου στον αρθρικό υμένα

5-1. Παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου από τον αρθρικό υμένα στην οστεοαρθρίτιδα

Η φλεγμονή του αρθρικού υμένα παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της οστεοαρθρίτιδας. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, τα κύτταρα του αρθρικού υμένα εκφράζουν την NADPH οξειδάση ^[128] παράγοντας ενδοκυττάρια ελεύθερες ρίζες οξυγόνου σε χαμηλά επίπεδα και η παραγωγή αυτή αυξάνεται από κυτοκίνες όπως η IL-1β, ο TNF-α, το αραχιδονικό οξύ και τη μερική πίεση του οξυγόνου ^[129, 130]. Στον αρθρικό υμένα ασθενών με οστεοαρθρίτιδα, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μπορούν να παράγονται από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα ή ουδετερόφιλα ^[131]. Η ανίχνευση της υπομονάδας p22phox της NADPH οξειδάσης, της MDA, της 4-HNE, ενεργοποιημένου παράγοντα NF-κΒ, και πρωτεϊνών που περιέχουν νιτροτυροσίνη στα κύτταρα του αρθρικού υμένα ασθενών με οστεοαρθρίτιδα δείχνει ότι οι αρθρικοί ιστοί έχουν εκτεθεί σε υπεροξειδωση ONOO⁻ και λιπιδίων ^[128, 132-135]. Η παρουσία οξειδωτικού στρες στο αρθρικό οξύ επιβεβαιώνεται από την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου από τους ινοβλάστες του αρθρικού υμένα ^[131].

Στον αρθρικό υμένα ασθενών με οστεοαρθρίτιδα έχει διαπιστωθεί αύξηση της έκφρασης των ενζύμων NOX2 και XO ^[136]. Το επίπεδο των ενζύμων αυτών συσχετίζεται με την τοπική έκφραση της προλιδάσης, ενός ενζύμου που εμπλέκεται στο μεταβολισμό του κολλαγόνου ^[137]. Στον ορό

ασθενών με οστεοαρθρίτιδα γόνατος, έχουν μετρηθεί υψηλά επίπεδα ελεύθερων ριζών οξυγόνου και μειωμένη αντιοξειδωτική κατάσταση σχετιζόμενα με αυξημένη δραστηριότητα της προλιδάσης στον ορό και αυξημένη φλεγμονώδη δραστηριότητα στον αρθρικό υμένα, υποδηλώνοντας σύνδεση μεταξύ των ελεύθερων ριζών οξυγόνου και του μεταβολισμού του κολλαγόνου [138].

5-2. Λειτουργίες ελεύθερων ριζών οξυγόνου στον αρθρικό υμένα στην οστεοαρθρίτιδα

5-2-1. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στη φλεγμονή του αρθρικού υμένα

Η φλεγμονώδης αντίδραση στον αρθρικό υμένα ελέγχεται από διάφορους βιοχημικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των κυτοκινών (IL-1α, IL-1β, TNF-α, PGE2), των πρωτεασών και των ελεύθερων ριζών οξυγόνου που παράγονται από τα κύτταρα του αρθρικού υμένα και τα χονδροκύτταρα. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου συμβάλλουν στην φλεγμονώδη αποικοδόμηση των αρθρικών ιστών, αλλά από την άλλη πλευρά, σε ορισμένες περιπτώσεις έχουν αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα, ανάλογα με το ενεργοποιούμενο μονοπάτι σηματοδότησης [139]. Στους ινοβλάστες του αρθρικού υμένα, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου παίζουν ρόλο στη σηματοδότηση που ξεκινά μέσω της ιντεγκρίνης α5β1 η οποία επιφέρει αυξημένη παραγωγή MMP-1 [140]. Τα προϊόντα προχωρημένης οξειδωσης των πρωτεϊνών (AOPPs), τα οποία αποτελούν δείκτη οξειδωτικού στρες,

ρυθμίζουν εκ των προτέρων την έκφραση των MMP-3 και MMP-13 στον αρθρικό υμένα ^[141].

Στους οστεοαρθρικούς ινοβλάστες του αρθρικού υμένα, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου προκαλούν φωσφορυλίωση των MAPK, ενεργοποίηση του NF-B μέσω της TAK1 και έκφραση COX-2 / PGE₂, αναστρέψιμη με αντιοξειδωτικά όπως η N-ακετυλοκυστεΐνη και υαλουρονικό οξύ ^[142]. Στην οστεοαρθρίτιδα, η παραγωγή τοπικών φλεγμονωδών μεσολαβητών και ελεύθερων ριζών οξυγόνου στον αρθρικό υμένα συντηρεί την πολλαπλασιαστική ικανότητα των ινοβλαστών και μεταβάλλει τους ρυθμιστικούς μηχανισμούς των μεταλλοπρωρεασών και της έκφρασης των κυτοκινών και των αυξητικών παραγόντων ^[143].

Σε απομονωμένα ανθρώπινα οστεοαρθρικά συνοβιοκύτταρα, οι Yin et al ανέφεραν ότι η HNE επάγει την παραγωγή κυτοκινών (COX-2, IL-1, IL-6 και TNF-α), και μεσολαβεί σε σηματοδοτικά μονοπάτια (NF-κB, MAPK και STAT) ^[144]. Αντίθετα, η HNE αναστέλλει την έκφραση των mTOR, GSK και AKT. In vivo, η ενδοαρθρική ένεση HNE διεγείρει την έκφραση COX-2 στον αρθρικό υμένα και τη διαδικασία απελευθέρωσης PGE₂ ^[145]. Αυτά τα ευρήματα υποστηρίζουν την άποψη ότι η HNE μπορεί να διαδραματίσει βασικό ρόλο στη φλεγμονή του αρθρικού υμένα στην οστεοαρθρίτιδα.

5-2-2. Δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στην απόπτωση των κυττάρων του αρθρικού υμένα

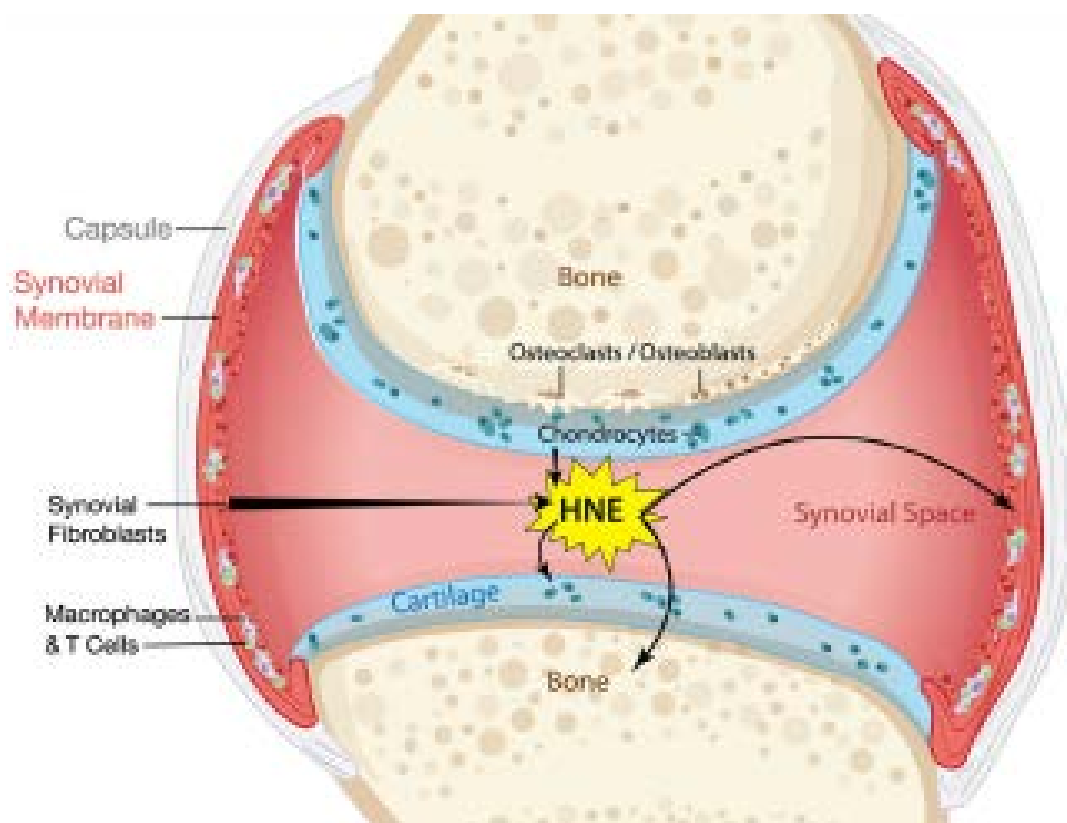
Το οξειδωτικό στρες και ιδιαίτερα τα O₂⁻ προκαλούν απόπτωση των κυττάρων του αρθρικού υμένα in vitro μέσω μιτοχονδριακής βλάβης ^[146].

Κεφάλαιο 6. Ρόλος των ενεργών ριζών οξυγόνου στο υποχόνδριο οστό

Η υποχόνδρια σκλήρυνση είναι ένας σημαντικός παράγοντας στην παθογένεια της οστεοαρθρίτιδας. Για την φυσιολογική οστεοβλαστογένεση και οστεοκλαστογένεση του υποχόνδριου οστού, απαιτούνται χαμηλές συγκεντρώσεις ελεύθερων ριζών οξυγόνου [147]. Στους οστεοβλάστες του οστεοαρθρικού υποχόνδριου οστού, η HNE επάγει την έκφραση COX-2 και την απελευθέρωση PGE₂, αυξάνοντας τη φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών p38 MAPK, JNK2 και μεταγραφικών παραγόντων (CREB-1, ATF-2) με ταυτόχρονη αύξηση της δέσμευσης του DNA στα CRE / ATF. Ταυτόχρονα, η HNE μείωσε την έκφραση της IL-6 αναστέλλοντας το σηματοδοτικό μονοπάτι του NF-κB. Ταυτόχρονα, αναστέλλει την παραγωγή αλκαλικής φωσφατάσης και τη σηματοδότηση του μονοπατιού Wnt [105]. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι η HNE, η παραγωγή της οποίας επάγεται από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, μπορεί να ασκεί πολλαπλές επιδράσεις στους οστεοβλάστες του υποχόνδριου οστού σε ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα (εικόνα 17) [148].

Οι οστεοκλάστες ελέγχουν τις διαδικασίες οστικής απορρόφησης και απώλειας οστικής θεμέλιας ουσίας. Οι ώριμοι οστεοκλάστες προέρχονται από πρόδρομα μονοκύτταρα του μυελού των οστών και η διαδικασία οστεοκλαστογένεσης εξαρτάται από τη σηματοδότηση NF-κB που κατευθύνεται από τους RANKL-RANK ή ρυθμίζεται από την IL-17, τον GM-CSF, και την IFN-γ. Οι οστεοβλάστες, τα βλαστοκύτταρα, τα στρωματικά κύτταρα, τα ουδετερόφιλα, τα κύτταρα NK και ακόμη και τα T-λεμφοκύτταρα CD4⁺ που μετανάστευσαν στο μυελό των οστών μπορούν να επάγουν την οστεοκλαστογένεση μέσω άμεσης επαφής. Έχει αποδειχθεί ότι το σύστημα RANKL-RANK διεγείρει την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου στους

οστεοκλάστες [149]. Η χορήγηση των αντιοξειδωτικών N-ακετυλοκυστεΐνη και GSH εξασθενεί την ελεγχόμενη από το RANKL ενεργοποίηση των μονοπατιών Akt και ERK και τη σηματοδότηση NF-κB, μειώνοντας την οστική απορρόφηση και επιδρώντας στην απόπτωση των οστεοκλαστών στο υποχόνδριο οστό [150]. Ο ρόλος των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών εξαρτάται από την ενεργοποίηση της JNK. Οι οστεοβλάστες ελέγχουν τις αντίθετες διαδικασίες οστικής επαναρρόφησης, αναδιαμόρφωσης και επισκευής. Στην οστεοαρθρίτιδα, η ισορροπία μεταξύ της ενεργοποίησης των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών οδηγεί σε ελαττωματική οστική αναδιαμόρφωση και σχηματισμό οστεοφύτων [139].



Εικόνα 17. Πιθανοί ιστοί - στόχοι της HNE στην οστεοαρθρίτιδα. Σε όλους τους αρθρικούς ιστούς, επάγει καταβολικές και φλεγμονώδεις αποκρίσεις, αναστέλλει αναβολικά μονοπάτια και ελαττώνει την επιμετάλλωση του υποχόνδριου οστού.

Τροποποιημένο από Abusarah et al [105].

Παρόμοια με τους οστεοκλάστες, οι οστεοβλάστες είναι ευαίσθητοι στη δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου κατά την διαφοροποίησή τους από τα μεσεγχυματικά κύτταρα. Η οστεοβλαστογένεση περιλαμβάνει διάφορους μηχανισμούς γονιδιακής έκφρασης που ενδεχομένως ελέγχονται από τον RUNX-2 και εξαρτάται τη δράση αυξητικών παραγόντων που ενεργοποιούνται από τις οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs), τον TGF-β και το μονοπάτι Wnt. Πρόσφατα, αποδείχθηκε ότι η BMP-2 επάγει μια ταχεία παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου και την ενεργοποίηση της NADPH οξειδάσης κατά τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών ^[151]. Ωστόσο, σε διαφοροποιημένους οστεοαρθρικούς οστεοβλάστες, το οξειδωτικό στρες μπορεί να έχει διάφορες επιδράσεις στις λειτουργίες τους. Η χορήγηση της αντιοξειδωτικής N-ακετυλοκυστεΐνης αυξάνει την σύνθεση οστεοκαλσίνης και κολλαγόνου τύπου I και μειώνει τη δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης στους οστεοαρθρικούς οστεοβλάστες. Οι μηχανισμοί περιλαμβάνουν ενεργοποίηση των κινασών p38 και JNK1 / 2, επαγωγή της ενεργοποίησης των ATF-2 / CREB, αναστολή του μονοπατιού NF-κB και ενεργοποίηση της γονιδιακής δραστηριότητας της COX-2. Κατά συνέπεια, η χορήγηση αντιοξειδωτικών αυξάνει τα επίπεδα COX-2 και PGE2, αλλά μειώνει την παραγωγή IL-6 που προκαλείται από TNF-β.

Κεφάλαιο 7. Αντιοξειδωτικά συστήματα στην οστεοαρθρίτιδα

Τα χονδροκύτταρα παράγουν πληθώρα αντιοξειδωτικών ενζύμων κατά των βλαβερών επιδράσεων των ελεύθερων ριζών οξυγόνου, συμπεριλαμβανομένων των CAT, SOD και GPX. Μεταβολές στα επίπεδα αυτών των ενζύμων και αυξημένα επίπεδα υπεροξειδιωμένων λιπιδίων προκαλούν απώλεια ομοιόστασης στον υγιή αρθρικό χόνδρο οδηγώντας σε παθολογικό εκφυλισμό και οστεοαρθρίτιδα ^[152]. Η EC-SOD είναι 4 φορές ελαττωμένη σε ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα, υποδηλώνοντας ότι ο ανεπαρκής έλεγχος των ελεύθερων ριζών οξυγόνου παίζει ρόλο στην παθοφυσιολογία της οστεοαρθρίτιδας ^[153]. Μελέτες *in vitro* έδειξαν ότι η IL-1β διεγείρει τη δραστηριότητα των MnSOD και GPX και μειώνει τη δραστηριότητα της κυτταροπλασματικής SOD, της EC-SOD και της CAT σε χονδροκύτταρα, χρησιμοποιώντας διαφορετικές οδούς σηματοδότησης ^[66].

Στον άωρο αρθρικό χόνδρο, παρατηρούνται υψηλά επίπεδα δραστηριότητας των CAT και SOD. Καθώς τα χονδροκύτταρα ωριμάζουν, υπάρχει προοδευτική μείωση της δραστηριότητας των CAT και SOD ^[154]. Η έκφραση της SOD μειώνεται σημαντικά στα οστεοαρθρικά χονδροκύτταρα *in vivo*, αλλά αυτό προηγείται της εξέλιξης των οστεοαρθρικών αλλοιώσεων αυξάνοντας την πιθανότητα ότι οι μεταβολές της έκφρασης της SOD συνδέονται με τα πρώτα στάδια της παθογένειας της οστεοαρθρίτιδας ^[155]. Αυτή η ηλικιοεξαρτώμενη μείωση της έκφρασης των αντιοξειδωτικών ενζύμων σχετίζεται με την αύξηση των ενδοκυττάρων ελεύθερων ριζών οξυγόνου η οποία οδηγεί στην ενεργοποίηση των αποπτωτικών μηχανισμών και την αυξημένη προδιάθεση για κυτταρικό θάνατο ^[156].

Κεφάλαιο 8. Συμπεράσματα

Τα ανθρώπινα κύτταρα πρέπει να αντιμετωπίζουν τη συνεχή παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Παραδοσιακά, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου θεωρούνταν ως επιβλαβή μόρια που προκαλούν οξειδωτικές βλάβες σε όλα τα βιολογικά μακρομόρια. Τις τελευταίες δεκαετίες, στο επίπεδο των αρθρώσεων, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου θεωρούνται ότι συμμετέχουν στη ρύθμιση των οδών σηματοδότησης που συμβάλλουν στην κυτταρική ομοίωση στα χονδροκύτταρα του αρθρικού χόνδρου. Η μοριακή σηματοδότηση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου απαιτείται για πολλές κυτταρικές διεργασίες, όπως υποδεικνύεται από το ρόλο τους στην επιβίωση των χονδροκυττάρων, την αναγέννηση των ιστών και την πρόληψη της γήρανσης, γεγονός που υποδηλώνει ενεργό ρόλο στην παθογένεια της ιδιοπαθούς οστεοαρθρίτιδας.

Η σηματοδότηση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου μπορεί να διαδραματίσει διπλό ρόλο στην ιδιοπαθή οστεοαρθρίτιδα. Σε χαμηλά φυσιολογικά επίπεδα, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου είναι σημαντικές για την ακεραιότητα του αρθρικού χόνδρου και των οστών, διατηρώντας τον πυρηνικό προγραμματισμό κατά τη διάρκεια της χονδρογένεσης και της διαφοροποίησης των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών. Η γήρανση, το μηχανικό φορτίο και η φλεγμονή μπορούν να αυξήσουν την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου και μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες με μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, διαταραχές στην κυτταρική σηματοδότηση και αλλοιώσεις στον επιγενετικό έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης. Κατά συνέπεια, τα υψηλά επίπεδα ελεύθερων ριζών οξυγόνου μπορούν να αυξήσουν την απόπτωση χονδροκυττάρων με αποικοδόμηση του αρθρικού χόνδρου και να προκαλέσουν υπερτροφία χονδροκυττάρων, φλεγμονή του

αρθρικού υμένα και δυσλειτουργία του υποχόνδριου οστού. Τα σηματοδοτικά μονοπάτια μέσω των οποίων συμβάλλει οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου στην παθογένεια της οστεοαρθρίτιδας είναι πολύπλοκα και απαιτούν περαιτέρω διερεύνηση.

Βιβλιογραφία

1. Appleton CT. Osteoarthritis year in review 2017: biology. *Osteoarthritis Cartilage*. 2017.
2. Henrotin Y, Kurz B, Aigner T. Oxygen and reactive oxygen species in cartilage degradation: friends or foes? *Osteoarthritis Cartilage*. 2005;13(8):643-54.
3. Brieger K, Schiavone S, Miller FJ, Jr., Krause KH. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med Wkly*. 2012;142:w13659.
4. Alfadda AA, Sallam RM. Reactive oxygen species in health and disease. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:936486.
5. Pearle AD, Warren RF, Rodeo SA. Basic science of articular cartilage and osteoarthritis. *Clin Sports Med*. 2005;24(1):1-12.
6. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage: tissue design and chondrocyte-matrix interactions. *Instr Course Lect*. 1998;47:477-86.
7. Macirowski T, Tepic S, Mann RW. Cartilage stresses in the human hip joint. *J Biomech Eng*. 1994;116(1):10-8.
8. Felson DT, Lawrence RC, Dieppe PA, Hirsch R, Helmick CG, Jordan JM, et al. Osteoarthritis: new insights. Part 1: the disease and its risk factors. *Ann Intern Med*. 2000;133(8):635-46.
9. www.brittanica.com.
10. Sandell LJ, Aigner T. Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis. *Arthritis Res*. 2001;3(2):107-13.
11. www.wikipedia.org.
12. Ulrich-Vinther M, Maloney MD, Schwarz EM, Rosier R, O'Keefe RJ. Articular cartilage biology. *J Am Acad Orthop Surg*. 2003;11(6):421-30.
13. Marijnissen AC, Lafeber FP. Re: E. B. Hunziker. Articular cartilage repair: basic science and clinical progress. A review of the current status and

prospects. *Osteoarthritis and Cartilage* 2002; 10:432-63. *Osteoarthritis Cartilage*. 2003;11(4):300-1; author reply 2-4.

14. Valvason C, Musacchio E, Pozzuoli A, Ramonda R, Aldegheri R, Punzi L. Influence of glucosamine sulphate on oxidative stress in human osteoarthritic chondrocytes: effects on HO-1, p22(Phox) and iNOS expression. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47(1):31-5.

15. Poulet B, Staines KA. New developments in osteoarthritis and cartilage biology. *Curr Opin Pharmacol*. 2016;28:8-13.

16. Παπαϊωάννου Ν. Ανατομική - Μεταβολισμός του Αρθρικού Χόνδρου. In: Παπαχρήστου Γ, editor. *Αρθρίτιδες - Θεραπεία*. Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης; 2004. p. 1-6.

17. Huber M, Trattnig S, Lintner F. Anatomy, biochemistry, and physiology of articular cartilage. *Invest Radiol*. 2000;35(10):573-80.

18. Imhof H, Sulzbacher I, Grampp S, Czerny C, Youssefzadeh S, Kainberger F. Subchondral bone and cartilage disease: a rediscovered functional unit. *Invest Radiol*. 2000;35(10):581-8.

19. www.orthobullets.com.

20. Lee RB, Urban JP. Evidence for a negative Pasteur effect in articular cartilage. *Biochem J*. 1997;321 (Pt 1):95-102.

21. Zhou S, Cui Z, Urban JP. Factors influencing the oxygen concentration gradient from the synovial surface of articular cartilage to the cartilage-bone interface: a modeling study. *Arthritis Rheum*. 2004;50(12):3915-24.

22. Stoop R, van der Kraan PM, Buma P, Hollander AP, Poole AR, van den Berg WB. Denaturation of type II collagen in articular cartilage in experimental murine arthritis. Evidence for collagen degradation in both reversible and irreversible cartilage damage. *J Pathol*. 1999;188(3):329-37.

23. Hollander AP, Pidoux I, Reiner A, Rorabeck C, Bourne R, Poole AR. Damage to type II collagen in aging and osteoarthritis starts at the articular surface, originates around chondrocytes, and extends into the cartilage with progressive degeneration. *J Clin Invest*. 1995;96(6):2859-69.

24. Musumeci G, Castrogiovanni P, Trovato FM, Weinberg AM, Al-Wasiyah MK, Alqahtani MH, et al. Biomarkers of Chondrocyte Apoptosis and Autophagy in Osteoarthritis. *Int J Mol Sci*. 2015;16(9):20560-75.

25. Castaneda S, Roman-Blas JA, Largo R, Herrero-Beaumont G. Osteoarthritis: a progressive disease with changing phenotypes. *Rheumatology (Oxford)*. 2014;53(1):1-3.
26. Sandell LJ. Etiology of osteoarthritis: genetics and synovial joint development. *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8(2):77-89.
27. Sellam J, Berenbaum F. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2010;6(11):625-35.
28. Bonin CA, Lewallen EA, Baheti S, Bradley EW, Stuart MJ, Berry DJ, et al. Identification of differentially methylated regions in new genes associated with knee osteoarthritis. *Gene*. 2016;576(1 Pt 2):312-8.
29. Zhang Y, Du Y, Le W, Wang K, Kieffer N, Zhang J. Redox control of the survival of healthy and diseased cells. *Antioxid Redox Signal*. 2011;15(11):2867-908.
30. Γιαννακοπούλου Ε. Οξειδωτικό stress - Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί. Κλινική σημασία. *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής*. 2009;26(1):23-35.
31. Γάλαρης Δ. Ελεύθερες ρίζες και οξειδωτικό στρες: Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών.
32. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol*. 2003;552(Pt 2):335-44.
33. Geiszt M. NADPH oxidases: new kids on the block. *Cardiovasc Res*. 2006;71(2):289-99.
34. Nauseef WM. Biological roles for the NOX family NADPH oxidases. *J Biol Chem*. 2008;283(25):16961-5.
35. Ramos MFP, Monteiro de Barros A, Razvickas CV, Borges FT, Schor N. Xanthine oxidase inhibitors and sepsis. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2018;32:2058738418772210.
36. Sen CK. Oxygen toxicity and antioxidants: state of the art. *Indian J Physiol Pharmacol*. 1995;39(3):177-96.
37. Assari T. Chronic Granulomatous Disease; fundamental stages in our understanding of CGD. *Med Immunol*. 2006;5:4.
38. Suzuki N, Miller G, Morales J, Shulaev V, Torres MA, Mittler R. Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling. *Curr Opin Plant Biol*. 2011;14(6):691-9.

39. Finkel T. Signal transduction by reactive oxygen species. *J Cell Biol.* 2011;194(1):7-15.
40. Παπαγαλάνης Ν. Οξειδωτικό στρες και ενδογενές αντιοξειδωτικό σύστημα. ΙΙΙ. Η τοξικότητα των ελεύθερων ριζών. *Ελληνική Νεφρολογία.* 2015;27(1):17-50.
41. Finkel T. Oxidant signals and oxidative stress. *Curr Opin Cell Biol.* 2003;15(2):247-54.
42. Poole LB. The basics of thiols and cysteines in redox biology and chemistry. *Free Radic Biol Med.* 2015;80:148-57.
43. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature.* 2000;408(6809):239-47.
44. Hempel N, Trebak M. Crosstalk between calcium and reactive oxygen species signaling in cancer. *Cell Calcium.* 2017;63:70-96.
45. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative Stress. *Annu Rev Biochem.* 2017;86:715-48.
46. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002;82(1):47-95.
47. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med.* 1991;91(3C):14S-22S.
48. Gloire G, Piette J. Redox regulation of nuclear post-translational modifications during NF-kappaB activation. *Antioxid Redox Signal.* 2009;11(9):2209-22.
49. Gloire G, Legrand-Poels S, Piette J. NF-kappaB activation by reactive oxygen species: fifteen years later. *Biochem Pharmacol.* 2006;72(11):1493-505.
50. Fattman CL, Schaefer LM, Oury TD. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radic Biol Med.* 2003;35(3):236-56.
51. Sies H. Role of metabolic H₂O₂ generation: redox signaling and oxidative stress. *J Biol Chem.* 2014;289(13):8735-41.
52. Henrotin YE, Bruckner P, Pujol JP. The role of reactive oxygen species in homeostasis and degradation of cartilage. *Osteoarthritis Cartilage.* 2003;11(10):747-55.

53. Altindag O, Erel O, Aksoy N, Selek S, Celik H, Karaoglanoglu M. Increased oxidative stress and its relation with collagen metabolism in knee osteoarthritis. *Rheumatol Int.* 2007;27(4):339-44.
54. Davies CM, Guilak F, Weinberg JB, Fermor B. Reactive nitrogen and oxygen species in interleukin-1-mediated DNA damage associated with osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2008;16(5):624-30.
55. Ostalowska A, Birkner E, Wiecha M, Kasperczyk S, Kasperczyk A, Kapolka D, et al. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in synovial fluid of patients with primary and secondary osteoarthritis of the knee joint. *Osteoarthritis Cartilage.* 2006;14(2):139-45.
56. Regan EA, Bowler RP, Crapo JD. Joint fluid antioxidants are decreased in osteoarthritic joints compared to joints with macroscopically intact cartilage and subacute injury. *Osteoarthritis Cartilage.* 2008;16(4):515-21.
57. Moulton PJ, Goldring MB, Hancock JT. NADPH oxidase of chondrocytes contains an isoform of the gp91phox subunit. *Biochem J.* 1998;329 (Pt 3):449-51.
58. Moulton PJ, Hiran TS, Goldring MB, Hancock JT. Detection of protein and mRNA of various components of the NADPH oxidase complex in an immortalized human chondrocyte line. *Br J Rheumatol.* 1997;36(5):522-9.
59. Hiran TS, Moulton PJ, Hancock JT. Detection of superoxide and NADPH oxidase in porcine articular chondrocytes. *Free Radic Biol Med.* 1997;23(5):736-43.
60. Grange L, Nguyen MV, Lardy B, Derouazi M, Campion Y, Trocme C, et al. NAD(P)H oxidase activity of Nox4 in chondrocytes is both inducible and involved in collagenase expression. *Antioxid Redox Signal.* 2006;8(9-10):1485-96.
61. van Lent PL, Nabbe KC, Blom AB, Sloetjes A, Holthuysen AE, Kolls J, et al. NADPH-oxidase-driven oxygen radical production determines chondrocyte death and partly regulates metalloproteinase-mediated cartilage matrix degradation during interferon-gamma-stimulated immune complex arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2005;7(4):R885-95.
62. Li J, Dong S. The Signaling Pathways Involved in Chondrocyte Differentiation and Hypertrophic Differentiation. *Stem Cells Int.* 2016;2016:2470351.

63. Blake DR, Merry P, Unsworth J, Kidd BL, Outhwaite JM, Ballard R, et al. Hypoxic-reperfusion injury in the inflamed human joint. *Lancet*. 1989;1(8633):289-93.
64. Koike M, Nojiri H, Ozawa Y, Watanabe K, Muramatsu Y, Kaneko H, et al. Mechanical overloading causes mitochondrial superoxide and SOD2 imbalance in chondrocytes resulting in cartilage degeneration. *Sci Rep*. 2015;5:11722.
65. Mathy-Hartert M, Deby-Dupont GP, Reginster JY, Ayache N, Pujol JP, Henrotin YE. Regulation by reactive oxygen species of interleukin-1beta, nitric oxide and prostaglandin E(2) production by human chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage*. 2002;10(7):547-55.
66. Mathy-Hartert M, Hogge L, Sanchez C, Deby-Dupont G, Crielaard JM, Henrotin Y. Interleukin-1beta and interleukin-6 disturb the antioxidant enzyme system in bovine chondrocytes: a possible explanation for oxidative stress generation. *Osteoarthritis Cartilage*. 2008;16(7):756-63.
67. Fermor B, Christensen SE, Youn I, Cernanec JM, Davies CM, Weinberg JB. Oxygen, nitric oxide and articular cartilage. *Eur Cell Mater*. 2007;13:56-65; discussion
68. Radi R. Peroxynitrite reactions and diffusion in biology. *Chem Res Toxicol*. 1998;11(7):720-1.
69. Wang R, Zhang S, Previn R, Chen D, Jin Y, Zhou G. Role of Forkhead Box O Transcription Factors in Oxidative Stress-Induced Chondrocyte Dysfunction: Possible Therapeutic Target for Osteoarthritis? *Int J Mol Sci*. 2018;19(12).
70. Lepetsos P, Papavassiliou AG. ROS/oxidative stress signaling in osteoarthritis. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1862(4):576-91.
71. Espinosa-Diez C, Miguel V, Mennerich D, Kietzmann T, Sanchez-Perez P, Cadenas S, et al. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biol*. 2015;6:183-97.
72. Yin W, Park JI, Loeser RF. Oxidative stress inhibits insulin-like growth factor-I induction of chondrocyte proteoglycan synthesis through differential regulation of phosphatidylinositol 3-Kinase-Akt and MEK-ERK MAPK signaling pathways. *J Biol Chem*. 2009;284(46):31972-81.
73. Lo YY, Wong JM, Cruz TF. Reactive oxygen species mediate cytokine activation of c-Jun NH2-terminal kinases. *J Biol Chem*. 1996;271(26):15703-7.

74. Lo YY, Cruz TF. Involvement of reactive oxygen species in cytokine and growth factor induction of c-fos expression in chondrocytes. *J Biol Chem.* 1995;270(20):11727-30.
75. Gibson JS, McCartney D, Sumpter J, Fairfax TP, Milner PI, Edwards HL, et al. Rapid effects of hypoxia on H⁺ homeostasis in articular chondrocytes. *Pflugers Arch.* 2009;458(6):1085-92.
76. Blanco FJ, Guitian R, Vazquez-Martul E, de Toro FJ, Galdo F. Osteoarthritis chondrocytes die by apoptosis. A possible pathway for osteoarthritis pathology. *Arthritis Rheum.* 1998;41(2):284-9.
77. Aigner T, Kim HA. Apoptosis and cellular vitality: issues in osteoarthritic cartilage degeneration. *Arthritis Rheum.* 2002;46(8):1986-96.
78. Hashimoto S, Takahashi K, Amiel D, Coutts RD, Lotz M. Chondrocyte apoptosis and nitric oxide production during experimentally induced osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 1998;41(7):1266-74.
79. Matsuo M, Nishida K, Yoshida A, Murakami T, Inoue H. Expression of caspase-3 and -9 relevant to cartilage destruction and chondrocyte apoptosis in human osteoarthritic cartilage. *Acta Med Okayama.* 2001;55(6):333-40.
80. Yu SM, Kim SJ. Withaferin A-caused production of intracellular reactive oxygen species modulates apoptosis via PI3K/Akt and JNKinase in rabbit articular chondrocytes. *J Korean Med Sci.* 2014;29(8):1042-53.
81. Carlo MD, Jr., Loeser RF. Increased oxidative stress with aging reduces chondrocyte survival: correlation with intracellular glutathione levels. *Arthritis Rheum.* 2003;48(12):3419-30.
82. Vaillancourt F, Fahmi H, Shi Q, Lavigne P, Ranger P, Fernandes JC, et al. 4-Hydroxynonenal induces apoptosis in human osteoarthritic chondrocytes: the protective role of glutathione-S-transferase. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(5):R107.
83. El-Bikai R, Welman M, Margaron Y, Cote JF, Macqueen L, Buschmann MD, et al. Perturbation of adhesion molecule-mediated chondrocyte-matrix interactions by 4-hydroxynonenal binding: implication in osteoarthritis pathogenesis. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(5):R201.
84. Roos WP, Kaina B. DNA damage-induced cell death by apoptosis. *Trends Mol Med.* 2006;12(9):440-50.
85. Aigner T, Hemmel M, Neureiter D, Gebhard PM, Zeiler G, Kirchner T, et al. Apoptotic cell death is not a widespread phenomenon in normal aging and osteoarthritis human articular knee cartilage: a study of proliferation,

programmed cell death (apoptosis), and viability of chondrocytes in normal and osteoarthritic human knee cartilage. *Arthritis Rheum.* 2001;44(6):1304-12.

86. Kim HA, Blanco FJ. Cell death and apoptosis in osteoarthritic cartilage. *Curr Drug Targets.* 2007;8(2):333-45.

87. Grishko VI, Ho R, Wilson GL, Pearsall AWt. Diminished mitochondrial DNA integrity and repair capacity in OA chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009;17(1):107-13.

88. Khan NM, Ahmad I, Haqqi TM. Nrf2/ARE pathway attenuates oxidative and apoptotic response in human osteoarthritis chondrocytes by activating ERK1/2/ELK1-P70S6K-P90RSK signaling axis. *Free Radic Biol Med.* 2018;116:159-71.

89. Loeser RF. The effects of aging on the development of osteoarthritis. *HSS J.* 2012;8(1):18-9.

90. Martin JA, Buckwalter JA. Telomere erosion and senescence in human articular cartilage chondrocytes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2001;56(4):B172-9.

91. Yudoh K, Nguyen T, Nakamura H, Hongo-Masuko K, Kato T, Nishioka K. Potential involvement of oxidative stress in cartilage senescence and development of osteoarthritis: oxidative stress induces chondrocyte telomere instability and downregulation of chondrocyte function. *Arthritis Res Ther.* 2005;7(2):R380-91.

92. Yu SM, Kim SJ. The thymoquinone-induced production of reactive oxygen species promotes dedifferentiation through the ERK pathway and inflammation through the p38 and PI3K pathways in rabbit articular chondrocytes. *Int J Mol Med.* 2015;35(2):325-32.

93. Gao Y, Liu S, Huang J, Guo W, Chen J, Zhang L, et al. The ECM-cell interaction of cartilage extracellular matrix on chondrocytes. *Biomed Res Int.* 2014;2014:648459.

94. Baker MS, Feigan J, Lowther DA. The mechanism of chondrocyte hydrogen peroxide damage. Depletion of intracellular ATP due to suppression of glycolysis caused by oxidation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *J Rheumatol.* 1989;16(1):7-14.

95. Starkman BG, Cravero JD, Delcarlo M, Loeser RF. IGF-I stimulation of proteoglycan synthesis by chondrocytes requires activation of the PI 3-kinase pathway but not ERK MAPK. *Biochem J.* 2005;389(Pt 3):723-9.

96. Studer RK, Levicoff E, Georgescu H, Miller L, Jaffurs D, Evans CH. Nitric oxide inhibits chondrocyte response to IGF-I: inhibition of IGF-IRbeta tyrosine phosphorylation. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2000;279(4):C961-9.
97. Monboisse JC, Braquet P, Randoux A, Borel JP. Non-enzymatic degradation of acid-soluble calf skin collagen by superoxide ion: protective effect of flavonoids. *Biochem Pharmacol*. 1983;32(1):53-8.
98. Burkhardt H, Hartmann F, Schwingel ML. Activation of latent collagenase from polymorphonuclear leukocytes by oxygen radicals. *Enzyme*. 1986;36(4):221-31.
99. Burkhardt H, Schwingel M, Menninger H, Macartney HW, Tschesche H. Oxygen radicals as effectors of cartilage destruction. Direct degradative effect on matrix components and indirect action via activation of latent collagenase from polymorphonuclear leukocytes. *Arthritis Rheum*. 1986;29(3):379-87.
100. Michaelis J, Vissers MC, Winterbourn CC. Different effects of hypochlorous acid on human neutrophil metalloproteinases: activation of collagenase and inactivation of collagenase and gelatinase. *Arch Biochem Biophys*. 1992;292(2):555-62.
101. Shabani F, McNeil J, Tippett L. The oxidative inactivation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) by hypochlorous acid (HOCl) is suppressed by anti-rheumatic drugs. *Free Radic Res*. 1998;28(2):115-23.
102. Del Carlo M, Schwartz D, Erickson EA, Loeser RF. Endogenous production of reactive oxygen species is required for stimulation of human articular chondrocyte matrix metalloproteinase production by fibronectin fragments. *Free Radic Biol Med*. 2007;42(9):1350-8.
103. Shah R, Raska K, Jr., Tiku ML. The presence of molecular markers of in vivo lipid peroxidation in osteoarthritic cartilage: a pathogenic role in osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2005;52(9):2799-807.
104. Tiku ML, Shah R, Allison GT. Evidence linking chondrocyte lipid peroxidation to cartilage matrix protein degradation. Possible role in cartilage aging and the pathogenesis of osteoarthritis. *J Biol Chem*. 2000;275(26):20069-76.
105. Abusarah J, Bentz M, Benabdoune H, Rondon PE, Shi Q, Fernandes JC, et al. An overview of the role of lipid peroxidation-derived 4-hydroxynonenal in osteoarthritis. *Inflamm Res*. 2017;66(8):637-51.
106. Sarban S, Kocyigit A, Yazar M, Isikan UE. Plasma total antioxidant capacity, lipid peroxidation, and erythrocyte antioxidant enzyme activities in

patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clin Biochem.* 2005;38(11):981-6.

107. Morquette B, Shi Q, Lavigne P, Ranger P, Fernandes JC, Benderdour M. Production of lipid peroxidation products in osteoarthritic tissues: new evidence linking 4-hydroxynonenal to cartilage degradation. *Arthritis Rheum.* 2006;54(1):271-81.

108. Stowe DF, Camara AK. Mitochondrial reactive oxygen species production in excitable cells: modulators of mitochondrial and cell function. *Antioxid Redox Signal.* 2009;11(6):1373-414.

109. Nakagawa T, Yasuda T, Hoshikawa H, Shimizu M, Kakinuma T, Chen M, et al. LOX-1 expressed in cultured rat chondrocytes mediates oxidized LDL-induced cell death-possible role of dephosphorylation of Akt. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002;299(1):91-7.

110. Nishimura S, Akagi M, Yoshida K, Hayakawa S, Sawamura T, Munakata H, et al. Oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) binding to lectin-like ox-LDL receptor-1 (LOX-1) in cultured bovine articular chondrocytes increases production of intracellular reactive oxygen species (ROS) resulting in the activation of NF-kappaB. *Osteoarthritis Cartilage.* 2004;12(7):568-76.

111. Simopoulou T, Malizos KN, Tsezou A. Lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor 1 (LOX-1) expression in human articular chondrocytes. *Clin Exp Rheumatol.* 2007;25(4):605-12.

112. Akagi M, Kanata S, Mori S, Itabe H, Sawamura T, Hamanishi C. Possible involvement of the oxidized low-density lipoprotein/lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 system in pathogenesis and progression of human osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2007;15(3):281-90.

113. Nakagawa T, Akagi M, Hoshikawa H, Chen M, Yasuda T, Mukai S, et al. Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 mediates leukocyte infiltration and articular cartilage destruction in rat zymosan-induced arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002;46(9):2486-94.

114. Kishimoto H, Akagi M, Zushi S, Teramura T, Onodera Y, Sawamura T, et al. Induction of hypertrophic chondrocyte-like phenotypes by oxidized LDL in cultured bovine articular chondrocytes through increase in oxidative stress. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010;18(10):1284-90.

115. Roy S, Meachim G. Chondrocyte ultrastructure in adult human articular cartilage. *Ann Rheum Dis.* 1968;27(6):544-58.

116. Maneiro E, Martin MA, de Andres MC, Lopez-Armada MJ, Fernandez-Sueiro JL, del Hoyo P, et al. Mitochondrial respiratory activity is altered in osteoarthritic human articular chondrocytes. *Arthritis Rheum.* 2003;48(3):700-8.
117. Blanco FJ, Lopez-Armada MJ, Maneiro E. Mitochondrial dysfunction in osteoarthritis. *Mitochondrion.* 2004;4(5-6):715-28.
118. Ruiz-Romero C, Calamia V, Mateos J, Carreira V, Martinez-Gomariz M, Fernandez M, et al. Mitochondrial dysregulation of osteoarthritic human articular chondrocytes analyzed by proteomics: a decrease in mitochondrial superoxide dismutase points to a redox imbalance. *Mol Cell Proteomics.* 2009;8(1):172-89.
119. Bandiera S, Mategot R, Girard M, Demongeot J, Henrion-Caude A. MitomiRs delineating the intracellular localization of microRNAs at mitochondria. *Free Radic Biol Med.* 2013;64:12-9.
120. Morita K, Miyamoto T, Fujita N, Kubota Y, Ito K, Takubo K, et al. Reactive oxygen species induce chondrocyte hypertrophy in endochondral ossification. *J Exp Med.* 2007;204(7):1613-23.
121. Kim J, Xu M, Xo R, Mates A, Wilson GL, Pearsall AWt, et al. Mitochondrial DNA damage is involved in apoptosis caused by pro-inflammatory cytokines in human OA chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010;18(3):424-32.
122. Lopez-Armada MJ, Carames B, Martin MA, Cillero-Pastor B, Lires-Dean M, Fuentes-Boquete I, et al. Mitochondrial activity is modulated by TNFalpha and IL-1beta in normal human chondrocyte cells. *Osteoarthritis Cartilage.* 2006;14(10):1011-22.
123. Golden TR, Melov S. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and aging. *Mech Ageing Dev.* 2001;122(14):1577-89.
124. Bolduc JA, Collins JA, Loeser RF. Reactive oxygen species, aging and articular cartilage homeostasis. *Free Radic Biol Med.* 2018.
125. Reed KN, Wilson G, Pearsall A, Grishko VI. The role of mitochondrial reactive oxygen species in cartilage matrix destruction. *Mol Cell Biochem.* 2014;397(1-2):195-201.
126. Raza H, John A. 4-hydroxynonenal induces mitochondrial oxidative stress, apoptosis and expression of glutathione S-transferase A4-4 and cytochrome P450 2E1 in PC12 cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006;216(2):309-18.

127. Vaamonde-Garcia C, Riveiro-Naveira RR, Valcarcel-Ares MN, Hermida-Carballo L, Blanco FJ, Lopez-Armada MJ. Mitochondrial dysfunction increases inflammatory responsiveness to cytokines in normal human chondrocytes. *Arthritis Rheum.* 2012;64(9):2927-36.
128. Chenevier-Gobeaux C, Lemarechal H, Bonnefont-Rousselot D, Poiraudreau S, Ekindjian OG, Borderie D. Superoxide production and NADPH oxidase expression in human rheumatoid synovial cells: regulation by interleukin-1beta and tumour necrosis factor-alpha. *Inflamm Res.* 2006;55(11):483-90.
129. Chenevier-Gobeaux C, Simonneau C, Lemarechal H, Bonnefont-Rousselot D, Poiraudreau S, Rannou F, et al. Effect of hypoxia/reoxygenation on the cytokine-induced production of nitric oxide and superoxide anion in cultured osteoarthritic synoviocytes. *Osteoarthritis Cartilage.* 2013;21(6):874-81.
130. Cillero-Pastor B, Martin MA, Arenas J, Lopez-Armada MJ, Blanco FJ. Effect of nitric oxide on mitochondrial activity of human synovial cells. *BMC Musculoskelet Disord.* 2011;12:42.
131. Tsai CH, Chiang YC, Chen HT, Huang PH, Hsu HC, Tang CH. High glucose induces vascular endothelial growth factor production in human synovial fibroblasts through reactive oxygen species generation. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1830(3):2649-58.
132. Marok R, Winyard PG, Coumbe A, Kus ML, Gaffney K, Blades S, et al. Activation of the transcription factor nuclear factor-kappaB in human inflamed synovial tissue. *Arthritis Rheum.* 1996;39(4):583-91.
133. Grigolo B, Roseti L, Fiorini M, Facchini A. Enhanced lipid peroxidation in synoviocytes from patients with osteoarthritis. *J Rheumatol.* 2003;30(2):345-7.
134. Farrell AJ, Blake DR, Palmer RM, Moncada S. Increased concentrations of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.* 1992;51(11):1219-22.
135. Sandhu JK, Robertson S, Birnboim HC, Goldstein R. Distribution of protein nitrotyrosine in synovial tissues of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *J Rheumatol.* 2003;30(6):1173-81.
136. Clavijo-Cornejo D, Martinez-Flores K, Silva-Luna K, Martinez-Nava GA, Fernandez-Torres J, Zamudio-Cuevas Y, et al. The Overexpression of NALP3 Inflammasome in Knee Osteoarthritis Is Associated with Synovial Membrane

Prolidase and NADPH Oxidase 2. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:1472567.

137. Surazynski A, Milyk W, Palka J, Phang JM. Prolidase-dependent regulation of collagen biosynthesis. *Amino Acids*. 2008;35(4):731-8.

138. Altindag O, Karakoc M, Kocyigit A, Celik H, Soran N. Increased DNA damage and oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Biochem*. 2007;40(3-4):167-71.

139. Sasaki K, Hattori T, Fujisawa T, Takahashi K, Inoue H, Takigawa M. Nitric oxide mediates interleukin-1-induced gene expression of matrix metalloproteinases and basic fibroblast growth factor in cultured rabbit articular chondrocytes. *J Biochem*. 1998;123(3):431-9.

140. Abeles AM, Pillinger MH. The role of the synovial fibroblast in rheumatoid arthritis: cartilage destruction and the regulation of matrix metalloproteinases. *Bull NYU Hosp Jt Dis*. 2006;64(1-2):20-4.

141. Yu H, Ye WB, Zhong ZM, Ding RT, Chen JT. Effect of advanced oxidation protein products on articular cartilage and synovium in a rabbit osteoarthritis model. *Orthop Surg*. 2015;7(2):161-7.

142. Jovanovic DV, Mineau F, Notoya K, Reboul P, Martel-Pelletier J, Pelletier JP. Nitric oxide induced cell death in human osteoarthritic synoviocytes is mediated by tyrosine kinase activation and hydrogen peroxide and/or superoxide formation. *J Rheumatol*. 2002;29(10):2165-75.

143. Wang JH, Shih KS, Wu YW, Wang AW, Yang CR. Histone deacetylase inhibitors increase microRNA-146a expression and enhance negative regulation of interleukin-1beta signaling in osteoarthritis fibroblast-like synoviocytes. *Osteoarthritis Cartilage*. 2013;21(12):1987-96.

144. Yin G, Wang Y, Cen XM, Yang M, Liang Y, Xie QB. Lipid peroxidation-mediated inflammation promotes cell apoptosis through activation of NF-kappaB pathway in rheumatoid arthritis synovial cells. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:460310.

145. Shi Q, Abusarah J, Zaouter C, Moldovan F, Fernandes JC, Fahmi H, et al. New evidence implicating 4-hydroxynonenal in the pathogenesis of osteoarthritis in vivo. *Arthritis Rheumatol*. 2014;66(9):2461-71.

146. Galleron S, Borderie D, Ponteziere C, Lemarechal H, Jambou M, Roch-Arveiller M, et al. Reactive oxygen species induce apoptosis of synoviocytes in vitro. Alpha-tocopherol provides no protection. *Cell Biol Int*. 1999;23(9):637-42.

147. Marchev AS, Dimitrova PA, Burns AJ, Kostov RV, Dinkova-Kostova AT, Georgiev MI. Oxidative stress and chronic inflammation in osteoarthritis: can NRF2 counteract these partners in crime? *Ann N Y Acad Sci.* 2017;1401(1):114-35.
148. Shi Q, Vaillancourt F, Cote V, Fahmi H, Lavigne P, Afif H, et al. Alterations of metabolic activity in human osteoarthritic osteoblasts by lipid peroxidation end product 4-hydroxynonenal. *Arthritis Res Ther.* 2006;8(6):R159.
149. Lee NK, Choi YG, Baik JY, Han SY, Jeong DW, Bae YS, et al. A crucial role for reactive oxygen species in RANKL-induced osteoclast differentiation. *Blood.* 2005;106(3):852-9.
150. Ha H, Kwak HB, Lee SW, Jin HM, Kim HM, Kim HH, et al. Reactive oxygen species mediate RANK signaling in osteoclasts. *Exp Cell Res.* 2004;301(2):119-27.
151. Mandal CC, Ganapathy S, Gorin Y, Mahadev K, Block K, Abboud HE, et al. Reactive oxygen species derived from Nox4 mediate BMP2 gene transcription and osteoblast differentiation. *Biochem J.* 2011;433(2):393-402.
152. Poole AR. Can serum biomarker assays measure the progression of cartilage degeneration in osteoarthritis? *Arthritis Rheum.* 2002;46(10):2549-52.
153. Regan E, Flannelly J, Bowler R, Tran K, Nicks M, Carbone BD, et al. Extracellular superoxide dismutase and oxidant damage in osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2005;52(11):3479-91.
154. Matsumoto H, Silverton SF, Debolt K, Shapiro IM. Superoxide dismutase and catalase activities in the growth cartilage: relationship between oxidoreductase activity and chondrocyte maturation. *J Bone Miner Res.* 1991;6(6):569-74.
155. Scott JL, Gabrielides C, Davidson RK, Swingler TE, Clark IM, Wallis GA, et al. Superoxide dismutase downregulation in osteoarthritis progression and end-stage disease. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(8):1502-10.
156. Jallali N, Ridha H, Thrasivoulou C, Underwood C, Butler PE, Cowen T. Vulnerability to ROS-induced cell death in ageing articular cartilage: the role of antioxidant enzyme activity. *Osteoarthritis Cartilage.* 2005;13(7):614-22.